

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ
КАТЕДРА НЕВРОЛОГИЯ**

Ръководител Катедра: акад. проф. д-р Лъчезар Трайков, дмн

Д-Р МАЯ МИХАЙЛОВА КОЛЕВА

**НЕВРОКУТАННИ СИНДРОМИ
В ДЕТСКА ВЪЗРАСТ - КЛИНИЧНИ
ИЗЯВИ, ДИАГНОЗА И ЛЕЧЕНИЕ**

**НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ
НЕВРОЛОГИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД
ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА
СТЕПЕН „ДОКТОР“**

**НАУЧНИ РЪКОВОДИТЕЛИ
ПРОФ. Д-Р ВЕНЕТА САШОВА БОЖИНОВА-ЧАМОВА, ДМ
ДОЦ. Д-Р НИКОЛАЙ ЛАЗАРОВ ТОПАЛОВ, ДМ**

**СОФИЯ
2020**

Дисертационният труд е написан на 224 машинописни страници и съдържа 125 фигури и 99 таблици. Библиографският списък включва общо 406 литературни източника /25 на български език и 381 на английски език/, както и 8 електронни източника.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от Катедрения съвет на Катедра по неврология при Медицински университет - София на 09.06.2020 г.

Публичната защита ще се състои на дисертационния труд ще се състои на 24.09.2020 г. от 14:00 ч. в Аудиторията на УМБАЛНП "Св. Наум" пред научно жури в състав:

Вътрешни членове:

1. Проф. д-р Ивайло Людмилов Търнев, д.м.н. - рецензия
2. Доц. Николай Лазаров Топалов, д.м. - становище

Външни членове:

1. Проф. д-р Параскева Костова Стаменова, д.м.н.- становище
2. Проф. д-р Стефка Тодорова Янчева, д.м.н. - рецензия
3. Проф. д-р Иван Атанасов Петров, д.м.н. - становище

Забележка: Номерата на таблиците и фигурите в автореферата не съответстват на номерата в дисертационния труд.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	5
ВЪВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА ПЪРВА	
Цел и задачи на изследването	8
1. Цел.....	8
2. Задачи за постигане на определената цел	8
ГЛАВА ВТОРА	
Клиничен контингент и методи	9
1. Клиничен контингент	9
2. Методи	9
ГЛАВА ТРЕТА	
Резултати и обсъждане	13
1. Туберозна склероза - резултати и обсъждане	13
2. Неврофиброматоза тип I - Резултати и обсъждане	37
3. Синдром на Louis-Bar/Ataxia - Telangiectasia syndrome	49
4. Sturge-Weber Синдром	51
5. Други, по-редки факоматози	54
6. Обсъждане за изследвания върху факоматозите с изява в детска възраст	58
ОБОБЩЕНИЕ	65
Изводи	66
Приноси	67
Публикации и научни съобщения във връзка с дисертационния труд	68
SUMMARY	72

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АТ – атаксия телеангиектазия
ВГТКП - вторично генерализирани тонично-клонични пристъпи
ГТКП - генерализирани тонично-клонични пристъпи
ЕЕГ – електроенцефалография
ЕС – епилептичен синдром
КТ - компютърна томография
МРТ - магнитно-резонансната томография
НФ 1 – неврофиброматоза тип 1
ТСК – туберозна склероза комплекс
УИ – умствена изостаналост
ФГ – Фебрилен гърч
ФП – фокални пристъпи
ЦНС - централна нервна система
ADHD - синдром на дефицит на вниманието и хиперактивност
AML – ангиомиолиптоми
CAL – cafe-au-lait петна
ENS – епидермален невусен синдром
HI – хипомеланоза на Ito
IP – Incontinenti pigmenti
KTWS - синдром на Klippel-Trenaunay-Weber
LBS – синдром на Louis-Barr
LOVD – база данни Leiden Open Variation
NBOs – неврофиброматозни светли обекти
NMI - no mutation identified
PKD – ген, обуславящ поликистоза
RML/s – радиална/и миграционна/и линия/и
SEGA - субependимен гигантоклетъчен астроцитом
SENs - субependимни нодули
SWS – синдром на Sturge-Weber
TAND – невропсихиатрични заболявания, асоциирани с ТСК
TSC1 – ген, кодиращ протеина hamartin
TSC2 – ген, кодиращ протеина tuberin
VPA – валпроат

ВЪВЕДЕНИЕ

Неврокутанните синдроми (факоматози или невро-окуло-кутанни синдроми) са голяма група редки, най-често наследствени заболявания свързани с разстройството на развитието герминативната невралната плоча. Характеризират се с различни генетични, клинични и патологични особености, мултиорганно засягане и повишена склонност към туморогенеза в множество органи. Туморните формации обичайно са доброкачествени, но в някои случаи могат да са източник и на малигнена трансформация и да водят до значими органни увреждания при нарастването си – SEGА и АМL при ТСК, оптични глиоми при НФ 1 и др.

В исторически план патогенезата на тези заболявания е свързвана със засягане на ектодермални структури - кожа, периферна и централна нервна система (ЦНС) и очи, впоследствие и с ангажиране на структури с мезодермален /отделителна и сърдечно съдова система/ и ендодермален /дихателна система/, но с появата на молекулярната генетика, традиционната концепция за три зародишни слоя е поставена под въпрос, тъй като експресията на много гени в развитието не е ограничена до един зародишен слой. Съвременни клинични и молекулярни изследвания поддържат концепцията, че аномалия във формирането, миграцията или диференциацията на нервните клетки е общата патогенеза за неврокутанните синдроми.

Типични и задължителни при факоматозите са кожните и/или подкожни лезии от различно естество – хипо- или хиперпигментации с разнообразна форма /листовидни, окръглени, линеарни/ и разположение /пръснати, двустранни, едностранни, с типична локализация/, фиброми, ангиоми и др. Освен задължителното кожно засягане се установява и разнообразна неврологична патология – епилептични пристъпи, интелектуални/когнитивни нарушения, хемипареза, атаксия, инсултподобни епизоди. Характерни и типични за отделните заболявания са и находките в невроизобразяващите изследвания – тубери, радиални миграционни линии, SEGАпри ТСК; типични NBOs при НФ 1; типични калцификати и мозъчна хемихипотрофия при SWSi др. Зрителното засягане е също често и типично при тази група заболявания. Могат да се засегнат и структури, произхождащи от ембрионалната мезодерма и ендодермата – сърце, бъбреци, бял дроб, черен дроб и др.

Клиничната симптоматика е най-често налице още от раждането, но понякога е възможно да се изяви и по-късно в живота на пациента. По правило заболяванията от тази група са с начало в детска възраст, а клиничните прояви могат да са силно вариабилни и нерядко следва определен типичен времеви ход.

Кожните лезии често пъти остават неразпознати до по-късна възраст, независимо че обичайно са налични още от раждането. Неврологичното засягане обичайно е водещото и определящо тежестта на заболяването, като у един пациент често са налице разнообразни прояви. Вида и тежестта на епилептичния синдром, различното по

тежест умствено изоставане, говорна задръжка, обучителни затруднения, а нерядко и аутистично поведение са основните и най-чести клинични прояви, значително влошаващи качеството на живот.

Към групата на факоматозите принадлежат голям брой заболявания, чиито брой нараства непрекъснато (вероятно над 70), най-честите от които са представени в таблицата (**Табл.1**)

Табл. 12 Честота и генни дефекти при основните видове факоматози

ФАКОМАТОЗА	ЧЕСТОТА	ГЕНЕН ДЕФЕКТ
Неврофиброматоза тип 1	1:3000 – 1:5000	NF 1 ген в 17q11.2
Неврофиброматоза тип 2	1:33 000 – 1:40 000	NF 2 ген в 22q.11
Туберозна склероза	1:6000 – 1:10 000	TSC 1 ген в 9q34 TSC 2 ген в 16p13.3
Синдром на Sturge-Weber	1:20 000 – 1:50 000	GNAQ ген в 9q21
Ataxia-teleangiectasia/ Синдромна Louis Bar	1:100 000, но с висока честота на хетерозиготно носителство	ATM ген в 11q22-23
Епидермален невусен синдром /ENS/	Неясна	множествени
Синдром на Klippel- Trenaunay-Weber	1:100 000	PIK3CA
Хипомеланоза на Ito	1:8 000-1:82 000	множествени

Независимо от относително общите и типични прояви и характерно предимно кожно и неврологично засягане, тази голяма и разнородна група заболявания се отличават със значима клинична и генетична хетерогенност.

В България липсват публикации, съдържащи систематизирани и детайлни данни за педиатрични популации пациенти с най-често срещаните факоматози. Настоящият труд има за задача подробно да разгледа, опише, анализира и обобщи данните от клиничните, инструментални, невроизобразяващи, генетични и невропсихологични изследвания, провеждани при прицелни групи пациенти, диагностицирани, проследявани и лекувани в Клиниката по нервни болести за деца към УМБАЛНП „Св. Наум“ със следните заболявания: Туберозна Склероза Комплекс(ТСК); Неврофиброматоза тип I (НФ I), Синдром на Louis- Bar (LBS), Синдром на Sturge –Weber (SWS), както и някои много редки заболявания като Хипомеланоза на Ito(HI), Епидермален невусен синдром (ENS) и синдром на Klippel–Trenaunay–Weber(KTW).

ГЛАВА ПЪРВА

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1. ЦЕЛ

Да се проучат и анализират честотата, клиничните прояви, характерната еволюция и диагностичните и терапевтични подходи и възможности при деца с най-честите факоматози в България. До момента не са провеждани подобен род проучвания и анализи на български пациенти с неврокутанни синдроми.

2. ЗАДАЧИ за постигане на определената цел:

- Подбор на пациенти с факоматози, клинично отговарящи на диагностичните критерии за съответното заболяване
- Детайлен анализ на клиничното протичане на заболяването – възраст и симптоматика при поставяне на диагнозата, анализ на данните от соматичния и неврологичния статус и проследяване на еволюцията във времето с въвличане на различни органи и системи
- Проучване и анализ на типа и хода на епилептичния синдром, интелектуалните нарушения, кожните лезии и като определящи в голяма степен качеството на живот на пациентите
- Проучване и анализ на заболяванията и тяхната връзка с наличието на фамилност, както и отчитане на тежестта при засегнатите членове, в сравнение със случаите без данни за фамилност.
- Провеждане на генетични изследвания и установяване на генотип-фенотипни корелации
- Провеждане на ЕЕГ, КТ, МРТ с оглед прецизиране на неврологичното засягане и оценка на възможностите за лечение
- Изследване корелацията между броя и разположението на мозъчните лезии, изоставащо двигателно и интелектуално развитие и епилептичния синдром.

ГЛАВА ВТОРА

КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ

1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

Изследването обхваща клиничен контингент от 129 пациенти с различни неврокутани синдроми, диагностицирани и проследявани в Клиниката по нервни болести за деца при УМБАЛНП „Св. Наум“ за периода 1987 - 2019 год.

Пациентите са разделени в групи в зависимост от вида на установеното заболяване, а именно:

- Деца, диагностицирани с Туберозна склероза (n=58)
- Деца, диагностицирани с Неврофиброматоза (n=40)
- Деца, диагностицирани със Синдром на Louis-Bar (n=13)
- Деца, диагностицирани със Синдром на Sturge-Weber (n=9)
- Други, по-редки факоматози - група от 9 деца, от които: деца с Епидермален невусен синдром (n=4), синдром на Klippel–Trenaunay–Weber (n=2), Хипомеланоза на Ito (n=2) и Incontinentia pigmenti – (n=1).

2. МЕТОДИ

Изследването е структурирано като ретроспективно - проспективно проучване. Проследените ретроспективно и проспективно групи пациенти са обединени. Данните при пациентите, лекувани в периода 1987 - 2014 год., са анализирани и обобщени ретроспективно, въз основа на наличните данни от „История на заболяване“ на съответните пациенти. При пациентите, диагностицирани и лекувани след 2014 год., са използвани следните методи:

- 1) Подробна анамнеза с цел подробно установяване клинични белези на заболяването:
 - наличие на кожни лезии от раждането и/или възраст при изявата им
 - възраст и клинични симптоми при поставяне на диагнозата
 - епидемиологични данни по отношение на наличие респ. възраст при началото на епилептичните пристъпи;
 - клинично протичане – вид пристъпи при дебюта на епилептичния синдром, честота, еволюция с времето;
 - еволюция във времето на другите симптоми;
 - данни за двигателното и интелектуално развитие на детето;
 - подробна фамилна анамнеза.

Диагнозата при повечето от децата може да бъде обсъждана и дори поставена при наличие на характерните кожни лезии още при раждане или скоро след него, особено в комбинация с ранен епилептичен синдром, изоставащо НПП или данни за фамилност. Независимо от това нерядко тя се поставя късно поради подценяване на кожните лезии и приемането им като чисто козметичен дефект.

- 2) Подробен неврологичен и соматичен статус за установяване на типични кожни лезии, наличие на двигателно и интелектуално изоставане, микро- или макроцефаалия и други органични засягания.
- 3) Лабораторен минимум (ПМК, кръвна захар, АСАТ, АЛАТ, урея, креатинин), алфа фетопротеин, серумно ниво на валпроат и карбамазепин, серумно ниво на Еверолimus
- 4) Невроизобразяващи изследвания – компютърна томография (КТ) и магнитно-резонансна томография (МРТ) на 1,5 или 3 Т апарати за установяване на вида, броя и разположението на типичните за съответното заболяване лезии; проследяване в динамика на характерната еволюция на NBOs, SEGAs, SENs, прогресираща церебеларна атрофия, мозъчни калцификации, мозъчни тубери и други варианти на мозъчни аномалии.
- 5) Електроенцефалографско изследване / Видео-ЕЕГ / е проведено при всички пациенти с данни за епилептични и друг вид пристъпи с оглед верифициране и уточняване на епилептичния синдром и разграничаването му от други типове пристъпни състояния – синкопи, психогенни пристъпи и др., както и за проследяване хода на

Записите са осъществени в кабината по ЕЕГ към Клиника по нервни болести за деца на МБАЛНП „Св. Наум“. Подредането на електродите е съгласно стандартите на международната система 10-20, при съпротивление под 5 k Ω !. Използван е биполярен лонгитудинален монтаж.

- 6) Психологично изследване:

Психологично изследване е провеждано с цел определяне на IQ, изследване на паметта, поведението, вниманието, настроението. Използвани са различни тестове за определяне на IQ – Wechsler Intelligence Scale за деца, тест на Binet Terman, прогресивни матрици на Raven. Тъй като част от изследването е ретроспективно, не всички пациенти са изследвани психологично, както и не всички са проследени в динамика. В тези случаи, част от заключенията по отношение на поведенческите и когнитивни промени са базирани на наблюденията на лекуващите лекари и родителите.

Използвани са още и следните тестове:

- Тестове за проследяване на интелектуалното функциониране във възрастта 3-16 години: тест на Binet Terman – Станфордска ревизия (1960 г.), адаптирана от проф. Г. Пиръв 1973 г.

- Тестове за изследване на когницията;
- Невербален субтест „мозайка” от Wechsler Intelligence Scale за деца (HAWIK-R български вариант – 1983 год.) за изследване на пространствените представи, психомоторната координация и комбинаторните способности.

- 7) Генетични изследвания – провеждани в генетична медико-диагностична лаборатория „ГЕНИКА“ с оглед верифициране на диагнозата и уточняване конкретната мутация. За целта на изследването са прилагани PCR, секвениране по Sanger, както и MLPA. При всички пациенти, които бяха насочени за генетичен анализ, диагнозата се потвърди с установяване на мутация в съответния отговорен ген. Само при една наша пациентка с клинични и невроизобразяващи данни за TSC не е установена мутация, като на този етап тя се причислява към т.нар. *no mutation identified* (NMI) и генетичните изследвания ще продължат с прилагане на друг тип метод.

Изследванията са осъществени по следните проекти:

ДОГОВОР № Д-131/2017 г. за финансиране на изследователски ПРОЕКТ с вх. № 8337/06.12.2016 г. на тема: „Молекулярно-генетичен анализ на TSC2 гена при български пациенти с Туберозна склероза” от конкурса „Млад изследовател-2017” на СМН МУ-София

ДОГОВОР № 2-С/2015 г. за финансиране на изследователски ПРОЕКТ с вх. № 4647/22.07.2015 г. на тема: „Генотип-фенотипни корелации при неврофиброматоза в България” от конкурса „Стимулиране на научните изследвания в области с постигнати високи научни постижения” на СМН МУ-София

ДОГОВОР № Д-58/23.04.2019 г. за финансиране на изследователски ПРОЕКТ с вх. № 8203/19.11.2018 г. на тема: „Молекулярно-генетични характеристики на заболяването Комплекс туберозна склероза (TSC) в България” от конкурса „ГРАНТ-2019” на СМН МУ-София

- 8) Статистическа обработка на данните

Дескриптивна статистика

- средна аритметична (Mean) – за оценка на централната тенденция;
- стандартно отклонение (SD) – за оценка на разсейването;
- честотни таблици - *абсолютни честоти (n)* – броят на единиците в отделно взета група; *относителни честоти (%)* – броят на единиците в отделно взета група отнесен към общия брой единици в съвкупността;

Точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – при изследване на зависимости между описателни (категорийни) данни с две или повече категории.

Приетото критично ниво на значимост е $\alpha=0,05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато емпиричната стойност на нивото на значимост (p) е по-малка от α . (при $p < 0.05$ се приема статистическа значимост на наблюдаваните разлики или връзки).

За обработка на данните от проучването е използван специализирания статистически пакет SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) версия 13.0.

ГЛАВА ТРЕТА

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. ТУБЕРОЗНА СКЛЕРОЗА - РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1.1. Епидемиологични данни

Настоящото изследване обхваща 58 деца от 56 несвързани помежду си фамилии. При 2 от фамилиите сме изследвали и второ дете в семейството с данни за ТСК. Момчетата в групата са 28 (48,3%) със средна възраст при диагностициране 4,76 г., а момчетата – 30 (51,7%), със средна възраст при поставяне на диагнозата 4.72 г. Диагнозата е поставена преди 2г. възраст само при 19 от пациентите (32,7%) като при 18 тях към момента на диагностицирането са били налице епилептични пристъпи, което е било и причина за да се търси консултация със специалист.

