

8. Grossi, S., Regis, S., Biancheri R. et al. Molecular genetic analysis of the PLP1 gene in 38 families with PLP1-related disorders: Identification and functional characterization of 11 novel PLP1 mutations. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2011, 6, 40-53
9. Jefferson, R.J., Asound, M., Rakeshjain, R., Livingston, J.H., Van der Knaap, M.S., Jayawant S. Alexander disease with periventricular calcification: a novel mutation of the GFAP gene. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2010, 52, 1160-1163
10. Kohlschutter, A., Eichler F. Childhood leukodystrophies: a clinical perspective. *Expert Rev. Neurother.* 2011, 11, 10, 1485-1496.
11. Labauge P. Magnetic Resonance Findings in Leucodystrophies and MS. *The International MS Journal* 2009, 16, 47-56.
12. Menkes, J.H., Wilcox, W.R. Inherited Metabolic diseases of the nervous system. In: *Child neurology*. Menkes, J.H., Sarnat, H.B., Maria B.L., eds. Seventh ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 29-142.
13. Takanashi, J., Sugita, K., Tanabe Y. et al. MR-revealed myelination in the cerebral corticospinal tract as a marker for Pelizaeus-Merzbacher's disease with proteolipid protein gene duplication. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999, 20, 1822.
14. Van der Knaap, M.S., van der Voorn, P., Barkov F et al. A new leucoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high lactate. *Ann.Neurol.* 2003, 53, 252-258.
15. Vanhanen S.L. Neuroradiological findings (MRS, MRI, SPECT) in infantile neuronal ceroid-lipofuscinosis (infantile CLN1) at different stages of the disease. *Neuropediatrics.* 2004, 35, 27 – 35.

Адрес за кореспонденция:

д-р Мая Колева, Клиника по нервни болести за деца, УМБАЛНП „Св.Наум“, София 1113, ул. „Д-р А.Русев“1, e-mail: maya_m_koleva@abv.bg

Address for correspondence:

Dr. Maya Koleva, Clinic of child neurology, UMHATNP „St. Naum“, 1113 Sofia, 1 „Luben Roussev“ str., e-mail: maya_m_koleva@abv.bg

ГЕНЕТИЧНО ВЕРИФИЦИРАН СЛУЧАЙ НА НЕВРОНАЛНА ЦЕРОИДЛИПОФУСЦИНОЗА С НОВА МУТАЦИЯ В CLN 6 ГЕНА

М. Колева¹, В. Божинова^{1,4}, Н. Иванова², К. Михова², Р. Кънева², И. Търнев^{3,4}

¹ Клиника по нервни болести за деца, УМБАЛНП „Св. Наум“ София

² Център по молекулярна медицина, София

³ УМБАЛ „Александровска“, София

⁴ Медицински университет, София

GENETICALLY-VERIFIED CASE OF NEURONAL CEROIDLIPOFUSCINOSIS WITH A NOVEL MUTATION IN CLN 6 GENE

M. Koleva¹, V. Bojinova^{1,4}, N. Ivanova², K. Mihova², R. Kaneva²,
I. Tarnev^{3,4}

¹ Clinic of child neurology, University multiprofile hospital of neurology and psychiatry "St. Naum", Sofia

² Molecular Medicine Center, Sofia

³ UMHAT "Alexandrovska", Sofia

⁴ Medical University, Sofia

ABSTRACT

Neuronal ceroidlipofuscinoses also called Batten disease (NCLs) also known as Batten disease, are a heterogeneous group of common inherited neurodegenerative diseases beginning at different times of the childhood and, more rarely, in adults. To date, 14 genetically different variants have been described, characterized primarily by progressive mental retardation, motor and visual loss, beginning with childhood or adolescence. They are due to the accumulation of autofluorescence, electron-dense granules of the lipo-peptides of ceroid and

lipofuscin in the lysosomes of the neurons, leading to their death or respiration. to the loss of neurons in the brain and retina. Depending on the age of appearance, they are generally divided into infantile, late infantile, juvenile and forms in adults. Some authors separate as an autonomous congenital form as well as a Northern epileptic variant. There is, however, genetic and allelic heterogeneity, and a new nomenclature and classification system has been developed and proposed to take into account the responsible gene and age at initiation of the disease.