От представените общо 58 пациенти налацие на фамиленост (засегнат член на семейството) се установява при 14 от децата. При 5 от тях нямаме данни, тъй като децата са адоптирани или отглеждани в институции. При 39 от децата не е установен член на семейството с данни за заболяването.

1.2. Генетика при ТСК

На Табл. 2 е показан относителният дял на пациентите с проведени генетични анализи и установените при тях мутации в *TSC1* и *TSC2* гените. При общо 31 от децата (53,4%) са проведени генетични изследвания. Мутации са установени при 30 от изследваните. При 12 от тях (38,71%) е установена мутация в *TSC1* гена, а при останалите 18 (58,06%) се установява мутация в *TSC2* гена. Само при едно от изследваните деца (3,23%) до момента не е установена мутация, т.е. NMI, като детето покрива клиничните критерии за Туберозна склероза. Получените резултати са интересни поради 2 причини: **1.** Установена е близка честота на установените мутации в *TSC1* и *TSC2* гените, докато в провежданите досега проучвания мутациите в *TSC2* гена са 3-4 пъти повече от тези при *TSC1* гена; **2.** В нашата кохорта е изключително високият процент на установени мутации – 30 от изследваните 31 деца или 96%, а само при 1 пациент (3%) не се установява генен дефект, т.е. NMI съставляват около 3%, докато в публикуваните изследвания този процент е 10-15%, а дори и до и над 20%. Тези 2 факта демонстрират правилния подбор на нашите пациенти и сигурната диагноза за още на клиничен етап, както и високата успеваемост на правилно подобрени генетични методи на изследване.

Табл. 2 Честота на мутациите при ТСК

TSC1/TSC2	N	Общо	%	Общо
I. Не провеждани изследвани	27	58	46,6	100%
II. Провеждани изследвания	31		53,4	
✓ TSC1	12	31	38,71	100%
✓ TSC2	18		58,06	
✓ NMI	1		3,23	

От данните за пациентите с проведени генетични изследвания е видно, че и при двата гена нефамилните, т.е. de novo мутации са съответно 10 деца (55%) с *TSC2* и 6 деца (50%) с *TSC1* гена. При децата с данни за фамилност разпределението е съответно 7 деца (39%) с *TSC2* и 4 деца (33%) с *TSC1* гена (**Фиг.1**).



Фиг. 1 Разпределение на мутациите в *TSC1* и *TSC2* гена според наличието на фамилност (n=30)

На **Табл. 3** се представят и обобщени данни за относителния дял на генетичните изследвания установените от нас типове мутации при получените резултати в *TSC1* и в *TSC2* гените. В базата данни LOVD се описват с най-голяма честота и при двата гена малки делеции или инсерции респ. в *TSC1* - 57,8%, *TSC2* – 37,2%, докато в нашата изследвана група преобладават missense и nonsense мутациите.

Табл. 3 Относителен дял на генетично изследваните и типовете мутации при в двата *TSC* гена

Тип мутация	N	%
Неизследвани	28	48,3
nonsense	9	15,5
missense	10	17,2
Делеции / малки делеции или инсерции	9	15,5
Дупликации	2	3,5
Общо	58	100,0

От провежданите досега проучвания върху групи пациенти и анализирани на типовете мутации се докладва за около 20% са *missense* или *nonsense* в *TSC2*, докато при *TSC1* най-много от съобщаваните мутации са *nonsense* или *frameshift*, причиняващи прекратяване на белтъчния синтез. Известно е, че клиниката на пациентите с мутации в *TSC1* гена е по-лека в сравнение с тази на пациентите с мутации в *TSC2* гена.

В нашата група изследвани пациенти с проведено генетично изследване се установиха следните данни:

- в *TSC1* гена *missense* (n=4), *nonsense* (n=5), като освен тях са установени и 3 пациенти с делеции. Нямаме пациенти с дупликации или *splice* мутации. Разпределението им по екзони корелира със съобщените в литературата електронните бази данни (LOVD, HGMD, OMIM) за висока честота в Екзон 15–4 (n=4) от мутациите са именно в този екзон, две (n=2) са идентифицирани в Екзон 18 и по една мутация (n=1) е установена в Екзони 5,9,16,17,21 и 22.
- В *TSC2* гена се установиха: 6 *missense*, 4 *nonsense* мутации, 2 дупликации. И 6 делеции, като при двама от тях се касае за големи делеции, а именно: от 1^м до 16^т екзон на гена, както и от 15^т до 42^т екзон на гена, определящи значително по-тежка фенотипна изява у тези пациенти

От проведените подробни генетични изследвания у изследваните пациенти се установиха и общо **шест нови, непубликувани** и неописвани досега в базите данни мутации:

- В *TSC1* гена бяха установени **2 нови мутации**:
- нова *nonsense* мутация: с.1966G>T, p.(Gly656*) в екзон 15 и
- нова *frameshiftdel* мутация: с.2698_2699delCA, p.(Gln900Glnfs*2) в екзон 22

- В *TSC2* гена бяха установени **4 нови мутации**:
 - *nonsense* мутация с.4051G>T, p.(Glu1351*)
 - с.2954_2957dupATGT, p.(Val987Cysfs*19) в екзон 26
 -
 - с.2066_2073del8insACGGGCAGGGACCTCGCTGGGfs*18p(Lex689Hisfs*17), в екзон 18
 - делеция на екзони от 1 до 16 на *TSC2* гена

На **Табл. 4** и **Табл. 5** са представени резултатите на всички, общо 30 пациенти с уточнен ген, локализация и тип мутация.

Табл. 4. Клинични и молекулно-генетични данни на пациентите с диагноза TSC, с открити мутации в кодиращите последователности на **TSC2** гена. С червено са отбелязани новите мутации, които сем установили в нашия анализ.

№	Клинични характеристики	Локализация	Тип замаяна	Мутации в TSC2 гена	Фамилност	Възраст/ пол
1	XПв; West; Множествени АМЛ, тубери XПв; 2 хиперментни петна; сърдечен рабдомиом; лимфолобни образувания в тилната област; епилепсия > 5 XПв; ЛАв; Уф; ШП; КД; СЕГА - оперирана; субелендими генерализация; интелектуален дефицит с аутизъм	Ексони 15-42	делеция	Делеция на 15-42екзон TSC2:PKD1	De novo	1 г.в./Ж
2	XПв; 2 хиперментни петна; сърдечен рабдомиом; лимфолобни образувания в тилната област; епилепсия > 5 XПв; ЛАв; Уф; ШП; КД; СЕГА - оперирана; субелендими генерализация; интелектуален дефицит с аутизъм	Ексон 37	onsense	c.4830C>A, p.Trp1610*	De novo	4 месеца/Ж
3	ХПв; ЛАв; субелендими генерализация; интелектуален дефицит с аутизъм	Ексон 17	missense	c.1769T>C, p.Leu590Pro	неналични родители	5 г.в./Ж
4	XПв; ЛАв; билатерални ретинални хамартоми; множество субелендими и субкортикални тубери; ФЕ с вторична генерализация	Ексон 34	onsense	c.405(G>T, p.(Gln135I*)	Майка носителка	15 г.в./М
5	XПв; 3 сърдечни рабдомиоми; West синдром; интелектуален дефицит	Ексон 38	missense	c.4949A>G, p.Tyr1650Cys	Майка носителка (мозаичен профил) Брат	1 г.в./М
6	XПв; ЛА; ШП; СЕГА; субкортикални тубери; West синдром; ГТКП; интелектуален дефицит с аутизъм; Брат на пациент 14	Ексон 42	missense	c.5228C>A, p.Arg1743Gln	Брат носител неналични родители	17 г.в./М
7	XПв; ЛАв; субелендими подули с калцификация; ФЕ – сестра на пациент 8	Ексон 26	frameshift (дупликация)	c.2954_2957dupATCT, p.(Val987/Сys988*19)	Баща и брат носители	10 г.в./Ж
8	XПв; ЛАв; субелендими подули с калцификация; епилепсия – брат на пациент 7	Ексон 26	frameshift (дупликация)	c.2954_2957dupATCT, p.(Val987/Сys988*19)	Баща и сестра носители	25 г.в./М
9	XПв; ЛАв; множество кортикални тубери; бързичен ангиоматоз; СЕГА; епилепсия	Делеция 1-16 екзон	deletion	1-16 екзон	De novo	15 г.в./Ж

Табл. 4 Продължение

№	Клинични характеристики	Локализация	Тип замяна	Мутации в TSC2 гена	Фамилност	Възраст/ пол
10	XIIa; ЛАг; сърдечен рабdomом; ШП; УФ; SEGA; фармакорезистентна епилепсия	Ексон 13	frameshift (делция)	с.1324delA, р.1с442Phefs Ter7	Баща носител	15 г.в./Ж
11	XIIa; 2 саб-ан-лаи; ШП; ЛАг; фармакорезистентна епилепсия	Ексон 13	polypense	с.1336С>Т, р.Оln446*	De novo	17г.в./Ж
12	>5 XIIa; ЛАг; ШП; SEGA; AMI	Ексон 39	missense	с.5024С>Т, р.Pro1673Leu	De novo	16 г.в./Ж
13	XIIa; Фибромиято челото, епилепсия, сърдечни рабdomиomi – XIIa; ЛА; ШП; SEGA;	Ексон 11	missense	с.978Г>С, р.Ala326Ala	De novo	6 г.в./Ж
14	субкортикални тубери; West синдром; ГТКП; интелектуален дефицит с аутизъм – брат на Пациент 6-ЖК	Ексон 42	missense	с.5228G>A, р.Arg1743Gln	Брат носител непалични родители	16 г.в./М
15	XIIa, сърдечни рабdomиomi, SEGA, КП	Ексон 34	Делция indel	с. 4289_4290delGGinsTTC; р.Трp1430Phefs Ter94	De novo	2г.в/М
16	XIIa; ЛАг; фибромия; суслектна SEGA, СЕН	Ексон 20	делция	с. 2105_2108delCTGA; р.Asp702Glyfs Ter4	De novo	10 г.в./М
17	XIIa; ЛАг; ШП; УФг; субепилептни полули и субкортикални тубери; SEGA; генерализирана епилепсия; интелектуален дефицит	Ексон 18	Делция indel	с.2066_2073del8, insACGGGGCAGGGA ССТCGCTGGGfs*18, р.(Leu689Hisfs*17)	De novo	16 г.в./М
18	XIIa; ЛАг; бърбечни ангиомалиптоми; БЕЗ епилепсия	Ексон 12	polypense	с.1221С>G, р.Гур407*	De novo	17 г.в./Ж

Табл. 16 Клинични и молекуло-генетични данни на пациентите с диагноза TSC, с открити мутации в кодражте последователности на TSC2

Легенда: XII(a) – хипохименго(н) петно(а); ЛА(н) – лице(н) амгиофибром(и); УФ – угвалент фибром; ШП – Шареновипетна; SEGA – субепилептичен глангоклетъчен астроцитом; КД – кортикална дисплазия (включва кортикални тубери и радиерно разположени миграционни линии в близо мозъчно вещество); ФЕ – фокална епилепсия; ГТКП – генерализирана тонично-клонични пристъпи. В червено са отбелязани всички нови, непубликувани мутации.

Табл. 5 Клинични и молекулно-генетични данни на пациентите с диагноза TSC, с открити мутации в кодиращите последователности на *TSC1* гена.

№	Клинични характеристики	Локализация	Тип промяна	Мутации в <i>TSC1</i> гена	Фенотип	Взраст/ пол
1	X1a; K1; S11; редкиа линия, торпалитно разширяване еписелва – West синдром; интелектуален дефицит; аутистично поведение	Ексон 15	nonsense	c.1566C>T, p.(G1566A)	Засягата майка (неизлечен)	5 г.в./ Ж
2	X1a; множество субкортикални тубери и редкиа линия; субependрични нодули с калифиликация; торпалитно разширяване еписелва; интелектуален дефицит с Аутизъм	Ексон 5	nonsense	c.325C>T, p.Gln109*	Майка носителка	15 г.в./ М
3	X1a; J1aх; сдвоен работилок; спонгиозна еписелва; редкиа линия	Ексон 22	frameshift (делция)	c.2698_2699delCA, p.(Gln900-Gln872)	Майка носителка	8 г.в./Ж
4	5 X1a; J1aх; субependрични нодули; кортикална дисплазия – тубери и редкиа линия; ГТКП	Ексон 15	nonsense	c.1325C>T, p.Arg398*	неизлечен родител	10 г.в./ М
5	X1a; поренетрикуларни калификации (КТ); West синдром; интелектуален дефицит	Ексон 15	nonsense	c.1453C>T, p.Gln485*	Засягати родители (неизлечен)	7 г.в./ Ж
6	X1a; субependрични нодули с калифиликация; K1; еписелва	Ексон 15	frameshift (делция)	c.1888_1891delAAAAG, p.Lys690Gln672	De novo	2 г.в./ Ж
7	X1a; J1aх; субependрични нодули с калифиликация; редкиа мигрираща линия в бялото мозъчно вещество; ГТКП	Ексон 9	nonsense	c.772C>T, p.Gln258*	Засягати родители (неизлечен)?	11 г.в./ Ж
8	Пове 7 X1a; субependрични нодули с Калифиликация; УИ; еписелва – K1П и кисти инфантилни спазми; тубери и редкиа линия –	Ексон 17	missense	c.2074C>T, p.Arg627Ter	De novo	2 г.в./ М
9	Множество X1a; диспла УИ; еписелва с K1П / атипична абсанс; двустранен редкиа линия	Ексон 21	frameshift (делция)	c.2672delA, p.Asn891Tyr67Ter+40	De novo	5 г.в./ М
10	Множество X1a; УИ; еписелва с K1П; атипични абсанси; ГТКП; редкиа линия	Ексон 18	missense	c.2347C>T, p.Gln783Ter	De novo	12 г.в./ М
11	X1a; IIIa; повтарящи се абсанси; без сигурни еписелва; тубери и редкиа линия	Ексон 18	missense	c.2356C>T, p.Arg786Ter	неизлечен родител	17 г.в./ Ж
12	Множество X1a – спонгиоза СА1; J1aх; IIIa; без еписелва; SEGA; редкиа линия	Ексон 16	missense	c.2027C>A, p. Trp676Ter	De novo	17 г.в./ М

1.3. Клинична характеристика

1.3.1. Кожни прояви

Кожните прояви са основен и задължителен белег на неврокутанните синдроми. В нашия изследван контингент от 58 пациенти се установиха следните данни:

- Хипопигментни петна – задължителен и типичен белег, с честота над 80% в зависимост от възрастта и прецизността на изследване. С почти еднакво честотно разпределение у пациентите с *TSC1* и *TSC2* мутации
- Лицеви ангиофиброми са налични при 69% от изследваните – също с възрастово зависима изява и типично засягане у по-големите деца
- Шагреново петно се установява при 33% (n=19), като и в тази група са предимно деца в пубертетна/юношеска възраст
- Унгвални фиброми в 17% (n=10), други кожни фиброми в 14% (n=8), сафи-ау-лаитлетна в 29% (n=17), гингивални фиброми при 15,5% (n=9), дефекти в зъбния емайл при 7% (n=4) от изследваните. Наличие на бял кичур коса има при 10% (n=6), като *TSC 2* мутация има при 3 от тях (n=3), при едно е установена *TSC1* мутация, а при другите 2 няма провеждано генетично изследване.

1.3.2. Епилептичен синдром

От изследваните 58 деца с ТСК с данни за епилептични пристъпи са 94,8% (n=55). При 74,1% (n=40) изявата на пристъпите е преди 2 г възраст, докато в TOSCA тази стойност е 79% т.е. данните показват сходство.

От децата с уточнена мутация 83,3% (n=10) са с *TSC1*, а 94,4% (n=17) са с *TSC2* мутация, от което е видно, че липсва убедителна корелация между наличие на епилепсия и мутацията в *TSC1* или *TSC2* гена. Не така обаче стои въпроса от гледна точка на тежестта на епилептичния синдром, съотнесен към установената мутация: с относително по-лек ход, редки пристъпи и добър терапевтичен контрол са 50% (n=6/12) от децата с *TSC1*, докато при мутация в *TSC2* гена относително „доброкачествен ход“ има при едва 16,6% (n=3/18). С неблагоприятен ход – чести, полиморфни пристъпи с труден контрол или фармакорезистентност при мутация в *TSC1* гена са 33% (n=4/12), докато при мутация в *TSC2* гена те са 77,7% или 14 от общо 18^{те} деца.

От всички 55 деца с епилепсия 71% (n=39) са с данни за ранни, чести, трудни за терапия пристъпи, т.е. за по-неблагоприятен ход на епилептичния синдром.

При изследваните от нас пациенти с най-голяма честота при дебюта на заболяването са ФП с или без ВГТКП – в 40% (n=22) от пациентите, следвани от West синдром в 31% (n=17) от пациентите (Ако се разглеждат простите фокални и КПП заедно, то процента при нашата

група пациенти почти би се изравнил с този в най-голямата досега база данни за пациенти с ТСК). От пациентите с уточнени мутации: със синдром на West (n=5) са с *TSC2*, а (n=2) с мутация в *TSC1* ген, т.е. също над 2 пъти по-често при втория тип мутация. Комплексни парциални пристъпи (КПП) с или без атипични абсанси се отчитат в 20% (n=11), а пристъпи с характер на ГТКП при 9% (n=5) като при последните изявата е обичайно при фебрилитет и първоначално са приемани за фебрилен гърч (ФГ) (Фиг. 2).



Фиг. 2 Тип пристъпи при началото на епилепсията

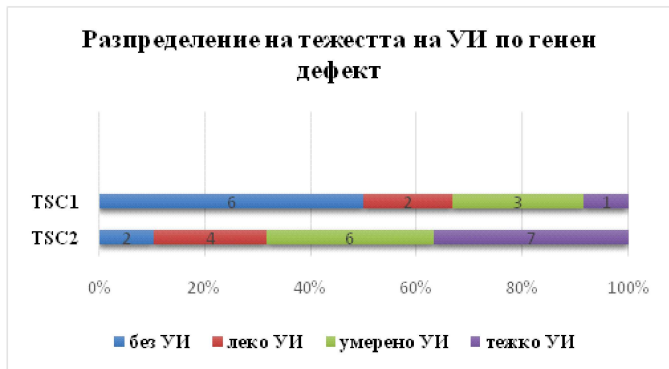
В хода на еволюцията на епилептичния синдром се наблюдава нерядко усложняване на състоянието с изява на разнообразен тип пристъпи при един и същи пациент. При проследяване се установи следното разпределение: фокалните пристъпи (ФП) – с или без вторично генерализирани тонично-клонични пристъпи (ВГТКП) – в 45% (n=25) от пациентите; комплексни парциални пристъпи (КПП) с или без атипични абсанси се отчитат в 40% (n=22); пристъпи с характер на ГТКП при 16% (n=9). При 11% (n=6) се отчита еволюция от синдром на West към LGS. При едно от децата спазмите персистират и след 5г. възраст, а при друго се явиха за пръв път след 3г. възраст. *Броят на така описаните деца надхвърля n=55, а % са над 100% поради наличие на повече от един тип пристъпи у някои от децата.*

При 41,8% (n=23) от пациентите се отчита относително добър контрол по отношение на тежест и честота на епилептичните припадъци, но при останалите 58,2% (n=32) контрол не може да бъде постигнат и персистират чести, полиморфни пристъпи, независимо от прилаганата правилно подбрана и дозирана политерапия.

1.3.3. Невропсихиатрични нарушения /TAND

TAND – спектъра включва голяма група от когнитивни, поведенчески и интелектуални нарушения, често налични при пациентите с ТСК.

С наличие на различен по тежест интелектуален дефицит са 72,4 % (n=42) от пациентите, а с нормален интелект са едва 27,6% (n=16). На **Табл. 6** са посочени подробно пациентите, в зависимост от степента на умственото им изоставане, а на **Фиг. 3** – разпределението при онези от тях, при които има проведено генетично изследване. При пациентите с TSC1 е видно превалирането на тези без УИ (n=6), както по отношение на останалите деца в групата, така и значително спрямо тези с TSC2 (n=2). В останалите категории, разпределени по тежест е видно превалирането на TSC2 пациентите



Фиг. 3 Тежест на УИ и разпределение според генния дефект

Табл. 6 Неврокогнитивни прояви при TСК

Степен на нарушение на интелекта	N	%
Липсва	16	27,6
Лек	13	22,4
Умерен	12	20,7
Тежък	15	25,9
Дълбок	2	3,4
Общо	58	100,0

- С различни по тип говорни нарушения – задръжка в експресивната и/или импресивната реч, дефектно звукопроизношение и др. са не по-малко от 51,7%
- С хиперактивно и импулсивно поведение с или без дефицит на вниманието са 24,1% (n=14)
- С аутистично поведение са 19% (n=11). Известен факт и обект на множество публикации е значително високата честота на аутизъм и ASDу пациентите с TСК. С обучителни затруднения са 74,1% (n=43)
- С изява на съществени поведенчески нарушения, в сферата на психиатричните прояви са 6,9% (n=4)

1.3.4. Други чести локализации на засягане

- Ангиомиолиптоми (AML) се установяват при 26% (n=15) – 6 момчета (40%) и 9 момичета (60%)
- Бъбречни кисти са установени у 22,4% или (n=13).
- Ангиомиолиптоми и кисти едновременно се установяват у 11 пациента – 19%
- Сърдечни рабдомиоми се установиха у 24% (n=14) от пациентите.

За всички тези клинични изяви е характерно превалиране на мутация в *TSC2* спрямо *TSC1* гена

1.3.5. Невроизобразяване и мозъчни лезии при TCK

Невроизобразяващите изследвания са от особено значение както за поставяне на диагнозата, така и с оглед проследяване и в известна степен проогнозиране на заболяването. Установяване на типичните тубери, SEGA, SENs и радиални миграционни линии са в подкрепа на поставяне на диагнозата, а броя, структурата и локализацията им могат да обяснят както епилептичния синдром, така и някои особености в поведението и неврокогнитивните нарушения.

- При 98% (n=57) от пациентите има проведено невроизобразяващо изследване – КТ или МРТ на главен мозък.
- При 56 от децата (96,5%) има проведена КТ, а в 100% от тях се установяват типичните за заболяването перивентрикулни калцификати, респ. SENs.
- Общо МРТ на главен мозък има проведен при 79% (n=46) от нашите пациенти.
- Данни за SEGA са установени при 24% (n=14) пациентите или с проведена МРТ, което е сравнимо с данните от TOSCA, в които са съобщава за честота около 25%.
- МРТ на коремни органи, с акцент върху бъбреци има при 50% (n=29) от пациентите.
- При 77,5% (n=45) има проведени и КТ и МРТ.
 - **Множествени, пръснати, по-големи по размери тубери, а при някои МРТ и такива с калциеви отлагания се установяват при 34 от децата, а единични и по-дребни при 16, като нерядко те са добре видими и при КТ.** Известно е, че броя и локализацията на туберите в голяма степен определя хода на заболяването, оказвайки влияние както на типове епилептични пристъпи, на поведенческите и интелектуални функции. От пациентите с установен генен дефект, тези с *TSC2* мутация показват значително по-голям брой, пръснати, а нерядко и кистозни или с калциеви отлагания тубери. Малобройните, дребни тубери са по-характерни за пациентите с *TSC1*, при които се установява значително по-висока честота на радиационни миграционни линии (RMLs).

При 15 от 26-те деца с данни за ляво-темпорални тубери или 57,7% те се съчетават и с тубери в десния темпорален дял т.е. **имаме двустранна темпорална локализация на лезиите. *Интересен факт е, че 11 от пациентите с двустранни темпорални лезии са именно онези 11 в нашето изследване, при които е налице типичен детски аутизъм или прояви в сферата на аутистичния спектър.* Наличието на десностранна темпорална увреда може да се обсъжда като предпоставка за развитието на поведенчески прояви в сферата на аутизма.**

- **Радиалните миграционни линии** (radial migration lines, RLMs), установени при 28% (n=13) от проведените общо 46 МРТ изследвания са другата често срещана находка при пациентите ни с ТСК.

Интересен факт от проведените при нашите пациенти изследвания е наличието на RLMs при 11 от общо 12 пациенти с TSC1 мутация и наличен МРТ на главен мозък (91,7%) и само при 1 пациент с TSC2 мутация от налични 15 МРТ изследвания при групата пациенти с тази мутация.

- **SEGA** в изследваните от нас пациенти с МРТ се установи наличие при 14 от децата или 24%. SEGA установяваме само при 1 пациент с TSC1 мутация, като МРТ имат всички 12 пациента с тази мутация. SEGA установяваме и при 10 от 13-те пациенти с TSC2 мутация, при които е налична МРТ; при 3 деца с TSC2 не е налична МРТ, а при другите 2 е проведена, но SEGA не се установяват. При други 3 деца с МРТ данни за SEGA няма проведено генетично изследване. Тези данни показват значим превес и на SEGA при TSC2 мутация спрямо TSC1 в нашата група изследвани и наличие на статистическа значимост.

1.3.6. Лечение

Лечението на тези пациенти е комплексно, свързано с клиничната характеристика и изява на симптоми при всеки от тях. Лечение на епилептичния синдром се провежда съобразно приетия в България Консенсус за диагностика и лечение на епилепсиите (2020 г.) и типа пристъпи у всяко от децата, а при онези от тях (включени 10, но поради НЛР 1 дете отпадна), които покриват изискванията за лечение с еверолimus се провежда и такъв тип лечение на SEGA и AML с много добър ефект по отношение намаляване размерите на тези структури и подобряване на епилептичния синдром.

1.4 КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧНИ КОРЕЛАЦИИ И ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

В хода на настоящото проучване бяха подробно анализирани данните у всички 58 изследвани пациенти. Провеодоха се и редица статистически анализи, с оглед изучаване на клиничко-генетичните корелации у нашата група пациенти. Всички получени данни са анализирани и сравнявани с досега известните в литературата от публикувани подробни анализи върху големи групи деца с ТСК.

В хода на изследването, посредством статистически методи, бяха установени множество статистически значими събития, както и генотип-фенотипни корелации. В някои от изследваните прояви не се достигна до статистическа значимост поради малък брой на включените пациенти в групите, но числовите данни показват категорични връзки между изследваните клинични данни.

Липсата на конкретна скала за оценка тежестта на клиничното протичане наложи въвеждане на критерии за оценка, формулирани въз основа на проследяването и хода на заболяването у пациентите.

- **Леко** – липса на епилептичен синдром или редки пристъпи в съчетание с липса или дискретни интелектуални нарушения, липса или асимптомни мултиорганни увреди
- **Умерено** – нечести пристъпи, с възможност за дълги безпристъпни периоди, лека към умерена УИ с по-значими когнитивни и поведенчески прояви и с по-чести мултиорганни увреди
- **Тежко** – чести и/или фармакорезистентни пристъпи, липсва или има минимален безпристъпен период; тежка или дълбока УИ; съществени органни увреди

От всички 58 пациенти с проведено генетично изследване са 53% (n=31) деца. Мутации са установени в 30 от 31 изследвани деца, което прави нашето изследване значително ефективно, информативно и с висока успеваемост респ. само с 3,2% (n=1) пациент от т.нар. NMI. **От известните до момента литературни данни мутациите в TSC2 гена се срещат с по-висока честота (70-85%) в сравнение с тези в TSC1 гена (25-30%)** генетичният анализ беше проведен чрез системен подход, който включва като първа стъпка секвениране по Sanger на TSC2 гена, след което при негативните случаи се премина към втора стъпка включваща секвениране по Sanger на TSC1 гена. В случаите, в които не се откриха мутации в двата гена се премина към трета стъпка - MLPA анализ за големи делеции и дупликации. След извършването на MLPA анализ беше открита делеция на 16 екзона (от 1-ви до 16-ти) в TSC2 гена, която не е описвана в световната литература. Още 3 нови и неописвани досега мутации в TSC2 гена и 2 нови мутации в TSC1 гена бяха установени в рамките на настоящия труд. (Табл. 4и 5)

От получените наши резултати прави впечатление съотношението на установените TSC1 (38,71%) спрямо TSC2 (58,06%) мутации, а именно 1 : 1,5. Във всички досега публикувани данни се докладва 2-3 до 4 пъти по-висока честота на TSC2 мутациите.

Мутациите в TSC1 гена са най-често *frameshift* делеции или nonsense мутации (37 и 36%, респективно), докато *missense* мутациите са по-рядки (3,1%). В TSC2 гена *frameshift* делеции, *nonsense* и *missense* мутациите се срещат с еднаква честота (около 22-27%), докато *splice site* мутациите и мутациите инсериращи бази са по-рядко срещани (съответно 16% и 9%). В нашето изследване резултатите са близки до тези: в TSC1 гена *nonsense* са 42% (n=5), *frameshift del* ca 25% (n=3), като само при *missense* се отчита значително по-висок резултат - 33% (n=4). В TSC2 гена установихме по равен брой (n=6) или 33% *frameshift del* и *missense*, както и 22% (n=4) *nonsense* и 11% (n=2) дубликации.

Разпределението на *de novo* спрямо фамилените случаи, отнесени към TSC1 и TSC2 гените в нашето проучване показва също някои особености. Известно е, че *de novo* мутациите са по-характерни и по-чести при TSC2, респ. рядко се наблюдават фамилни TSC2 случаи, което може да бъде обяснено със **значително по-тежкия фенотип у тези пациенти** според литературните данни. Фамилните случаи са по-често със засегнат **TSC1 ген и поради обичайно по-леката фенотипна изява** с по-голям репродуктивен потенциал.

При нашите изследвани пациенти *de novo* мутации са съответно 10 деца (55%) с TSC2 и 6 деца (50%) с TSC1 гена. При децата с данни за фамилност разпределението е съответно 7 деца (39%) с TSC2 и 4 деца (33%) с TSC1 гена, т.е. наблюдава се почти еднакво представяне на *de novo* мутациите в двата гена, а при фамилните случаи доминира TSC2. Поради това не може да се достигне до статистическа значимост ($p > 0.05$) на данните при нашия контингент изследвани, поради малкия брой пациенти в групите и близките стойности.

Интересен факт при нашата популация е **наличието на пациенти с TSC1 мутации с изключително различна по отношение на тежест на протичане клинична картина** – от пациент само с кожни лезии, без епилепсия или интелектуален дефицит, до тежко изоставашо дете с аутистично поведение и ранен, фармакорезистентен епилептичен синдром.

В нашите наблюдения установихме общо 4 деца с мутация в Екзон 15 на TSC1 гена, три от които *nonsenseframeshiftdel*. Две от децата са с ранен синдром на West и изоставане в НПП /и при двете има засегната майка/, при едно дете са налични КПП и атипични абсанси, но при ненарушен интелект, /*de novo*/ а при четвъртия пациент са налице редки ГТКП с изява към – 9 г. възраст и нормален интелект/адоптиран, с неясна фамилност/. **Това е още един пример за изключителната хетерогенност на клиничната симптоматика, дори и при сходни генетични данни.**

Известно е, че у всяко следващо поколение обичайно клиничната картина е по-неблагоприятно представена, а пациентите с по-тежък фенотип – явление **антиципация**, но тоне дава пълно обяснение на степенна на тежест на изява при фамилените случаи. В нашата група пациенти, поради малкият им брой в отделните групи не се достигна до

статистическа значимост, но такава е категорично налице при подробен анализ на отделните фамилии с проведено генетично изследване, **в полза на значимо по-тежък фенотип у пациентите с мутация в TSC2 гена.**

От друга страна 4 (n=4; 2 - *missense*, 1 – *nonsense*, 1- *frameshift/del.*) от децата с *de novo* мутации в TSC1 имат също ранна изява на епилептични пристъпи, т.е. и без наличие на антиципация е възможен тежък фенотип при носителство на тази „по –благоприятна“ мутация. Едно дете (n=1) с *missense* никога не е имало такива и е с нормален интелект и предимно кожно засягане, но и със SEGA. В същото време, подобно на всички по-горе цитирани проучвания при 83% (n=15) от пациентите с мутации в TSC2 фенотипните прояви са по-сериозни и обикновено ангажиращи повече органи и системи. Само при 1 дете (n=1) с *nonsense* в Еxon 17 *de novo* интелектът е в норма /с дискретни обучителни затруднения/ и без епилепсия, но със сериозно бъбречно засягане.

При други 2 деца TSC2 мутация – *frameshift duplication* в Екзон 26 /брат и сестра при засегнат баща/ с дискретно изявена клиниката - с известни поведенчески особености и липса на пристъпи на фона на отдавна спряно АК лечение. При този тип мутация се очаква по-сериозна фенотипна изява.

При един фамилен случай на 2 братя, унаследили TSC2 *missense* мутация в Екзон 42 от своята майка – и при двамата е налице тежък епилептичен синдром, тежко УИ с аутистични елементи, при единия брат и с данни за бъбречно засягане с кисти и AML, SEGA, както и тежки мозъчни увреди с голям брой, пръснати, разнокалибрани тубери, някои от които с калциеви отлагания или наподобяващи „blackholes“. *Missense* мутациите в литературата се асоциират с изява на лек фенотип.

Тези примери дават основание и ние, както и в предходни проучвания да търсим **корелация не само между засегнатия ген (Табл. 7), но и връзка с типа мутация и нейното разположение в гена.** От друга страна към всички тези анализи следва да се вземе предвид и изявата на съответната мутация като *de novo* или *унаследена*, което обяснява и многообразието на клиничната картина и прави установяването на еднозначни генотип-фенотипни корелации. В изследваната от нас група пациенти установихме статистическа значимост на тежестта на клиничната изява от засегнатия ген ($p < 0.05$). Липсва такава по отношение на типа мутация ($p > 0.05$). В процентно измерение данните са също изцяло в подкрепа на досега известното в литературата становище за изява на **по-тежък фенотип при пациенти с TSC2 спрямо тези с TSC1** мутация: **Слека фенотипна изява са 75% (n=3) от TSC1 и само 25% (n=1) от TSC2 пациентите. С умерена и тежка фенотипна изява са респ. 54,5% и 73,3% от TSC2 пациентите и 45,5% и 26,7% от TSC1. И докато стойностите при умерената степен са близки, то при тежкия фенотип пациентите с TSC2 мутация са почти три пъти повече от тези с TSC1 - 73.3% (n=11) спрямо 26,7% (n=4).**

Табл.7 Корелация между засегнат ген и тежест на клиничната изява

TSC1/TSC2		Обща оценка на тежестта на клиничното протичане			Общо	p
		Леко	Умерено	Тежко		
TSC1	N	3	5	4	12	0,041
	%	75,0%	45,5%	26,7%	40,0%	
TSC2	N	1	6	11	18	
	%	25,0%	54,5%	73,3%	60,0%	
Общо	N	4	11	15	30	

Всички тези данни дават основание да се направи извод, че клиничната картина при заболяването не може да се определи еднозначно само във връзка с анализирането на един критерий, т.е. тежестта на фенотипната изява е сложна и многофакторно обусловена – **тип мутация, локализация в гена, както и засегнат ген – TSC 1 или TSC2**. Всички тези фактори поотделно и заедно водят до разнообразни мутации в двата белтъка – туберин и хамартин респ. в туберин-хамартиновия комплекс, което е в основата на нарушените сигнални пътища за регулация на клетъчния растеж, миграция и пролиферация.

- Установили сме статистическа значимост между мутация и поставяне на диагноза преди 2 г. възраст ($p < 0.05$) (**Табл.8**). Ранна диагноза имаме при 61,1% ($n=11$) от пациентите с TSC2 мутация и едва при 1 пациент с TSC1, което е **обусловено от по-ранния и по-тежък фенотип при пациентите с мутация в TSC2 гена**.