We present a child with genetically verified neuronal ceroidlipofuscinosis with a novel mutation in the CLN6 gene and with a characteristic course of the disease corresponding phenotypically to a late infantile form.

KEY WORDS: Neuronal ceroidlipofuscinoses, Batten disease, NCL6, CLN6 gene, neurodegenerative disorders, late infantile form

РЕЗЮМЕ

Невроналните цериодни липофусцинози, носещи сборно наименование Болест на Batten (NCLs) представляват хетерогенна група често срещани наследствени неврогенеративни заболявания с начало в различни периоди на детската възраст и по-рядко у възрастни. До момента

са описани 14 генетично различни варианта, които се характеризират предимно с прогресивно умствено изоставане, двигателни и зрителни нарушения с начало в детска или юношеска възраст. Дължат се на натрупване на автофлуоресцентни, електронно-плътни гранули от липо-пигментите цероид и липофусцин в лизозомите на невроните, което води до тяхното загиване респ. до загуба на неврони в мозъка и ретината. В зависимост от възрастта на изявата се разделят най-общо на инфантилни, късни инфантилни, ювенилни и форми у възрастните. Някои автори отделят като самостоятелна конгенитална форма, както и Северен епилептичен вариант. Има обаче генетична и аелна хетерогенност поради което е разработена и предложена нова номенклатура и система за класификация, за да се вземат предвид отговорният ген и възрастта при започване на заболяването.

Представяме наше наблюдение на дете с генетично верифицирана невронална цероидлипофусциноза с установена нова мутация в CLN6 гена и с характерен ход на заболяването, съответстващ фенотипно на късна инфантилна форма.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: невронални цероидлипофусцинози, болест на Batten, NCL6, CLN6 ген, невродегенеративни заболявания, късна инфантилна форма

ВЪВЕДЕНИЕ:

Невроналните цероидни липофусцинози (NCLs), известни също като болест на Batten, са група от невродегенеративни нарушения. Те са едни от най-честите неврогенетичните заболявания, с честота на разпространение от 1/12 500 при някои популации (2) до 1/67 000 при други (8). Клиничната изява при тези заболявания е вариативна, но сравнително сходна – наблюдават се различни по тежест и изява комбинации на прогресивни симптоми, свързани с двигателни нарушения, гърчове, деменция, загуба на зрението и / или мозъчна атрофия. Според фенотипната си изява невроналните цероидлипофусцинози се разделят най-общо на инфантилна CLN 1 (около 11%), късна инфантилна CLN 2 (около 36%), ювенилна CLN 3 (около 51%) и форма на възрастни CLN 4 (около 1%), като всяка от тях съдържа подтипове с генетична и аелна хетерогенност (1). Освен тези форми някои автори отделят още конгенитална форма и Северен епилептичен вариант (8). NCLs имат обща патоморфологична характеристика - характерни автофлуоресцентни натрупвания на пигментирани липиди цероид и липофусцин в лизозомите на невроните, което води до тяхната гибел. Предават се АР с начало в детството и рядко АД при възрастните.

Първоначално класифицирани според възрастта на появата на клиничните признаци и симптоми, както и по ултраструктурната морфология на натрупаните продукти, нарастващото семейство на NCLs сега може да бъде биологично класифицирано по техните основни генетични дефекти. Изяснени са 14 гена и над 360 мутации, свързани с различните форми (CLN1-CLN14) (4, 5). За няколко NCLs са известни функциите на протеините, кодирани от CLN гените, което е позволило прецизиране на диагностичните алгоритми и надежди за намиране на ефективни лечения в бъдеще. Продължаващите проучва-

ния за разбиране на функциите на останалата част от NCL протеините, както и непрекъснатият напредък в технологиите (като масово-паралелно секвениране на гени) има и ще продължи да информира клиничния подход, диагностичните алгоритми и стратегиите за лечение (8).