Табл.8 Диагностициране на TCK под 2 г. възраст и мутации в TSC1 и TSC1 гените

Възраст при диагностициране под 2 г. възраст		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	11	7	18	0,007
	%	91,7%	38,9%	60,0%	
Да	N	1	11	12	
	%	8,3%	61,1%	40,0%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Статистическа значимост се установява и по-отношение на поставянето на ранна диагноза, което обичайно се дължи на значителни нарушения и изява на множество симптоми още от ранна възраст, определящо и по-неблагоприятен ход на заболяването ($p < 0.05$) (**Табл.9**).

Табл. 9 Тежест на заболяването и диагностициране под 2 г. възраст

Обща оценка на тежестта на клиничното протичане		Възраст при диагностициране под 2 год		Общо	p
		Не	Да		
Леко	N	5	0	5	0,030
	%	13,2%	0,0%	8,6%	
Умерено	N	16	5	21	
	%	42,1%	25,0%	36,2%	
Тежко	N	17	15	32	
	%	44,7%	75,0%	55,2%	
Общо	N	38	20	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- **Кожните прояви** у изследваните от нас пациенти са подобни на досега публикуваните по отношение на честота: 100% от нашите пациенти са с хипопигментации, а при онези от тях с генетично изследване стойностите са близки при двата гена: 89% при TSC2 мутация и 92% при TSC1 мутация т.е. липсва сигурна статистическа зависимост. Лицеви ангиофиброми установихме в 69%, също без сигурна зависимост от гена, при онези от децата с установена мутация. Шагреново петно се установява при 33% (n=19), унгални фиброми в 17% (n=10), други кожни фиброми в 14% (n=8), safe-auralait петна в 29% (n=17), гингивални фиброми при 15,5% (n=9), дефекти в зъбния емайл при 7% (n=4) от изследваните. Наличие на бял кичур коса има при 10% (n=6), като TSC 2 мутация има при 3 от тях (n=3), при едно е установена TSC1 мутация, а при другите 2 няма провеждано генетично изследвани.
- Наличие на **епилптични пристъпи** се установи при 94,8% от изследваните пациенти, което е сравнимо с предходните проучвания, при които честата на този симптом е 85-90% и повече. На този етап не може да се установи статистическа значимост за връзката между мутация в един от двата гена и наличието на епилепсия (p>0.05), поради относително малкия брой сравнявани пациенти и сравнително близките данни в сравняваните групи (**Табл.10**). **Епилептични пристъпи има при 83,3% (n=10) от децата с TSC1 мутация и при 94,4% от децата с TSC2 мутация (n=17).**

Табл. 10 Корелация между наличие на епилепсия и мутация в един от двата гена

Наличие на епилепсия		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	2	1	3	0,342
	%	16,7%	5,6%	10%	
Да	N	10	17	27	
	%	83,3%	94,4%	90%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Установихме и статистическа значимост между мутация в TSC2 и тежестта на епилепсията – $p < 0.05$ (Табл.11).

Табл. 11 Тежест на епилептичния синдром при мутациите в TSC1 гена и TSC2 гена

Тежест на епилептичния синдром		TSC1	TSC2	Общо	p
лека изява на епилепсия	N	6	3	9	0,039
	%	60,0%	17,6%	33,3%	
тежък епилеп. синдром	N	4	14	18	
	%	40,0%	82,4%	66,7%	
Общо	N	10	17	27	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Статистическа значимост установихме и по отношение на изявата на епилептичните пристъпи рано в живота на пациентите, съотнесена към тежестта на епилептичния синдром. Известно е, че ранните пристъпи са винаги с по-неблагоприятна прогноза, което е видно и за нашата изследвана група болни – $p < 0.05$ (Табл.12).

Табл.12 Тежест на епилептичния синдром при ранно начало на епилепсията (преди 2 г. възраст) при пациенти с TSC

Тежест на епилептичния синдром		Преди 2 годишна възраст	След 2 годишна възраст	Общо	p
лека изява на епилепсия	N	8	8	16	0,016
	%	20,0%	57,1%	29,6%	
тежък епилеп. синдром	N	32	6	38	
	%	80,0%	42,9%	70,4%	
Общо	N	40	14	54	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Липсва сигурна корелация и при анализиране възрастта на изява на епилепсията и ранното диагностициране на TSC ($p > 0.05$) (Табл.13).

Табл. 13 Ранна изява на епилептичен синдром и диагностициране на ТСК преди 2 г. възраст

Наличие на епилепсия		Възраст при диагноза под 2 год		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	2	1	3	1,000
	%	5,3%	5,0%	5,2%	
Да	N	36	19	55	
	%	94,7%	95,0%	94,8%	
Общо	N	38	20	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Установихме статистическа значимост ($p < 0.05$) между наличието на интелектуален дефицит и ранно поставяне на диагнозата преди 2г възраст. (Табл.14).

Табл. 14 Ранна изява на интелектуален дефицит и диагностициране на ТСК преди 2 г. възраст

Наличие на интелектуален дефицит		Възраст при Диагноза Под 2 год		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	16	0	16	<0,001
	%	42,1%	0,0%	27,6%	
Да	N	22	20	42	
	%	57,9%	100,0%	72,4%	
Общо	N	38	20	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- При сравнение между групите с и без епилепсия във връзка с наличие на голям брой тубери липсва сигурна корелация ($p > 0.05$)(Табл.15), което се подкрепя и от нашите наблюдения, че и деца с малък брой, дребни тубери могат да са с изява на тежък епилептичен синдром.

Табл. 15 Множествени тубери и наличие на епилепсия при децата с ТСК

Наличие на епилепсия		Множествени тубери		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	2	1	3	0,297
	%	8,3%	2,9%	5,2%	
Да	N	22	33	55	
	%	91,7%	97,1%	94,6%	
Общо	N	24	34	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Налице е корелация между големия брой тубери и трудния контрол върху пристъпите т.е. постигане на контрол над пристъпите е по-трудно при множествени тубери ($p < 0.05$) (Табл.16).

Табл. 16 Множествени тубери и терапевтична резистентност при пациентите с ТСК

Труден контрол/политерапия-чести пристъпи		Множествени тубери		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	14	9	23	0,006
	%	66,7%	27,3%	42,6%	
Да	N	7	24	31	
	%	33,3%	72,7%	57,4%	
Общо	N	21	33	54	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Установява се статистическа значимост на наличието на множествени тубери ($p < 0.05$) (Табл. 17 и Табл. 18) като фактор, оказващ влияние както върху интелектуалното функциониране, така и върху ранната възраст при диагностицирането. Това е свързано най-вече с факта, че туберите са субстрат на мозъчната увреда и са категоричен фактор за нормалното функциониране.

Табл. 17 Множествени тубери и наличие на интелектуален дефицит при децата с ТСК

Наличие на интелектуален дефицит		Множествени тубери		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	14	2	16	<0,001
	%	58,3%	5,9%	27,6%	
Да	N	10	32	42	
	%	41,7%	94,1%	72,4%	
Общо	N	24	34	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Табл. 18 Множествени тубери и диагностициране на ТСК под 2 г. възраст

Възраст при диагноза под 2 год		Множествени тубери		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	22	16	38	0,001
	%	91,7%	47,1%	65,5%	
Да	N	2	18	20	
	%	8,3%	52,9%	34,5%	
Общо	N	24	34	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Наличието на епилепсия е един от основните фактори, определящи тежкия и неблагоприятен ход на заболяването и оказва значимо влияние по отношение на общото функциониране и качеството на живот. Установява се статистическа значимост между наличието на епилепсия и тежестта на клиничното протичане на заболяването ($p < 0.05$) (Табл.19)

Табл. 19 Корелация между наличие на епилепсия и тежест на клиничното протичане на ТСК

Обща оценка на тежестта на клиничното протичане		Наличие на епилепсия		Общо	p
		Не	Да		
Леко	N	1	4	5	0,048
	%	25,0%	7,4%	8,6%	
Умерено	N	3	18	21	
	%	75,0%	33,3%	36,2%	
Тежко	N	0	32	32	
	%	0,0%	59,3%	55,2%	
Общо	N	4	54	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Друг основен фактор, оказващ значимо влияние по отношение на хода, тежестта и качеството на живот е наличието на различен по тежест интелектуален дефицит, като и тук установяване статистическа значимост на наличието му по отношение на общата оценка на тежестта на проявите и хода на заболяването ($p < 0.05$) (Табл. 20).

Табл. 20 Корелация между наличие на интелектуален дефицит и тежест на клиничното протичане на ТСК

Обща оценка на тежестта на клиничното протичане		Наличие на интелектуален дефицит		Общо	p
		Не	Да		
Леко	N	5	0	5	<0,001
	%	31,3%	0,0%	8,6%	
Умерено	N	10	11	21	
	%	62,5%	26,2%	36,2%	
Тежко	N	1	31	32	
	%	6,3%	73,8%	55,2%	
Общо	N	16	42	58	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Подобно и на други проучвания установихме статистическа значимост между **интелектуалния дефицит** и наличие на мутация в TSC2 ($p < 0.05$) (Табл. 21)

Табл. 21 Интелектуалния дефицит и наличие на мутация в TSC1 и TSC2 гените

Наличие на интелектуален дефицит		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	6	2	8	0,034
	%	50,0%	11,1%	26,7%	
Да	N	6	16	22	
	%	50,0%	88,9%	73,3%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Не се установява статистическа значимост на големия брой хипопигментни петна като прогностичен фактор, определящ тежестта на клиничната изява ($p > 0.05$)
- Установи се статистическа значимост ($p < 0.05$) (Табл. 22) между TSC2 мутация и **множествените тубери**, с което се придържахме към досега известните данни .

Табл. 22 TSC2 мутация и множествените тубери при TSC

Множествени тубери		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	10	4	14	0,002
	%	83,3%	22,2%	46,7%	
Да	N	2	14	16	
	%	16,7%	77,8%	53,3%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- **Особен интерес** представляват получените от нас данни при изследване и анализ на пациенти с TSC1 мутация и установяване при тях в МРТ на **радиални миграционни линии (RMLs) при 91,7%, като едновременно с това при същите се отчитат по-малобройни и с по-малки размери тубери.** Установява се статистическа значимост с $p < 0.001$ (Табл. 23).

Табл. 23 Радиални миграционни линии и мутации в TSC1 гените в сравнение с TSC2 гените

Радиални миграционни линии		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	1	17	18	<0,001
	%	8,3%	94,4%	60,0%	
Да	N	11	1	12	
	%	91,7%	5,6%	40,0%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Установи се статистическа значимост ($p < 0.05$) и между TSC2 мутация и наличие на SEGA, с което също се придържаме към данните, публикувани до момента в TOSCA. (Табл. 24)

Табл. 24 Корелация между наличие на SEGA и мутации в TSC2 гена в сравнение с TSC2 гена

SEGA		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	11	8	19	0,018
	%	91,7%	44,4%	63,3%	
Да	N	1	10	11	
	%	8,3%	55,6%	36,7%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

По отношение на получените от нас резултати, свързани с установяване на зависимост между мутация и наличие на RMLs се установи, че такива са налице почти изключително само при пациенти с TSC1 мутация, каквито съобщения в литературата засега липсват.

- По отношение на наличието на AML ($p < 0.05$) и бъбречни кисти ($p < 0.05$) предимно при пациенти с TSC2 мутация също установихме статистическа значимост (Табл. 25 и 26).

Табл. 25 Корелация между честотата на АМЛ и мутациите в *TSC1* и *TSC2* гените

AML		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	11	7	18	0,007
	%	91,7%	38,9%	60,0%	
Да	N	1	11	12	
	%	8,3%	61,1%	40,0%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Табл. 26 Корелация между наличието на бъбречни кисти при пациенти с мутации в *TSC1* и *TSC2* гените

Бъбречни кисти		TSC1	TSC2	Общо	p
Не	N	12	10	22	0,010
	%	100,0%	55,6%	73,3%	
Да	N	0	8	8	
	%	0,0%	44,4%	26,7%	
Общо	N	12	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

ИЗВОДИ за проучването при ТСК:

ТСК е АД заболяване, характеризиращо се със значима клинична и генетична хетерогенност. За пръв път в България се представя и анализира толкова голяма група от пациенти (n=58), като нашите данни показват значимо сходство с досега публикуваните. Независимо, че при някои сравнявани параметри не се постига статистическа значимост, от математическа гледна точка данните са убедителни, а именно: липсва сигурна предилекция на засягане по отношение на пол, както и връзка на големия брой хипопигментни петна (основен диагностичен критерий) с тежестта на клиничната картина. Установява се много висока честота на пациентите с епилепсия и различни невропсихиатрични симптоми, с превес у пациентите с TSC2 мутация, за която всички провеждани досега генотип-фенотипни анализи потвърждават, че се асоциира със значимо по-тежък фенотип, спрямо мутация в TSC1. Освен с ранна изява и по-неблагоприятен ход на епилепсия и с различно по степен умствено изоставане TSC2 гена се свързва и по-голямата честота на редица други прояви на заболяването – тубери, бъбречни кисти и AML, SEGA, като обикновено всички тези прояви определят и поставяне на по-ранна диагноза, от което зависи и последващия правилен терапевтичен подход. От друга страна пациентите с TSC1 мутации са с по-благоприятен ход на заболяването и по-лека фенотипна изява.

В нашето изследване освен детайлен анализ на клиничната симптоматика и хода и тежестта на заболяването бяха установени и **около 6 нови мутации – 2 в TSC1 и 4 в TSC2 гена**. Също така интерес представляват нашите резултати по отношение на МРТ находките във връзка с наличието на радиални миграционни линии строго доминантно у пациентите с TSC1 мутации /както и при изследвани родители при фамилните случаи, когато същите са били наалични/, каквито доклади в литературата до този момент липсват. Отчита се много добър ефект – намаляване на размерите на SEGA и AML, от провежданото лечение с еверолимус при всички 10 пациента, като ефекта е по-значим при по-дълго приложение. Пациентите на това лечение са редовно проследявани с необходимите лабораторни изследвания и контролни МРТ на главен мозък и абдомен, според приетия в България Консенсус за ТСК.

2. НЕВРОФИБРОМАТОЗА ТИП I- РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

2.1. ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ И КЛИНИЧНИ ДАННИ

2.1.1 Епидемиологични данни

Изследването ни обхваща 40 деца от 37 несвързани помежду си семейства. При 3 от фамилиите сме изследвали и второ дете в семейството с данни за НФ1. Момчетата в групата са 17 (42,5%) със средна възраст при диагностициране 6,48г. , а момчетата – 23 (57,5%), със средна възраст при поставяне на диагнозата 5,29г. Диагнозата е поставена преди 2 г.възраст при едва 6 от пациентите (15%). Данни за засегнат член на семейството се установява при 21 от децата.

2.1.2 Клинични данни

НФ 1 се характеризира с изключителна клинична вариабилност както при отделните пациенти с *de novo* мутации, така дори и у членове на фамилии с установено носителство на една и съща мутация. Освен това локализацията в гена, типа мутация и антиципацията като феномен на усложнена клинична картина при следващото поколение са също фактори, определящи тежестта на изява на симптомите. Върху клиничната изява със сигурност влияние оказват и редица епигенетични и стохастични фактори, с което до известна степен би могло да се обясни липсата на катерогични генотип-фенотипни корелации, независимо, че от генетична гледна точка са известни условията, които в най-голяма степен биха определили по-тежка форма на заболяването. При НФ, също както и при ТСК някои от клиничните симптоми са също време зависими, т.е. с изява в определена възраст.

- В изследвана от нас група пациенти в различни възрасти установихме наличие на повече от 6 от типичните CAL петна у 97,5% (n=39) и кожни неврофиброми самостоятелно или при наличие и на плексиформени неврофиброми при 22,5% т.е. при n=9 . Само при едно от децата към момента на диагностицирането са били налични

по-малко от 6 петна, но с множество други прояви на заболяването. Поне при 3 от децата са установени и плексиформени неврофиброми с локализация по гръбвочно-мозъчните коренчета.

- С наличие на епилепсия са 27,5%, т.е. n=11, а с изява на единствен гърч, но при Т, поради което е отчетен само като единичен фебрилен гърч, без последващи данни за епилепсия е едно дете.
- Дебют на епилептичните пристъпите преди 2г. възраст отчетохме при 45,5% или n=5, а при останалите 6 деца или 54,5% пристъпите са с начало след 2 г възраст.
- На **Фиг.4** е представено разпределението на епилептичните пристъпите по вид при дебюта на заболяването, както и разпределението им в хода на еволюцията на епилептичния синдром.



Фиг. 4

- С добър контрол на пристъпите са 45,5%, а при останалите се отчита трудно повлияване.
- С наличие на различна по степен умствена изостаналост са 22,5% (n=9), а с граничен интелект 17,5% (n=7). От децата с УИ се установяват по равен дял – 10% с лека и с тежка УИ, т.е. по 4 деца, а едно и с данни за умерено изоставане (**Табл. 27**). С аутистично поведение и едно от децата, с хиперактивност – 12 деца, а с различни говорни нарушения – предимно в експресивната реч и дефектно звукопроизношение – общо 15 деца.

Табл. 27 Честота и тежест на УИ при пациентите с НФ1

Наличие на УИ	N	%
Не	31	77,5
Лека	4	10,0
Умерена	1	2,5
Тежка	4	10,0
Общо	40	100,0

- С данни за оптични глиоми са 30% или n=12 от изследваните.
- С данни за други туморни формации (Ту) – най-често в областта на главата – мозъчни или подкожни – са 25% или n=10. Известна е повишената склонност към туморогенеза при това заболяване.
- Макроцефалията е също нередка находка при НФ1, като при нашите пациенти такава установихме при 25% или n=10.
- С главоболие – предимно от тензионен тип са 30% от изследваните.
- Сколиоза се установи у 20% от нашите пациенти, като при поне 3 от тях се е наложила оперативна корекция поради сравнително бързата и прогресия и влошаване на качество на живот и риск за виталните функции.
- С данни за закъсняващо или изпреварващо съответните възрастови норми развитие са 20% от децата – n=8, като при повечето от тях това нарушение е свързано и с по-нисък или по-висок за възрастта ръст
- Невроизобразяващо изследване - МРТ на главен мозък, е проведено при 70% от пациентите с оглед установяване на типичните за детската възраст NBOs, както и за уточняване наличие или липса на оптични глиоми или други мозъчни тумори.
- NBOs са установени при 85,7% у изследваните, което потвърждава високата им честота в детска възраст. Обсъждано е да бъдат добавени към диагностичните критерии, но на този етап те не са част от тях.
- С неблагоприятен ход на заболяването са 15% или n= 6 от нашите пациенти, предимно за сметка на онези от тях с установени мозъчни Ту формации или тежък и трудно контролиран епилептичен синдром. С леко клинично протичане са n=12 или 30% - такива с предимно кожно засягане като единствена манифестация и без съществени други симптоми или отклонения в соматичния или неврологичен статус. При 55% или n=22 от пациентите е налице по-усложнен ход с известни когнитивни или обучителни нарушения свързани и нередко с УИ, наличие на епилептични пристъпи, оптичен глиом, пубертетни нарушения и др. (Табл. 28).

Табл. 28 Обща оценка на тежестта на клиничното протичане

Обща оценка на тежестта на клиничното протичане	N	%
Леко	12	30,0
Умерно	22	55,0
Тежко	6	15,0
Общо	40	100,0

2.2. ГЕНЕТИКА

От анализиранията група пациенти (n=40) генетично изследване има при 37,5% (n=15). На **Табл. 29** е показана честотата на мутациите, установени при изследваните деца –най-много (n=5) са делециите – 33,%, следвани от равен брой (n=3) splice site и nonsense – по 20% и missense - 26,7% (n=4). По литературни данни разпределението на мутации в *NF1* гена е както следва: 5-10% от случаите са големи делеции, а 85-90% са точкови мутации включващи *missense*, *nonsense*, *splice site* и *frameshift* мутации.

Табл. 29 Разпределение на мутациите по тип у пациентите с генетично изследване

Тип мутация	N	%
nonsense	3	20
missense	4	26,7
del	5	33,3
splice	3	20
Общо	15	100,0

Връзката между тежестта на фенотипната изява и типа мутация винаги е представлявала интерес за дискусия. И при NF гена обаче наличието на обособени райони с по-важна функция следва да се има предвид при това обсъждане, а именно, че не само типа мутация е от значение, но и това в кой домен/екзон/интрон попада. Към тези данни следва да се добави и ефекта на антиципация, който допълнително би могъл да доведе до изява на по-тежък фенотип.

На **Табл. 30** са подробно представени пациентите с проведени генетични изследвания, описани с Анамнеза и уточнена мутация. В хода на изследванията освен известни мутации беше установена и *нова*, неописвана досега в световните бази данни *splice site мутация – с.2990+2T>G (15,140)*.

Табл. 30 Резултати от проведените генетични изследвания при 15 от пациентите с НФ1. С *червено* са отбелязани новите мутации.

пациент	клиника	екзон/интрон NF ген	мутация	тип мутация
1	safe-au-lait петна; макроцефалия; глиом на десен оптичен нерв и НСО; граничен към лек инт. дефицит; брат на П2	Екзон 17	c.1885G>A, p.Gly629Arg	missense
2	safe-au-lait петна; макроцефалия; НСО; хиперактивен - брат на П1	Екзон 17	c.1885G>A, p.Gly629Arg	missense
3	гърчове и изоставане от кърмачески период; safe-au-lait петна; алалия, фармакорезистентна епилепсия; НСО и глиом на ляв оптику; тежка УИ	Екзон 21	c.2540T>C, p.Leu847Pro	missense
4	safe-au-lait петна; глиом на десен оптичен нерв; често тензионно главоболне; лумбален плексиформен неврофибром и сколиоза; нормален интелект	Екзон 38	c.5270T>A, p.Val1757Asp	missense
5	safe-au-lait петна; епилепсия с ГТКП, нормален интелект	Екзон 16	c.1756_1759delACTA, p.Thr586Valfs*17	frame shift deletion
6	safe-au-lait петна; торако-лумбална сколиоза с плексиформен неврофибром и НСО; нормален интелект	Екзон 5	c.574C>T, p.Arg192*	nonsense
7	safe-au-lait петна; епилепсия с абсанси и ГТКП; мигрена; нормален интелект	Екзон 8	c.823_827delATCTT, p.Leu276ValfsTer14	deletion
8	safe-au-lait петна; лека говорна задръжка; НСО и суспектни глиоми на двата очни нерва	Интрон 22	c.2990+2T>G (new)	splice-site
9	safe-au-lait петна, лека УИ, мигренозно главоболне; конвергентен страбизъм; НСО	Интрон 22	c.2990+2T>G (new)	splice-site
10	safe-au-lait петна и подложни фибромчета; макроцефалия; сколиоза; тензионно главоболне и арт хипертония; нормален интелект; НСО	Екзон 28	c.3721C>T, p. Arg1241*	nonsense
11	safe-au-lait петна; макроцефалия; говорна задръжка; глиоми на двата оптични нерва; лека УИ с по-хиперактивно и невротично поведение; симптом епилепсия с КПП при Ту церебри и НСО	Екзон 26	c.3456_3459delACTC, p.Leu1153Metfs*4	frame shift deletion
12	safe-au-lait петна; нормален интелект	Интрон 45	c.6820-3A>G	splice-site
13	safe-au-lait петна; изоставане говорно развитие, хиперактивно поведение с аут. елементи; рецидивиращ миксом на нервните обвивки; НСО	Екзон 40	c.5902C>T, p.Arg1968*	nonsense
14	safe-au-lait петна; сколиоза; оптичен глиом; НСО; нормален интелект	Екзон 9	c.906_908delTCT; p.Ser302_Leu303 delins Arg	deletion /indel
15	safe-au-lait петна; фиброми; оптичен глиом; НСО; говорна задръжка	Екзон 5	c.494delC; p.Thr165MetfsTer13	deletion

Пример за казаното е един от нашите пациенти (**Фиг. 5**) с изява на необичайно тежък фенотип – ранен епилептичен синдром, значимо умствено изоставане, множество САЛпетна, глиом на оптичния нерв. Пациента има майка с НФ1 с изразена кожна форма (**Фиг. 6**), особено след бременността си, т.е. тежкия фенотип би могъл да се обсъжда като свързан с наследствеността и то по майчина линия, за което някои автори съобщават също като фактор. От друга страна уточнената в този фамилен случай мутаация е missense (т.е. с очаквано по лек фенотип), но тя засяга Екзон 21 който попада в един от двата много важни домена на неврофибромин, а именно **GRD домена**, обхващащ 21-27 екзон. Другият, също много важен в структурно и функционално отношение е **CSRД домена**, кодиран от 11 до 17 екзон. В него попадат 2 от нашите пациенти, които са братя, с наличие също на missense мутаация в екзон 17, но с по лека фенотипна изява.

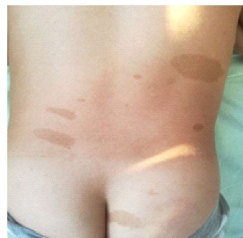


Фиг. 5

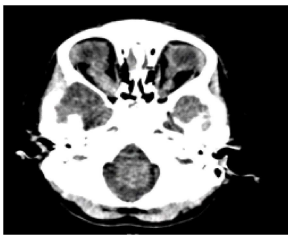


Фиг. 6

Също с изява на необичайно тежък фенотип е момиче на 3 г. възраст с *frameshift deletion* в Екзон 26, т.е. **отново в GRD домена** на НФ гена. Момичето е с множество САЛпетна (**Фиг.7**), изоставащо интелектуално развитие и към настоящия момент – на възраст бг. Детето беше диагностицирано генетично към 3 год. възраст и сащо тогава, поради единствен дълъг, латерализиран в леви крайници епилептичен припадък със следова пареза се проведе КТ на главен мозък с данни за Ту формация в дясно темпорално с размери 72/69мм (**Фиг. 9**), както и се визуализираха двустранни глиоми на оптичните нерви (**Фиг. 8**).



Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9

С изключение на една мутация, установена в семейство с множество засегнати членове, всички останали пациенти са носители на известни, описвани досега мутации.

Мутацията *c.2990+2T>G* е нова, неописвана досега в базите данни. Засегната е голяма фамилия с презентация в 3 поколения, като клиничната изява е съществена при второ и трето поколение засегнати. За засегнатия от първо поколение се знае, че е имал множество safe-au-lait петна, както и две сестри, за които нямаме данни за носителство. Във второ поколение са засегнати двете дъщери, с предимно кожна манифестация – множество safe-au-lait петна и значимо нарастване на брой и размери на кожните фиброми. При една от засегнатите има и установени т.нар. Тарлови кисти (асоциирани и с НФ) със сакрална локализация, докато при другата засегната освен кожните прояви е налице и значима сколиоза, но без да са установени плексиформени неврофиброми като причина за нея. И двете сестри имат по една здрава дъщеря и по един болен син – съответно на 12 г и на 3 г. Изявата и при двамата е свързана с множество safe-au-lait петна, малобройни кожни фиброми, отчетено лекостепенно умствено изоставане и наличие и при двамата на типичните за детска възраст NBOs.

Към момента в двете основни бази данни LOVD (Leiden Open Variant Database) и HGMD (Human Gene Mutation Database) са описани близо 2800 мутации в NF1 гена, както и още над 6000 възможно патогенни варианта, което е свързано с изключителната мутагенност на този ген.

Опитите за установяване на категорични генотип-фенотипни корелации са без съществен успех, поради изключителна клинична вариабилност не само между несвързани индивиди, но и сред засегнатите индивиди в рамките на едно семейство, а дори и в рамките на един човек с NF1 през различни периоди от живота. Към настоящия момент са установени само няколко ясни корелации между конкретни патогенни алели на NF1 и последователни клинични фенотипове.

Изключителната клинична вариабилност на NF1 предполага, че случайните събития са важни при определянето на фенотипа на засегнатите индивиди. Доказателство в подкрепа на това тълкуване се предоставя от появата на придобити варианти на т.нар “secondhit” или загуба на хетерозиготност в локуса на NF1 при някои неврофиброми, злокачествени тумори на периферната нервна обвивка, феохромоцитомы, астроцитомы, стомашно-чревни стромални тумори, миелоидни злокачествени заболявания, мандибуларни гигантоклетъчни грануломи и гломусни тумори от пациенти с NF1.

От всичко изброено по-горе изглежда, че клиничната хетерогенност на NF1 е резултат от комбинация от генетични, негенетични и стохастични фактори. Такава сложност и разнообразието от конституционални патогенни варианти на NF1, които се срещат при това заболяване, ще продължат да затрудняват генотип-фенотипа.

2.3. ДИАГНОСТИЦИРАНЕ

НФ1 е заболяване с вариабилна експресивност. В детска възраст обичайно деагнозата се поставя на база на множеството САL петна, обичайно преди 8г възраст, нерядко и още в първата година от живота. Има и редица случаи, при които или тя бива пропускана и типичните хиперпигментации приемани само като козметичен дефект, или петната са малобройни и липсват други видими белези. При наличие на фамилност обикновено е лесна, но при de novo пациентите може да се окаже и по-трудна. Диагнозата при НФ1 най-често се поставя на база на клиничните белези, но при някои случаи с непълно разгърната клинична картина генетичното изследване е наложително. Провеждане на МРТ на главен мозък за търсене на оптични глиоми и NBOse също с висока диагностична стойност в детска възраст.

2.4. ЛЕЧЕНИЕ

НФ 1 е генетично обусловено заболяване и на този етап липсва специфично лечение. Провежда се симптоматично, съобразено с възрастта и клиничните прояви у всеки пациент терапевтично поведение:

- Лечение на епилептичните пристъпи с правилно подбрани и дозирани спрямо възраст, пол, телесно тегло и тип пристъпи антиконвулсанти.
- При наличие на УИ и/или обучителни и поведенчески проблеми се налага специализирана терапия и подкрепа
- Логопедични занимания при говорни нарушения
- Консултации с офталмолог /оптични глиоми/ , ендокринолог /пубертетни отклонения/, ортопед /костни аномалии, сколиоза/ според необходимостта
- Редовно МРТ проследяване при наличие на оптични глиоми или NBOs
- Дерматолог и/или хирург при нарастване на неврофибромите и преценка необходимостта от отстраняване на рискови или създаващи дискомфорт.

През 2006 г. в САЩ е създаден Neurofibromatosis Clinical Trial Consortium (NFCTC) в резултат на което има вече завършени множество проучвания за деца и възрастни с неврофиброматоза тип 1 и плексиформни неврофиброми, неврокогнитивни нарушения, нискостепенни глиоми и злокачествени тумори на периферната нервна обвивка. На този етап липсват сигурни данни за конкретно етиологично или патогенетично лечение, поради което и до сега лечението при пациенти с НФ 1 е симптоматично.

2.5. КЛИНИКО – ГЕНЕТИЧНИ КОРЕЛАЦИИ И ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

НФ 1 се отличава със значителна вариабилност и хетерогенност по отношение на клиничната изява и тежестта на протичане, като са установени и редица възрастово специфични особености.

По отношение на основните симптоми на заболяването нашите данни са сходни с досега публикуваните няколко големи проучвания и бази данни. Разпределението по пол е приблизително равно, т.е. липсват данни за предилекционно засягане на пол: момичета:момчета=17:23. Възрастта на диагностициране варира в широки граници и за двата пола - от 0,66г до 17 г. Фамилните случаи и тези с *de novo* мутации са също близко до приетите около 50% при двата типа унаследяване.

Кожните промени – САЛ петна (около 94% от децата) и кожните неврофиброми и плексиформни неврофиброми също показват честота, сходна на досега докладваната. Важно е да се отбележи значително малобройното количество неврофиброми в детска възраст, увеличаващо се с времето и особено у жени след бременност.

Оптичните глиоми обикновено се явяват във възрастта до около 6 г и имат склонност с времето да инволюират – около 20% от децата и едва около 5% от възрастните имат такива находки. В нашата популация 30% или n=12 деца са с данни за оптични глиоми, като при 2 от децата те са двустранни.

Според Pride & North et al. и Lehtonen et al 2013 повечето от пациентите са с нормален интелект, но 50%-80% от децата са с различни обучителни затруднения и поведенчески прояви. Нашите данни показват около 30-37% поведенчески и когнитивни нарушения и 22,5% наличие на различна по степен УИ.

Епилептични пристъпи също се срещат с по-голяма честота у пациентите с НФ спрямо общата популация, като в нашето изследване те са 27,5% или n=11. Основен тип пристъпи са фокалните и ГТКП, подобно да докладваното от Hsieh et al., Ostendorf et al.

След оптичните глиоми другите най-чести Ту формации са *церебралните глиоми*, както и *неврофибромитена* гръбначномозъчните коренчета. Общо 25% или n=10 от нашите пациенти имат други тумори, различни от оптичните глиоми. При две от тях се касае за плексиформен неврофибром на гръбначномозъчни коренчета, при едно дете е хистологично верифициран пилоцитен астроцитом, а при друго – рецидивиращ миксом. При останалите липсват данни за хистологичните варианти, но са най-вероятни глиоми. Известен е факта, че лъчелечението повишава риска за нова туморогенеза.

Освен оптични глиоми и церебрални тумори още редица особености и нарушения в мозъчната структура биха могли да са налични у

пациентите с НФ. Типична находка за детската възраст са т.нар. *неврофиброматозни светли обекти* – *NBOs*. Налични са при около 50% от децата, като обичайно се явяват около 3-4 г. възраст, могат да се увеличат по брой и размер, след което да инволuirат към 10-12 годишна възраст. В редки случаи могат да търпят малигнена трансформация. В нашето изследване с *NBOs* са 85,7% или общо 24 от децата, при които има наличен проведен МРТ (n=28). Липсва сигурна връзка между наличието на тези обекти и епилепсия, както и връзката им с обучителни нарушения или поведенчески отклонения.

Viridis et al., 2000, Viridis et al., 2003 съобщават за по-висока честота на пубертетните отклонения – закъсняващ или преждевременен пубертет, каквито са и нашите данни – 20% (n=8) от пациентите имат такъв тип нарушение.

В следващите няколко таблици са представени обобщени данни за проведените анализи по отношение на наличие на корелационни зависимости на някои от по-важните симптоми и прояви при пациенти с НФ1.

- В единични обсъждания за по-тежък фенотип при момчета, особено при такива с унаследена мутация от майката, но на този етап липсват категорични публикувани данни. В нашето проучване се установи статистическа значимост по отношение на значително по-леката фенотипна изява у женския спрямо мъжкия пол – $p < 0.05$ (Табл.31)

Табл. 31 Корелация между пол на пациентите с НФ и тежестта на заболяването

Пол		Обща оценка на тежестта на клиничното протичане			Общо	p
		Леко	Умерено	Тежко		
Момичета	N	10	5	2	17	0,002
	%	83,3%	22,7%	33,3%	42,5%	
Момчета	N	2	17	4	23	
	%	16,7%	77,3%	66,7%	57,5%	
Общо	N	12	22	6	40	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Проведохме анализ на наличието на унаследяване според пола на носителя на мутацията, като не се установи статистическа значимост – $p > 0.05$, т.е. не се установява сигурна връзка между унаследяване от определен пол.
- Не се установява статистическа значимост на тежестта на клиничното протичане и зависимостта и от наличие на фамилиалност или не при засегнатите пациенти
- Не се установява статистическа значимост и в зависимост от установения тип мутация у изследваните пациенти спрямо тежестта на клиничната изява.

- Установихме статистическа зависимост между липсата на епилепсия и липсата на умствено изоставане – $p < 0,05$. От данните е видно, че 86,2% от пациентите ($n=25$) едновременно нямат епилепсия и нямат УИ, следователно липсата на епилепсия в голяма степен определя и интелектуалното функциониране и по-конкретно нормален интелект. (Табл. 32).