Типичната *клинична картина в детска възраст* при тези заболявания се определя най-общо от (8):

1. Прогресивната невронна загуба;
2. Натрупване в цитоплазмата на невроните и други клетки на липофусцин-подобни автофлуоресцентни продукти, който има характерен ултраструктурен вид;
3. Клинични признаци и симптоми, включително прогресивна загуба на зрението, миоклонични припадъци, когнитивни нарушения, пирамидни и екстрапирамидни нарушения, атаксия и ранна смърт.

При пациентите с *адултни форми водещи са проявите на деменция*.

Първите описания на ювенилната форма на NCL датират още от 1826 г., когато Otto Christian Stengel описва пациенти в норвежко списание. Биохимичният характер на продуктите, акумулиращи се като патологични автофлуоресцентни натрупвания започва да се разбира в края на 80-те години на миналия век, а първите геномни дефекти, причиняващи NCL, са идентифицирани през 1995 г. с верифициране на мутации в първия ген CLN 1, отговорен за синтеза на палмитоил протеин тиоестераза 1 (PPT1). Впоследствие е изяснено, че мутациите в CLN 1 могат да причинят както инфантилна, така и ювенилна форма на изява (8). Оттогава благодарение на все по-бързо развиващите се генетични технологии и най-вече на NGS метода, стана възможно уточняването и на редица други гени, отговорни за различните форми на NCLs.

Ранната инфантилна форма на Santavuori - Haltia (NCL 1 или PPT1- свързана NCL) (1) е с АР предаване, дефект в гена PPT1 в 1p32, дефицит на лизозомната протеаза палмитоил - протеин - тиоестераза 1 и честота 1/20 000 население. Началото е между 6 месечна и 2 годишна възраст. Последователно се развиват регрес на психомоторните умения, аутистично поведение, прогресираща атаксия, хипотония, миоклонии, слепота поради ретинални промени и атрофия на п. opticus, спастична квадруплегия и вторична микроцефалия. Заболяването прогресира бързо и завършва с летален изход около 4 г. възраст.

Късната инфантилна форма на Jansky - Bielschowsky (1) е генетично хетерогенна група невронални цероид - липофусцинози с АР предаване. Най-честа или класическа е NCL2 с дефект в гена TPP1 B11p15.5 и дефицит на лизозомната протеаза TPP1. Началото е между 2- и 4-годишна възраст с прогресиращ моторен, церебеларен и интелектуален дефицит, генерализирани епилептични припадъци (тонично - клонични, абсанси), които са терапевтично - резистентни, миоклонии с активация от сетивни стимули, ретинална дегенерация с пигментни отлагания и амавроза. Летален изход настъпва около 10-12 годишна възраст. Варианти на късната инфантилна NCL са *финландски вариант* (CLN5, локус 13q22), *индийски вариант* (CLN6, локус 15q21), *цигански вариант* (MFSD8/CLN7, локус 4q28.1-q28.2) и *турски вариант* (CLN8), много рядко се установяват и мутации в CTSD с локус 11p15.5 и PPT1.

Ювенилната форма (1) (ювенилна церебро - ретинална дегенерация, болест на Spielmeier - Vogt-Sjögren или болест

на Batten) е генетично хетерогенна група с AP предаване. Най-честа е класическата форма с мутацията CLN3 в 16p12.1. По-рядко са установени и генни дефекти в CLN8 (северен епилептичен вариант), CTSD с локус 11p15.5, PPT1 с локус p32 и TPP1 с локус 11p1. Началото е между 5- и 13-годишна възраст. Развиват се амблиопия, ретинална дегенерация, епилептичен синдром с генерализирани тонично-клонични припадъци, комплексни парциални и миоклонични пристъпи. Заболяването прогресира с прибавяне на деменция, церебеларна атаксия, квадрипареза, тежка мускулна ригидност и анатрия. Летален изход настъпва след 10 до 20 г. от началото на заболяването поради кардиомиопатия.