Табл. 32 Корелация между наличие на УИ и наличие на епилепсия

Наличие на УИ		Наличие на епилепсия		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	25	6	31	0,032
	%	86,2%	54,5%	77,5%	
Да	N	4	5	9	
	%	13,8%	45,5%	22,5%	
Общо	N	29	11	40	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Не се установява статистическа зависимост и между наличие на УИ или епилепсия върху тежестта на клиничната симптоматика – $p=0,246$, т.е. $p>0,05$
- Наличие на по-голям брой safe-au-lait петна не се свързва с по-тежък фенотип – $p=0,365$, т.е. $p>0,05$ – многократно дискутиран въпрос, с оглед опит за прогноза тежестта на протичане на НФ 1.
- В изследваната от нас група пациенти, подобно на литературните данни липсва статистическа зависимост между наличието на NBOs епилепсия или УИ у пациентите – $p > 0,05$ (Табл. 33 и Табл. 34), т.е. наличието на тези типични за детската възраст лезии, не е фактор за изява или тежест на другите два симптома.

Табл. 33 Корелация между наличие на NBOs и наличие на епилепсия

Наличие на епилепсия		NBOs		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	12	17	29	1,000
	%	75,0%	70,8%	72,5%	
Да	N	4	7	11	
	%	25,0%	29,2%	27,5%	
Общо	N	16	24	40	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Табл. 34 Корелация между наличие на NBOs и наличие на УИ

Наличие на УИ		NBOs		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	11	20	31	0,414
	%	68,8%	83,3%	77,5%	
Лека	N	2	2	4	
	%	12,5%	8,3%	10,0%	
Умерена	N	0	1	1	
	%	0,0%	4,2%	2,5%	
Тежка	N	3	1	4	
	%	18,8%	4,2%	10,0%	
Общо	N	16	24	40	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

- Не се установи статистическа значимост между диагностицирането и НФ преди 2 г. възраст и установяването на NBOs, което кореспондира с факта, че тези находки са типични във възрастта след 2,5 – 3 г възраст.

ИЗВОД:

Неврофиброматоза тип 1 е най-честата от познатите и описани 8 типа - т.нар. „периферна неврофиброматоза“ – NF 1 (болест на Recklinghausen), неврофиброматоза тип 2 (NF 2), позната още като „централна неврофиброматоза“, която е около 10-20 пъти по-рядка. Останалите типове се срещат много рядко.

В настоящия труд за пръв път в България се представя толкова голяма група от пациенти с това заболяване – с подробно описание и анализ на клиничната симптоматика, съпоставена и с досега известните в литературата данни. При 37,5% от пациентите диагнозата е подкрепена и с генетично изследване, с оглед и на търсене на възможни корелации между генетичната и клиничната характеристика на пациентите, а при една фамилия с поне 5 засегнати члена от 3 поколения се установи и нова, неописвана досега мутация в NF- гена. Проведени бяха и статистически анализи на резултатите, от които не се установяват сигурни клинични корелации, както това е описано и в досега проведените множество подобни опити. Този факт още веднъж показват както сходството на нашите данни с досега известните, така и изключителната клинична и генетична хетерогенност на заболяването, като нерядко то се манифестира с различна клинична картина дори и у сибси. Диагнозата обичайно не представлява трудност, когато пациента бъде подробно соматично и неврологично изследван. Има случаи, обичайно при малки деца, при които може да има пропуски поради неразгърнатата клиника. Провеждане на генетично изследване би улеснило лекаря, а наличието на установена мутация е от решаващо значение за възможностите на провеждане на генетична консултация и пренатална диагностика. Лечението е симптоматично, като прогнозата при повечето пациенти е благоприятна.

3. СИНДРОМ НА LOUIS-BAR/ATAXIA-TELANGIECTASIA SYNDROME

Синдром на Louis-Bar (Louis-Bar syndrome, LBS) или ataxia-telangiectasia syndrome (A-T) е рядко автозомно-рецесивно заболяване, принадлежащо както към факоматозите, така и към групата на невродегенеративните заболявания. Причинява се от мутации в ATM-гена, каквито в хетерозиготно състояние са налични с висока честота сред населението. Честотата на хомозиготното носителство, причиняващо заболяването се определя от 1:40 000 до 1:300 000 (rare diseasedatabase).

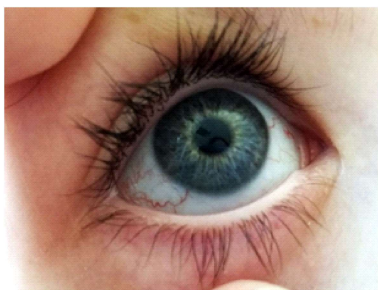
3.1 Епидемиологични данни

Представят се резултати на общо 13 деца, диагностицирани и проследявани в Клиниката по детска неврология към УМБАЛНП „Св. Наум“. Те са от общо 12 несвързани помежду си фамилии, като при една от тях има засегнати двама братя.

От засегнатите деца 77% или $n=10$ са момчета, а момичетата са 23% или $n=3$. В литературата липсват данни за преваляване на единия от двата пола при засягането. Диагнозата е поставена при средна възраст 7,58г (Min=3.5, Max=10).

3.2 Клинична характеристика

Типични конюктивални телеангиектазии (**Фиг. 10**) са налични в 100% от изследваните или $n=13$.



Фиг. 10 Конюктивални телеангиектазии



Фиг. 11 Церебеларна хипоплазия

При 46% или $n=6$ деца е отчетено ранно изоставане в двигателните умения и закъсняващо прохождение, а при останалите $n=7$ или 54% двигателните функции се определят като съответни за възрастта, с

навременно прохождение. С напредване на възрастта при 100% от децата се отчита влошаване в състоянието и неврологичния статус с изява и постепенна прогресия на координационната симптоматика – нестабилна походка, залитане и падане, титубацио, промяна в говора - дизартрия, дисметрия и тремор при изпълняване на носопозказалечна проба, хореоатетозни хиперкинези. Обичайно се отчита и напредване на малкомозъчната атрофия (Фиг. 11).

С ранното интелектуално развитие 30,7% или n=4 деца са били с изоставащо, а останалите 9 деца – с нормално ранно развитие. В хода на прогресията на заболяването 84,6% или n=11 деца са с изоставащо развитие, предимно в сферата на лекостепенното, за сметка предимно на говорни умения и училищна успеваемост.

Честото боледуване в резултат на типичния за заболяването имунен дефицит се отчита при поне 54% от пациентите. Данни за IgA имаме при 77% или n=10 деца от общо 13^{те}. При 100% т.е. и при десетте пациента IgA са значимо поднормени до липсващи.

Само при 38% или n=5 деца има данни за изследван б-фетопротеин, като при всички той е значително завишен – патогномоничен показател за заболяването.

Епилептичните припадъци не са характерни за това заболяване, като в нашия контингент са налични само у две деца – 15,3%

Налице е повишена склонност към тумори, особено В-клетъчни лимфоми, левкемии и рак на гърдата. При двама от нашите пациенти – 15,3% - се установи наличие на лимфобластни лимфоми. При едно от децата диагнозата е поставена по-късно, поради което е провело лъчелечение – неподходящо поради високия риск от нови нео-процеси.

3.3 Невроизобразяване

КТ или МРТ на главен мозък е проведено при общо 9 деца, като в 100% от тези изследвания се установява малкомозъчна атрофия, хипопластични малкомозъчни хемисфери и вермис, широк IV-ти вентрикул – т.е. установена е типичната мозъчна патология (Фиг. 11).

3.4 Генетични изследвания

При общо 5 от пациентите са проведени генетични изследвания, с установяване на мутация в АТМ-гена, потвърждаващо диагнозата. При 1 от децата с установена хомозиготна мутация се установи хетерозиготно носителство и у двамата родители. При едно от децата с доказана мутация, никой от изследваните 2 родители и 2 сибси не е носител. Двама от генетично верифицираните пациенти са братя, с потвърдено хетерозиготно носителство и у двамата родители.

ИЗВОД

При всички 13 пациенти с LBSе налице типичната клинична картина за заболяването – прогресираща неврологична симптоматика с изява на палео- и неocereбеларни симптоми, като атаксия, мускулна хипотония, дисметрия, тремор, титубацио, дизатричен говор. Наличието на характерните конюнктивални, а понякога и кожни телангиектазии и данните за „често боледуване“ правят клиничната диагноза лесна. При установени ниски стойности на поне един от класовете Ig, завишен алфа-фетопротеин и наличие на прогресираща малкомозъчна атрофия следва да се обсъжда Атаксия-телангиектазия. При подозрения за диагнозата и непълно разгърната клинична картина генетичното изследване ще я потвърди. Синдромът на Louis-Bage втората по честота причина за атаксия след Фридрайховата атаксия у деца и не бива да се диагностицира погрешно като атактична форма на ДЦП. ДЦП е непрогресиращо състояние за разлика от LBS, при който в рамките на няколко години обикновено децата стигат до тежка инвалидизация. Прогнозата, предвид характера на дегенеративно и прогресиращо заболяване е сериозна, а още по-сериозна е и при наличие на неоплазии. Поради малкия брой включени в тази група пациенти не може да се осъществи статистически анализ.

4. STURGE-WEBER СИНДРОМ

Синдромът на Sturge-Weber или още Енцефалотригеминална ангиоматоза е третото по честота заболяване от групата на неврокутанните синдроми след Туберозна склероза и Неврофиброматоза. Засяга 1:20 000 до 1:50 000 деца. Заболяването няма наследствен характер, засяга еднакво двата пола и всички раси. Типичната клинична изява на този синдром е свързана с лицеви, лептоменингеални и хориоидни хемангиоми, епилептични пристъпи, конралатерална хемипареза и хемихипотрофия, интелектуален дефицит, глаукома. През 2013 г. е установена мутация в GNAQген, свързваща се със заболяването. Диагнозата се основава както на типичните клинични белези, така и на характерните находки в невроизобразяващите изследвания. Лечението на заболяването е симптоматично с подходящи антиконвулсанти според типа пристъпи, лечение на глаукомата, лазерно лечение на лицевите хемангиоми и неврохирургия при необходимост.

4.1. Епидемиологични данни

Представят се резултати на общо 9 деца, диагностицирани и проследявани в Клиниката по детска неврология към УМБАЛНП „Св. Наум“.

Заболяването се дължи на спонтанни, соматични мутации т.е. нямаме данни за наличие на фамиленост.

От общо 9 деца, включени в нашето наблюдавани момичетата са 33,3% или $n=3$, а момчетата – 66,7% или $n=6$. Средната възраст при поставяне на диагнозата е 6,6г., при минимална 1,5 и максимална 11,25г.

4.2. Клинични данни

С **лицева хемангиоматоза** са 77,8% от изследваните – $n=7$, а при само 22,2% т.е. при $n=2$ деца такава липсва и при тях се установяват само типични образни данни за синдрома. При тези две деца липсва хемипареза или хемихипотрофия. При останалите 7 се отчитат хемипаретични и хипопластични крайници, контралатерално на лицевата хемангиоматоза. При 5 от 7-те деца с лицев хемангиоматоза локализацията е само челна, т.е. само по VI, което в литературата се свързва с по-висок риск от значимо неврологично засягане. Нашите данни потвърждават тази хипотеза, като и при 5-те деца е налице хемипареза, телесна хемихипотрофия и епилепсия.

Обиколката на главата е долногранична или с данни за микроцефалия при 88,9% или $n=8$ деца.

При едно от децата, което е и едно от двете без лицева хемангиоматоза се отчита липса на двигателно или интелектуално изоставане. При още едно също не се отчита изоставане в НПР, при наличие на *neavusflammeus* – т.е. при 2 от 9-те деца (или 22,2%) няма интелектуален или двигателен дефицит. При останалите 77,8% ($n=7$) се отчита освен двигателен дефицит – контралатерална хемипареза и УИ в различна степен: умерена УИ – 55,6% ($n=5$), а с леко УИ са 22,2% ($n=2$). Обичайно интелектуалният дефицит е свързан и с различна по тежест говорна задръжка и обучителни нарушения. На **Фиг. 12** е представено разпределението на пациентите по този критерий.



Фиг. 12 Наличие и тежест на интелектуалния дефицит при пациенти с LBS

Епилептични пристъпи се отчитат при 100% от децата, като пристъпите са с обичайна характеристика на фокални с или без ВГТКП, при 3 от децата и с наличие на КПП. На **Фиг. 13** е представено разпределение по възраст на изява на епилептичния синдром, като е видно, че 55,5% от децата (n=5) са с начало до 2г възраст. Средната възраст при дебют е 2,67г. (Мин – 50дневна възраст; Макс – 10 г. възраст). Наблюдаваната от нас честота е доста по-висока в сравнение с някои описания за до 75% епилепсия при едностранно мозъчно засягане и около 95% при двустранно такова.

В свои изследвания от 2002, 2005 и 2009 г. Kossoff et al. съобщават за наличие на връзка между ранното начало на пристъпите (преди 6 месечна възраст) и развитие на хемипареза, което се потвърждава и при нашите 4 деца с дебют до около 6-ти месец.



Фиг. 13

При 44,4% или n=4 деца пристъпите са редки и контрол е постигнат само с монотерапия с валпроат. При останалите 55,6% или n=5 деца пристъпите персистират, със склонност да се видоизменят във времето. Всички тези деца са на тройна АК терапия, без достатъчен ефект и изява на пристъпи през различно дълъг „светъл период“. Именно те са и 5-те деца с данни за умерена УИ. Персистиране на пристъпите е известно и от литературата, че обичайно води до влошаване на интелекта.

За заболяването е характерно и **често мигреноподобно главоболие**. При 33,3% или n=3 деца се наблюдава наличие на такъв тип главоболие.

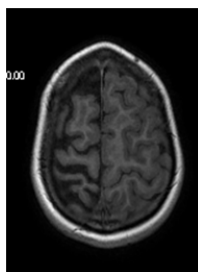
Очният статус е в норма при 88,8%, т.е. при n=8 от децата, като само при едно от тях се установи хиперметропия и астигматизъм.

4.3. Невроизобразяване

КТ на главен мозък е проведена при всички 9 от изследваните т.е. 100%, а с проведена КТ и МРТ са 55,6% или n=5 от децата. Типичните за заболяването калцификати се установиха в 100% от изследваните с КТ на главния мозък, а при n=7 от децата с наличие и на хемипареза се установи хипопластична мозъчна хемисфера, контралатерално на паретичните и хипопластични крайници и/или лице (**Фиг. 14, 15, 16**). Проведените невроизобразяващи изследвания при двете деца без лицева ангиоматоза всъщност се явяват диагностични. От анализираните деца 100% (n=9) са с едностранно мозъчно засягане.



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16

ИЗВОД:

Представените от нас пациенти със SWSc с типична презентация и комбинация от лицева ангиоматоза, контралатерален неврологичен дефицит – хемипареза, хемихипестезия, лицева и телесна хемихипотрофия, пирамидна симптоматика по хеми- или квадри тип, в съчетание с много висок процент епилепсия и интелектуално развитие. В нашата група липсват пациенти с очно засягане, както и със сигурни stroke-like епизоди, а с главоболите, предимно с мигреноподобен характер са n=3 деца, т.е. около 33%. Независимо от малка група от изследвани, и при нашите пациенти се потвърждават основни свързаности на симптоматика, а именно между двигателен, интелектуален дефицит и епилептични пристъпи. Поради малкия брой включени в тази група пациенти не може да се осъществи статистически анализ.

5. ДРУГИ, ПО-РЕДКИ ФАКОМАТОЗИ

В тази група са включени общо 9 пациента с данни за 4 много редки факоматози:

- Епидермален невусен синдром – 4 деца
- Хипомеланоза на Ito – 2 деца
- Синдром на Klippel-Trenaunay-Weber – 2 деца
- Incontinentia pigmenti – 1 дете

Включените в тази група пациенти са с изключително разнородна клинична картина – от само кожни прояви с козметичен характер до дълбока умствена изостаналост с фармакорезистентни епилептични пристъпи. Пациентите ще бъдат представени с основните данни от анамнеза, статус и проведени инструментални изследвания, след което данните ще се обобщят по основните за факоматозите симптоми като наличие и тип на кожно засягане; неврологична симптоматика – епилепсии, двигателен дефицит, интелектуално функциониране; невроизобразяване и др с оглед възможност на следващ етап да се сравнят с останалите групи заболявания, разгледани в предходните глави на настоящия труд.

5.1. ЕПИДЕРМАЛЕН НЕВУСЕН СИНДРОМ (ENS)

- Пациент на 13г. с ENS, с нормално НПР, без епилепсия, само с два епизода, оценени като ТИА. Момчето е с 3 лезии по типа на невус себацеус в ляво и срединно парието-окципитално по скалпа; хипотрихоза с алопеция в околната част на капилицуума; ефелиди около ляв устен ъгъл. Хипертрофия на лява черепна и лицева половина с вродена птоза, микроофталмия и липодермия в ляво. От неврологичния статус с изключение на амблиопия на недоразвитото ляво око останалия е в норма, без интелектуални нарушения. Проведена ЕЕГ с интерхемисферална асиметрия с бавновълнова активност в ляво с регионален максимум центро-парието-темпорално, без епилептиформена активност и МРТ с данни за хипопластична лява мозъчна хемисфера с микрокистозни и глиозни изменения.
- Момиче на 6 г., с ENS, с установени от раждането малформативни кожни, очни и скелетни промени (предимно в ляво). От ранна кърмаческа възраст е с тежко забавено психомоторно развитие, в следствие установен и дълбок интелектуален дефицит. От 4 мес. възраст получава епилептични пристъпи - инфантилни спазми при синдром на West с установена хипсаритмия в ЕЕГ. На 6 г. възраст е отчетена подутина с твърда консистенция в лява максиларна област, както и слузно-кръвенисти секрети от ипсилатералната ноздра с периодичен фебрилитет. Детето е с микроцефалия, лицева и телесна хемихипертрофия в ляво и с множествени невуси по лицето и тялото по хемии тип в ляво; микрофталмия с вродена фтиза в ляво око; дясно око – микрокорнея и липодермоид, атрофия на зрителния нерв. В лява максиларна област - оток с твърда консистенция периназално, без възпалителни промени в надлежщата кожа, но при КТ и МРТ данни за Ту формация в подлежащия максиларен синус. Установява се тежка генерализирана мускулна хипотония, квадрипирамиден синдром, повече в дясно; не задържа глава; не може да седи самостоятелно; няма опора на краката; Амавроза в ляво и тежка амблиопия в дясно око. КТ и МРТ на главен мозък с данни за атрофия на лява мозъчна хемисфера; микрофталмия в ляво и вкалцяване на левия очен нерв интраорбитално; окръглена туморна формация в левия максиларен синус с масивно маргинално вкалцяване.

- Момиче на 14г. с ENS, с нормално ранно развитие и гърчови прояви от кърмаческа възраст, обсъждан синдром на West, лекувана до 11месечна възраст. С много дълъг безпристъпен период до около 13г възраст, когато получила 2 ГТКП при EEG данни за ИГЕс ФПО, с нормално интелектуално развитие. Неврологичен статус също в норма. КТ в норма. С множество хиперкератозни и хиперпигментозни лезии по цялото тяло с ивицест характер по линиите на Blashko.
- Момче на 3г. 7мес. с ENS, с данни за умствено изоставане в сферата на умерената степен, без данни за епилепсия или двигателен дефицит. С епидермален невус по десен крак, гръб, корем, врат и лице. EEG и КТ на главен мозък в норма.

5.2. ХИПОМЕЛАНОЗА НА ИТО (HI)

- Момиче на 3г. възраст с линейрни зони на хипопигментации по десен крак, дясна глутеална област и дясна подмишница и ивицески такива по дясната половина на гърба, инфраскапуларно. Със закъсняващо двигателно развитие, но проходила към 1г. 10мес. с оскъдна реч, оценена с Умерено умствено изоставане. КТ на главен мозък – в норма. Проведено генетично изследване с установена **нова, неописвана досега в литературата мутация, потвърждаваща диагнозата Хипомеланоза на Ito46, XX, dup(15)(q11q13) –(15q11.2q13.3)–** дупликация на дълото рамо на 15та хромозома
- Адоптирано дете, на 15 г. възраст със закъсняващо двигателно и говорно развитие, с депигментации по кожата в дясна телесна половина при десностранна хемихипертрофия. Първи епилептичен гърч преди 2 г. възраст – фокален, нелекувана до 7 г. възраст, когато поставена диагноза „ГСК?“ и назначен Тегретол, но без ефект – персистират дневни и се явяват нощни фокални пристъпи с латерализация в леви крайници и лява лицева половина. На 12 г. възраст уточнена с Хипомеланоза на Itoв клиника по генетика. Лекувана с Ривотрил, топирамат, валпроат, габапентин, карбамазепин – с минимален ефект и кратки безпристъпни епизоди. От проведената МРТ с данни за хемимегаленцефалия вдясно. EEG също с десностранни бавновълнови и епилептиформани промени в дясно при амплитудна асиметрия. С умерена към тежка УИ.

5.3. СИНДРОМ НА KLIPPEL – TRENAUNAY- WEBER (КТВСИНДРОМ)

- Момиче на 11г. с установени от раждането множествени кожни хемангиоми по лице, тяло и крайници, лицева асиметрия с проминираща дясна буза и вдясно по гърба (кавернозни хемангиоми), десностранна хемихипертрофия, повече за крака. С два ГТКП на около 12 г възраст, провеждала лечение с валпроат. МРТ с данни за „смущения в развитието на лява ГМХ и ММХ от

конгенитален тип; хемимегаленцефалия вдясно и субкортикални хиперинтензни на FLAIR лезии в бялото вещество“. С обезитас, макроцефалия и изразена десностранна лицева и телесна хемихипертрофия. С множество обширни плоски капилярни хемангиоми в дясна лицева половина и по тялото (по дерматоми Th3-Th10 в дясно, Th12-L1 в ляво и отпред двустранно), плоски линеарни невуси и хиперпигментации по шията, хипертрихоза в лумбална области оценена като умерена УИ.

- Момиче на 12 г. с установени от раждането множество хемангиоми по цялото тяло, а към 5 г. възраст била с лицева асиметрия и отчетлива разлика в дължината на двата крака – ляв < десен, проведена оперативна корекция. Провеждани артерио- и флебография с противоречиви данни – отхвърлят, но по-късно потвърждават наличие на артерио-венозна аномалия на ляв крак. Консултирана и в клиника по генетика с потвърдена диагнозата. Детето е с по-голяма лява лицева половина, по-къс десен крак и по-голямо ляво стъпало, като и двете стъпала са с малформативни пръсти, липсват интелектуални нарушения или неврологичен дефицит.

5.4. *INCONTINENTIO PIGMENTI(IP)*

- Момиче на 6 г. възраст с установени от раждането неврокутанен синдром, с множествени невуси по ляв хемитип, алопеция, микрофталмия с фтиза за ляво око. С ранно и тежко изоставащо ННР, с тежка към дълбока умствена изостаналост и еретично поведение. От 4мес. възраст с изява на инфантилни спазми, налични и до 6г. и възраст. На 1г. възраст ЕЕГ с хипсаритмия, лекувана неефективно и с некорегирани за телото ниски дози ВПА. Микроцефална, ДЦП – смесена форма, симптоматичен West, КТ с данни за хипопластична и малформативна лява ГМХ. ЕЕГ – грубо абнормна, с двустранни огнищни епилептиформени промени.

ОБОБЩЕНИЕ на представените случаи с различни факоматози:

Представените случаи демонстрират клинични особености в посочените заболявания, като е налице отново известна вариабилност по отношение на клиничната картина. Кожните лезии са постоянен и задължителен белег и са налични в 100% или n=9 от изследваните в групата.

С епилептични пристъпи са 55,5% (n=5), като с лесно повлияване и редки пристъпи са 2, а при другите 3 е налице тежък и ранен епилептичен синдром с налична фармакорезистентност.

Само 3 от изследваните или 33,3% са с нормален интелект, докато при останалите 6 деца се отчита умерена (n=3), тежка (n=1) или дълбока (n=2) УИ, като едва 2 от децата са едновременно без епилепсия и без УИ, а само с клинична изява от кожни лезии. При 3 от децата не

се установява мозъчна патология от проведените невроизобразяващи изследвания, при едно липсват данни, а при останалите 5 деца е налице такава. Само при едно от тях обаче липсва както УИ, така и епилепсия. Едно от децата е с данни и за Ту формация с максиларна локализация.

Интересен факт е, че в трите групи с по повече от 1 пациент, а именно ENS, HI и КТW синдром има представители с разнообразна клиника, демонстриращи както възможно леко засягане – без епилепсия или УИ, така и с фармакорезистентни пристъпи и тежка/дълбока УИ. Това е поредно доказателство за изключително вариабилната клинична изява при факоматозите.

6. ОБСЪЖДАНЕ ЗА ИЗСЛЕДВАНИЯ ВЪРХУ ФАКОМАТОЗИТЕ С ИЗЯВА В ДЕТСКАТА ВЪЗРАСТ

6.1. Епидемиология и Унаследяемост

В изследваната от нас група пациенти с факоматози от общо 129 деца момчетата са $n=71$, а момчетата са $n=58$. В двете най-големи групи изследвани броят на момичета и момчета е почти равен и значително превалиране на момчетата при SWS и LBS. Липсват сигурни данни за превалиране на пола при разглежданите заболявания.

НФ и ТСК са заболявания с АД тип на унаследяване, поради което всеки засегнат индивид има 50% риск да предаде в поколението си патогенната мутация. LBS е заболяване с автозомно рецесивно унаследяване и с констатирано значително висока честота на здрави, хетерозиготни носители на патогенни мутации (Табл. 35). Останалите, включени в настоящия труд заболявания нямат фамилна характеристика, а се дължат на спонтанни мутации (с изключение на IP, при която са установени мутации в X-хромозомата, а момчетата с такива мутации обикновено загиват втърбутобно).

Табл. 35 Разпределение на пациентите по отношение установеното наличие на наследственост

ФАКОМАТОЗА	ФАМИЛНОСТ	СПОНТАННА МУТАЦИЯ	НЕЯСНА НАСЛЕДСТВЕНОСТ
Неврофиброматоза	21	19	-
Туберозна склероза	14	39	5
Синдром на Sturge-Weber	-	9	-
Синдром на Louis-Bar	3	10	-
Други	-	9	-

От данните е видна високата честота на фамилните случаи (52.5%) при НФ, което е свързано с по-благоприятния ход на това заболяване, по-ниската честота на епилепсия, умствено изоставане и тежка полиорганна патология, възможна при останалите. Оттук следва и извода, че репродуктивната възможност е по-малко засегната и особено при наличие само на кожна форма заболяването обичайно се приема като козметична особеност. Не така е при ТСК, при която също има значим процент наследствени случаи – 24,1%, но предвид значимо по-тежкия ход на заболяването, особено при TSC2 пациентите, възможността за реално създаване на поколение е по-ограничена, а второ поколение с ТСК е със значимо по-тежък фенотип, с изключение на единични случаи с TSC1 мутация, когато е възможно по-благоприятно протичане. С изключение на LBS, при който честотата на заболелите е доста по-малка, но пък с висок процент на хетерозиготно здраво носителство, при останалите включени в наблюдението ни заболявания липсват условия за фамилност и се касае предимно за спонтанни мутации.

6.2. Диагноза

Факоматозите са заболявания с мултиорганно засягане и често пъти поставят значителни диагностични трудности, особено при ненапълно представена клинична картина, особено в по-малката възраст. Независимо от голямата честота на налични кожни лезии при/скоро след раждането често пъти за поставяне/изключване на диагнозата е необходимо провеждането на редица изследвания, с оглед необходимостта на установяване на типични и характерни прояви при съответното заболяване. Това особено важи за провеждане на невроизобразяващи изследвания, поради наличие на характерна патология при повечето от заболяванията:

- КТ/МРТ със специфични при ТСК тубери, SEGA, RML, перивентрикулни и/или интрацеребрални калцификати
- МРТ със специфични за детската възраст NBOs при НФ,
- КТ/МРТ с типични данни за мозъчна хемиатрофия и наличие на калцификати при SWS;
- КТ/МРТ с данни за малкомозъчна атрофия с честа прогресия във времето при LBS
- МРТ на абдомент, с акцент върху бъбреци при пациентите с Туберозна склероза

Провеждане на генетично изследване с оглед верификация на диагнозата е винаги желателно, но поради високата цена не всички пациенти могат да бъдат изследвани. Наличието на генетично установена конкретна патогенна мутация дава възможност за последваща пренатална диагностика. Провеждане на ЕЕГ при данни за пристъпи, както и психологична оценка са също от особено значение.

6.3. Интелектуално функциониране (Фиг. 17 и Фиг. 18)

От изследвания контингент болни:

- Пациентите с **ТСК** показват **най-значителни и тежки интелектуални отклонения** – **72,4%**, като 10 от децата са и с поведение с аутистични елементи. 27,6% са в норма.
- 77,5% от децата с **НФ** са с нормален интелект, а при 22,5% се отчитат нарушения, но предимно от сферата на лека УИ/само 1 дете с данни за аутизъм/.
- Пациентите със **синдром на Louis-Barca** с нарушение в интелекта в 84,6%, но то е предимно в сферата на лекостепенното умствено изоставане към момента на изследване. Предвид прогресиращия, невродегенеративен ход на заболяването е възможно част от пациентите към по-късна визраст да са с по-значимо изоставане.
- Пациентите със **синдром на Sturge-Weberca** с нарушение в интелекта в 77,8%, предимно в сферата на умерено умствено изоставане.
- Пациентка с **Incontinentia pigmentii** един от пациентите с **ENS** са с данни за дълбока УИ, каквато не се установява при нито едно от останалите заболявания, с изключение на също 2 деца с **TSC**.



Фиг. 17 Честота на интелектуалния дефицит при различните факоматози



Фиг.18 Тежест на интелектуалния дефицит при различните факоматози

6.4. Епилептичен синдром(ЕС)

6.4.1. Наличие на ЕС

От контингента изследвани болни:

- С епилептични пристъпи са 82 деца/ 64%
- Без епилептични пристъпи са 47 деца/ 36%



Фиг.19. Честота на епилептичния синдром при различните факоматози

Сравняваните групи се различават съществено по броя на пациенти във всяка една от тях, поради което сравняване на числовата стойност не е достатъчно обективно. Най-висока е честотата на епилепсия при пациентите пациентите със SWS, при които 9 от общо 9 деца са с данни за пристъпи т.е. имаме 100% честота на епилепсия.

На второ място са пациентите с TSC – 55 от общо 58 изследвани деца т.е. 94,8% от нашия контингент е с данни за епилепсия.

При 5 от общо 9 деца (55,5%) с данни за по-редки факоматози (ENS, IP, HI, KTW) също се установява епилепсия.

При 27,5% (11от 40) от децата с НФ 1 има епилептичен синдром, а най-ниска е честотата на епилепсия при децата с LBS, като само 2 от общо 13деца – около 15,4%(Фиг.19)

6.4.2. Възраст на пациентите при дебюта на ЕС



Фиг. 20 Честота на епилептичните пристъпи преди 2г възраст

Пациентите с TCS са с най-висока честота на изява на пристъпи до 2год възраст – 41 деца от общо 55 с ЕС или 74,5%. На второ място са децата с SWS, като при 5 от общо 9 с ЕС пристъпите са се изявили преди 2-год възраст - 55,5%. При децата с НФ процента на ранни епилептични пристъпи е 45,4% или 5 от общо 11деца. Стойностите при останалите заболявания са отразени на **Фиг. 20** , като при тях независимо от голямата стойност на % съотношение реално се обхващат единични пациенти. TСК и SWSдвете факоматози, отличаващи се и с по-висок процент фармакорезистентност.

От изследвания контингент болни:

- **94,8% от пациентите с TСК** са с епилептичен синдром (n=55), в 74,5% с начало преди 2 год възраст (n=41деца), с най-висока честота на синдром на Уест (n=17) и висока честота на фармакорезистентност – 58,2% (n=32).
- **27,5% от Пациентите с НФ 1** са с епилепсия /ГТКП, Фокални с вторична генерализация/. Пристъпите са с начало в детска/ юношеска възраст, няма деца с Уест с-м или друга тежка епилептична енцефалопатия. Пристъпите са обичайно редки и с лесно повлияване от терапия, но и тук има деца с фармакорезистентност.
- **100% от изследваните в нашата група със с-м на Sturge-Weber(n=9)** са с епилептичен с-м: 5 от тях (55,5%) са с изява преди, а другите 4 деца (45,5%) – след 2год възраст; пристъпите са фокални

с вторична генерализация, при почти всички деца често с флукуиращ ход, но и тук с над 50% фармакорезистентност;

- **Със значима вариабилност** е епилептичния синдром в групата, обединяваща пациентите с ENS, HI, IP KTWS – 3 от общо 9-те деца са с начален синдром на West.е. с тежка епилептична енцефалопатия и значим когнитивен дефицит, в противоположност на други 4, при които изобщо няма епилепсия и са с предимно нормален интелект (n=3).

6.5. Туморогенеза

При пациентите с неврокутанни синдроми склонността към туморообразуване е значително по-висока поради общия патогенетичен механизъм на дисрегулация между процесите на туморогенеза и тумороинхибиция. Наблюдват се специфични за отделните заболявания, предимно доброкачествени по хистология тумори, с различен подход при всеки от тях и в зависимост от наличието или не на клинична изява.

6.5.1. Тумори при ТСК

При заболяването се наблюдават разнообразни по вид тумори – рабдомиоми, SEGA, AML. Установени са някои възрастови и полови зависимости при изявата им, както връзка с гена, чиято мутация причинява заболяването.

От нашия контингент от 58 деца с ТСК при общо 14 деца (около 24%) са установени сърдечни рабдомиоми пренатално или още в първите дни след раждането. Всички те се контролират ежегодно от детски кардиолог. Също при 14 деца (около 24%) са с МРТ данни за SEGA, а при 15 деца (почти 26%) - има установени бъбречни AML.

Интерес представляват 7 от изследваните деца (около 12%) поради данни за 3 вида тумори – SEGA, AML и сърдечни рабдомиоми. При други 8 (13,8%) деца има данни за наличие на два вида тумори в различни комбинации.

6.5.2. Тумори при НФ-1

След типичните хиперпигментни cafe-au-lait петна най-честите прояви на заболяването са кожните тумори – неврофиброми и плексиформени неврофиброми, налични при почти всички пациенти в по-големите възрастови групи. При деца доминират хиперпигментациите при 100% от нашите пациенти, а кожни неврофиброми се установяват при 9 от тях (около 22,5%), като при 3 от тях са налице гръбначномозъчни плексиформени неврофиброми, ангажиращи коренчета на няколко нива и причиняващи сколиоза. При останалите деца тяхната изява е вероятна в по-голямата възраст и те се проследяват.

С голяма честота при децата с НФ са глиомите на оптичния нерв. Могат да бъдат едностранни или двустранни и най-често се явяват до към 6-7годишна възраст, като също имат известна склонност да инволuirат. От изследваните деца МРТ-данни за глиоми на оптичните нерви има при 12 деца (около 30%), като при две от тях те са двустранни.

При 10 от децата се установиха други тумори в областта на главата, като при 9 от тях - интракраниални тумори (1 с пилоцитарен астроцитом и два с неизвестна хистология, но с макроскопска характеристика на глиоми), а при едно дете – окципитално разположен подкожен миксом.

ОБОБЩЕНИЕ

Всичко гореизложено потвърждава данните за клиничната вариабилност на факоматозите, като с подчертано изразен, тежък фенотип са предимно пациентите с ТСК – с голяма честота на епилепсията – с ранни, полиморфни пристъпи, най-честа причина за симптоматичен синдром на West, значима фармакорезистентност. Отчита се и най-висока честота на значим интелектуален дефицит – умерен, тежък, дълбок, както и висока честота на аутизъм -17,2% (n=10). Съществен е и % на различни Ту формации, които се установяват при заболяването – по 24% за сърдечните рабдомиоми и SEGАи малко по-висок процент за АМL като всеки един от тях може да бъде потенциално застрашаващ живота, независимо от бенигния им хистологичен характер. Особено неблагоприятна е ситуацията при наличие на 2, а при някои пациенти и на 3 Ту формации. Необходимо е познаване и редовно проследяване в зависимост от симптоматиката към момента на изследване на пациентите, предвид изменчивостта и в различните възрастови групи. Лечението е симптоматично – АК при наличие на епилепсия, Еверолimus при данни за SEGАи АМL, психолог, психиатър и др.

SWSe също факоматоза с висока честота на епилептичния синдром и значима фармакорезистентност, както и значим когнитивен дефицит, съчетан в над 77% (n=7) и с двигателен такъв, най-често хемипареза или асиметричен квадрипаретичен синдром, със сериозна прогноза поради тежестта на епилептичния синдром, интелектуалния и двигателен дефицит, както и характерните stroke-like епизоди, водещи често до прогресия на заболяването. Лечението е симптоматично с АК.

При NF1 честотата на ранната, тежка и/или фармакорезистентна епилепсия, както и значим интелектуален дефицит са представени в доста по-малко съотношение, спрямо останалите синдроми и заболяването се възприема като такова с „по-доброкачествен ход“ и по-благоприятна дългосрочна прогноза, освен в случаите с данни за Ту формации, с оглед както възможните зрителни нарушения (при оптични глיוми), но най-много при интракраниална локализация и на хистологично доброкачествени туморни формации.

Синдромът на Louis-Vagne се свързва с кожни лезии, но има характерно очно засягане и прогресиращ и значително инвалидизиращ ход, при нерядко привидно нормално ранно развитие. Прогнозата се определя от значимия имунен дефицит и често и по-тежко боледуване, но също така и от завишената честота и склонност за неоплазии – най-често левкемии, лимфоми и млечна жлеза. Епилепсията тук не е характерен симптом, но прогресиращият двигателен и интелектуален дефицит, кореспондиращи с напредващата церебеларна атрофия влошават съществено качеството на живот.

ИЗВОДИ

1. Неврокутанните синдроми са голяма група от заболявания, при които въпреки патогенетично обусловените общи механизми на засягане на кожа, ЦНС, очи и често пъти допълнително вътрешни органи, се характеризира с изключително многообразие по отношение тежестта на протичане при отделните пациенти.
2. До момента не са провеждани системни, комплексни проучвания в България за факоматозите - клиничните прояви, дебют, еволюция, проследяване, диагностициране чрез клинични, генетични, лабораторни, образни изследвания и генотип-фенотипните корелации, лечение.
3. От изследвания контингент пациенти с най-тежко засягане са тези с Туберозна склероза - с най-висока честота на ранна изява на епилептични пристъпи, персистиране на пристъпите, често с фармакорезистентност, както и със значителен интелектуален дефицит. Пациентите със SWS са също с данни за висок относителен дял на епилептични пристъпи и със значим двигателен дефицит, а тези със синдром на Louis-Barr често с прогресиращ влошаване на интелект и двигателни умания, при възможно и често изходно нормален статус.
4. Отчитат се данни, сходни на представените до момента в литературата за относително по-благоприятен ход на ТСК при пациенти с мутация в TSC1 гена, респ. по-тежък фенотип при пациенти с TSC2 мутация.
5. При почти всички пациенти с ТСК, които са с данни за засегнат родител е налице значително по-тежко протичане при детето спрямо родителя – антиипсипация.
6. Групата с пациенти с НФ се отличава с по-доброкачествен ход на заболяването, по отношение на по-рядка изява на епилептичен синдром и значително по-леко интелектуално засягане.
7. Високата честота и разнообразието от различни хамартоми /макар и повечето от тях с доброкачествен хистологичен тип/ потвърждава склонността към туморогенеза, поради нарушена регулация на растеж и диференциация и липса на ефективно тумороподтискане (TSC, NF1, LBS)
8. При 85,7% от децата с НФ и с проведено МРТ се установяват специфичните за детска възраст неврофиброматозни светли обекти (NBOs). Тези лезии не са включени в диагностичните критерии, но са от особена полза и важност поради възможността да се верифицира диагнозата и поради риска от малигена трансформация.
9. При 10-те деца с ТСК, провеждащи специфично лечение с Еверолимус е отчетен ефект по отношение намаляване размерите на SEGА, както и бъбречните ангиомиолипомни.

ПРИНОСИ

1. За първи път в България е осъщественоподробно комплексно изследване на най-често срещаните факоматози и са проучени генотип-фенотипни корелациите при тях.
2. Проучена е вариабилността в клиничното протичане на изследваните факоматози и е проведен сравнителен анализ между тях по отношение на степента на изоставане в умственото развитие, честотата и фармакорезистентността на епилептичните синдроми и туморогенеза.
3. Описани са осем нови мутации за първи път в света, публикувани в списания с ImpactFactor
 - **4 нови мутации в TSC2 гена**
 - **2 нови мутации в TSC1 гена**
 - **1 нова мутация в NF1 гена**
 - **1 нова мутация при пациент с Хипомеланоза на Ito**
4. Проучен е невропсихологичният профил на децата с факоматози, като най-значими и с най-голяма честота интелектуални нарушения се установяват при туберозната склероза комплекс и те корелират с броя и локализацията на туберите и наличието на ранен и терапевтично-резистентен епилептичен синдром.
5. Разработен е молекулно-генетични подход за идентификация на патологични варианти в *NF1*, *TSC2* и *TSC1* гените с цел за генетично верифициране на пациенти с Неврофиброматоза тип 1 и Комплекс туберозна склероза

ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Публикации в списания

1. **Колева М.**, В.Божина. Неврофиброматозни светли обекти при деца с неврофиброматоза- еволюция на промените. Представяне на клиничен случай. Педиатрия, 2015: 55 (2), 37-42.
2. **Колева, М.**, В.Божина, Н.Топалов. МРТ-лезии и неврофиброматозни светли обекти (NBO) при деца с неврофиброматоза тип 1. Педиатрия 2016, 56 (4), 45-47
3. **Колева М.**, В. Божина, А. Савов. Случай на Атаксия-телеангиектазия у 5-годишно момиче с не-Ходжкинов лимфом. Педиатрия 2017, 57(1), 54-57
4. **Колева М.**, В.Божина, Д.Денева, А.Асенова, Н.Топалов. Комплексът туберозна склероза – клинична характеристика, диагностициране и лечение. Педиатрия 2017, 57(2), 35-40
5. **Колева М.**, В.Божина. Неврофиброматоза тип 1 – клинична характеристика, диагностициране и лечение. Педиатрия 2017, 57(3), 12-15
6. **Колева М.**, В.Божина. Sturge-Webersyndrome – клинична характеристика, диагноза и лечение. Педиатрия 2017, 57(3), 16-20
7. **Колева М.**, В. Божина, Е.Славкова, Е. Родопска, П. Илиева, Д. Богданова, Н.Топалов, И.Миланов, М.Глушкова, Т.Тодоров, А.Тодорова, В.Митев. Представяне на фамилен, клинично и генетично верифициран случай на неврофиброматоза тип 1 с установена нова мутация. Българска неврология, 2017, 18(2), 170-178
8. Glushkova M, Yordanova I, Todorov T, Bojinova V, **Koleva M**, Dimova P, Turnev I, Angelova L, Todorova A, Mitev V. Three novel NF1 gene mutations in a cohort of Bulgaria neurofibromatosis patients. Russian Journal of Genetics. 2018, Vol 54, 1, 110-116 – **IMPACT F 2016 – 0.550**
9. Maria Glushkova, MSc; Veneta Bojinova; **Maya Koleva**; Petia Dimova; Maria Bojidarova; Ivan Litvinenko; Tihomir Todorov; Dana Craiu; Vanyo Mitev; Albena Todorova. Molecular-genetic diagnostics of Tuberous sclerosis complex (TSC) in Bulgaria: six novel mutations in the TSC1 and TSC2 genes. Journal of Genetics. 2018, Vol.97, 2, 419-427 – **ИМАСТ 2016 – 0.995**
10. **М. Колева**, В. Божина, Д. Денева, М. Глушкова, Т. Тодоров, А. Тодорова, П. Димова, Е. Славкова, И. Александрова, Е. Родопска,

А.Асенова, В. Томов, Н. Топалов. Генотип-фенотипни корелации при български пациенти с туберозна склероза. Българска неврология. 2019, 19, 3, 105-110

11. M.Mladenova, **M. Koleva**, E.Rodopska, I. Alexandrova, V. Bojinova, D. Plaseska-Karanfilska, G. Bozinovski, A. Todorova, V. Mitev. Hypomelanosis of Ito and De novo Interstitial 15q11.2q13.3 triplication in Bulgarian Family. Journal of Clinical & Medical Genomics. 2019, vol.7, issue 1 – Impact 1.85

Научни съобщения

Постери и орални презентации

1. **Колева М.**, Божинова В, Топалов Н, Шокова А. Представяне на случай с неврофиброматоза с редки множествени увреждания на ЦНС и ПНС. Българска неврология 2015; 16, 1, Супл. 1, 94-95.
2. **Колева, М.**, В.Божинова, Н.Топалов. МРТ-лезии и неврофиброматозни светли обекти (NBO) при деца с неврофиброматоза тип 1. Българска неврология 2016, 17, Супл.1, 94.
3. **Колева, М.**, В.Божинова, Н.Топалов.МРТ-лезии и неврофиброматозни светли обекти(NBO) при деца с неврофиброматоза тип 1. Национална конференция по неврология, психиатрия и психология на развитието, София Парк хотел Москва, 20-22.10.2016 . Резюме,та, 80
4. **Колева, М.**, В.Божинова. Невропсихиатрични разстройства при български пациенти с туберозна склероза. XVIнационален конгрес по неврология с международно участие. Българска неврология 2017, 18, 1, Супл.1, 91.
5. **Колева, М.**, В.Божинова. Епилептични синдроми при български пациенти с туберозна склероза. XVIнационален конгрес по неврология с международно участие. Българска неврология 2017, 18, 1, Супл.1, 93.
6. Glushkova M, Bojinova V, **Koleva M**, Dimova P, Bojidarova M, Litvinenko I, Todorov T, Mitev V, Tododrova A. Genetically verified tuberous sclerosis complex (TSC) in a cohort of fifteen Bulgarian families. 12th Balkan congress of human Genetic. September 8-10, 2017, Plovdiv, Bulgaria. Session 8-II, Hall Plovdiv 1. **Oral presentation**
7. **Колева, М.**, В. Божинова, Д. Денева, М. Глушкова, Т. Тодоров. Генотип-фенотипен анализ на български пациенти с Туберозна склероза. Българска Неврология, 2018, 19, 2, 57.

8. **Божинова, В., М. Колева.** Туберозна склероза и неврофиброматоза – клинична характеристика, диагностициране и лечение. XIX^{та} Национална Конференция за ОПЛ и педиатри с международно участие. Слънчев бряг, 18-20.05.2018г, VI^{та} сесия. Програма резюмета. Страница 33. **Орална презентация**
9. **Колева, М.,** Божинова, В., Александрова, И. Субependимни гигантоклетъчни астроцитомии при Туберозна склероза. IX^{та} национална конференция за редки болести и лекарства сираци. Пловдив, 31.08-01.09.2018г, научна сесия V. **Орална презентация.**
10. **Колева, М.,** Божинова, В. Клинико-генетични корелации при някои по-чести факоматози. XIV национален конгрес по педиатрия с международно участие. Боровец, 27-30.09.2018г. **Орална презентация.**
11. Тихомир Тодоров, М. Глушкова, В. Божинова, **М. Колева,** П. Димова, М. Божидарова, И. Литвиненко, И.Търнев, А.Тодорова. Системен ход за молекулно-генетична диагностика при пациенти с диагноза комплекс туберозна склероза в България.Национална конференция по неврология, психиатрия и психология на развитието, София Парк хотел Москва, 11-12.10.2018 . Резюмета, 51. **Орална презентация.**
12. **Мая Колева,** В. Божинова, Д. Денева, М. Глушкова, Т. Тодоров, А. Тодорова, Е. Славкова, И. Александрова, Е. Родопска, А. Асенова, В.Томов, Н.Топалов. Генотип-фенотипни корелации при българските пациенти с туберозна склероза.Национална конференция по неврология, психиатрия и психология на развитието, София Парк хотел Москва, 11-12.10.2018 . Резюмета, 52. **Орална презентация.**
13. **Мая Колева,** В. Божинова, Д. Денева, М. Глушкова, Т. Тодоров, А. Тодорова, Е. Славкова, И. Александрова, Е. Родопска, А. Асенова, В.Томов, Н.Топалов. Неврофиброматозатип I клинична характеристика и генетични изследвания при български пациенти. Национална конференция по неврология, психиатрия и психология на развитието, София Парк хотел Москва, 11-12.10.2018 . Резюмета, 99. **Орална презентация.**
14. **Мая Колева,** В. Божинова, Е. Славкова, Е. Родопска, П. Илиева, Д. Богданова, Н. Топалов, И. Миланов, М. Глушкова, Т. Тодоров, А. Тодорова, В. Митев. Представяне на фамилен, клинично и генетично верифициран случай на неврофиброматоза тип I с установена нова мутация. Национална конференция по неврология, психиатрия и психология на развитието, София Парк хотел Москва, 11-12.10.2018 . Резюмета, 123.
15. **Колева М.,** Глушкова М., Денева Д., Александрова И., Тодоров Т., Тодорова А., Божинова В. Туберозна склероза - клинични, генетични изследвания и резултати от патогенетичното лечение.

Научно-практическа конференция „Ден на редките болести в България“ 28-29.02.2020г София – **Орална презентация**

- 16. М. Колева, М. Младенова, Е. Родопска, И. Александрова, Т. Тодоров, А. Тодорова, В. Божинова.** Генетично верифициран случай на дете с Хипомеланоза на Ito с установена неописвана досега мутация. Научно-практическа конференция „Ден на редките болести в България“ 28-29.02.2020 г. София – **Орална презентация**

SUMMARY

Neurocutaneous syndromes (also called phacomatosis) are a large group of rare, inherited diseases associated with a developmental disorder of the germinative neural plate. They are characterized by significant clinical and genetic variability, multi-organ involvement and increased propensity to tumorigenesis in many organs. It typically affects structures belonging to the ectoderm - skin, nervous system, eyes. Clinical symptoms include skin lesions typical of each disease, epileptic seizures, and often intellectual disorders. Lungs, liver, heart, etc. can also be affected. This group contains more than 70 diseases, the most common of which - tuberous sclerosis, neurofibromatosis type 1, Sturge-Weber syndrome, Louis-Bar syndrome are included in the present study.

The aim of the study is to analyze the frequency, clinical manifestations, characteristic evolution, diagnostic and therapeutic approaches and opportunities in children with the most common phacomatosis in Bulgaria.

Material and methods: The study covered a clinical contingent of 129 patients with various neurocutaneous syndromes: Children diagnosed with Tuberous Sclerosis (n = 58), Children diagnosed with Neurofibromatosis (n = 40), Children diagnosed with Louis-Bar Syndrome (n = 13), Children diagnosed with Sturge-Weber Syndrome (n = 9), Other, less common phacomatosis - a group of 9 children, of which: children with Epidermal Nevus Syndrome (n = 4), children with Klippel-Trenaunay -weber syndrome (n = 2), children with Ito hypomelanosis (n = 2) and children with Incontinentia pigmenti - (n = 1)

Results: In the studied group of patients we have data on family history in 37 of the children. Genetic tests have performed 15 of NF, 30 of TSC, 5 of LBS and 1 of HI. Between 70 and 80% of patients in all groups had intellectual disabilities, with the exception of NF1. Epileptic seizures were found in 100% of CBS, 94.8% of TSC, 55% of the group with rarer phacomatosis and only 27.5% of NF 1. The distribution of patients is similar in terms of early manifestation and pharmacoresistance of epileptic syndrome. Patients with TSC are most affected by the presence of additional tumor formations, with 13.8% having evidence of tumors involving 2 areas and 12% having the presence of 3 types of tumors. Of the patients with NF 1, 30% have evidence of optic gliomas, and only 4 of them have more than 2 types of tumors.

All the above confirms the data on the clinical variability of phacomatosis, with a pronounced, severe phenotype are mainly patients with TSC - with a high incidence of epilepsy - with early, polymorphic seizures, the most common cause of symptomatic West syndrome, significant pharmacoresistance. The highest frequency of significant intellectual disabilities is reported - moderate, severe or deep, as well as a high incidence of autism -17.2% (n = 10). There is also a significant high percentage of

different TU formations that are found in the disease - 24% for cardiac rhabdomyomas and SEGA and a slightly higher percentage for AML, each of which can be potentially life-threatening, regardless of their benign histological nature. The prognosis is significantly more severe in the presence of 2, and in some patients of 3 Tu formations. It is necessary to know and regularly monitor depending on the symptoms at the time of examination of patients, given the variability in different age groups. The treatment is symptomatic – anticonvulsants in the presence of epilepsy, Everolimus with data on SEGA and AML, psychologist, psychiatrist and others.

SWS is also a phacomatosis with a high incidence of epileptic syndrome and significant pharmacoresistance, as well as significant cognitive impairment, combined in over 77% (n = 7) with motor deficit, most often hemiparesis or asymmetric quadriparetic syndrome, with more pronounced paresis in contralateral to the brain injury extremities. The prognosis is always serious and is determined by the severity of the epileptic syndrome, intellectual and motor deficits, and the characteristic stroke-like episodes, often leading to progressive neurological deficits. Treatment is symptomatic with anticonvulsants.

In NF1, the incidence of early, severe and / or drug-resistant epilepsy, as well as significant intellectual disabilities, are presented in a much smaller proportion than other syndromes and the disease is perceived as having a “better course” and a more favorable long-term prognosis. Except in the case of data on Tu formations, in view of both possible visual disturbances (in optic gliomas), but mostly in intracranial localization and of histologically benign tumor formations.

Louis-Bar syndrome is not associated with skin lesions, but has characteristic ocular involvement and a progressive and significantly disabling course, often with seemingly normal early development. The prognosis is determined by a significant immune deficiency and often more severe disease, but also by the increased frequency and susceptibility to neoplasms - most often leukemias, lymphomas and mammary glands. Epilepsy is not a characteristic symptom here, but progressive motor and intellectual deficits corresponding to progressive cerebellar atrophy significantly impair quality of life.