Форма при възрастни (1) (NCL 4.). Установени са възможни генни дефекти (CTSD, PPT, CLN3 и CLN5). Заболяването започва между 15-20-годишна възраст. Има бавна еволюция. При **тип А** (Болест на Kufs, AP, CLN 6) началото е с прогресивна миоклонична епилепсия, деменция и атаксия, прибавят се квадрипареза и хореоатетоза. При **тип В** (Болест на Parry, АД, DNAJC5) са налице поведенчески, личностови промени и деменция, впоследствие и двигателни нарушения и мозъчно - стволова дисфункция.

Табл. 1 Биологична / функционална класификация (8)

ФОРМА	ГЕН
I. NCLs причинена от дефицит на протеин/ензим с известна функция	
CLN1 (INCL, Santavuori-Haltia disease)	PPT1 в 1p32
CLN2 (LINCL, Jansky-Bielchowsky disease)	TPP1 в 11p15.5
CLN10 (CNCL)	CTSD в 11p15.5
CLN13	CTSF в 11q13.2
II. NCLs причинена от дефицит на протеин с неизвестна функция	
CLN3 (JNCL, Batten/Spielmeyer-Vogt-Sjogren disease)	CLN3 в 16p12.1
CLN4A (Kufs disease, ANCL, autosomal recessive)	CLN6 в 15q21-q23
CLN4B (Parry disease, ANCL, autosomal dominant)	DNAJC5 on 20q13.33
CLN5 (LINCL, Finnish variant)	CLN5 в 13q21.1-q32
CLN6 (LINCL, Costa Rican / Turkish / Indian / Roma Gypsy / Portugal variants)	CLN6 on 15q21-q23
CLN7 (INCL, Turkish/Indian variants)	MFSD8 в 4q28.1-q28.2
CLN8 (EPMR and LINCL, Turkish variant)	CLN8 в 8pter-8p22
CLN9	?
CLN11	GRN в 17q21.31
CLN12	ATP13A2 в 1p36.13

Различните NCLs се отличават по генетичния ефект. На всеки тип заболяване се дава обозначението "CLN", което означава цероидна липофузциноза, невронна, и след това число, за да се посочи неговият подтип. С изключение на CLN 9, при останалите варианти са уточнени и генетичните мутации, причиняващи заболяването (8).

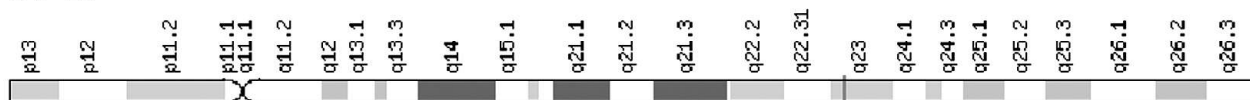
Мутации в CLN 6 гена причиняват както невронна цероид липофузциноза тип 6 (CLN 6-вариант на късната инфантилна форма на заболяването), така и автосомно-рецесивна форма на адултия тип болест на Kufs (CLN 4A). Познати и описани до момента са поне 70 различни мутации в този ген (5). Повечето деца с късна инфантилна форма т.е. CLN6 се характеризират с постепенна загуба на придобитите двигателни умения, с начало в ранна детска възраст (регрес на развитието) поради напредваща мозъчна атрофия. Наблюдават се епилептични припадъци, атаксия, мускулни трептения (миоклонус), нарушения в говора и загуба на зрението. С напредване на времето заболяването прогресира с тежък двигателен дефицит и деменция. Повечето деца с болест на CLN6 не оцеляват в зряла възраст.

Генът CLN 6, локализиран в 15q21-q23 (**Фиг. 1**) (3) кодира трансмембранен белтък с ненапълно изяснени функции. Знае се, че белтъкът CLN6 се намира в структура, наречена ендоплазмен ретикулум, който участва в преработката и транспорта на протеини. Изследванията показват, че CLN6 протеинът регулира транспортирането на определени протеини и липиди от ендоплазмен ретикулум до лизозомите – структурите, рециклиращи отпадните продукти от клетъчния метаболизъм. По този начин CLN6 белтъка играе роля при преработката на отпадни продукти, а мутацията му води до натрупването им неразградени в клетката, водещи до нейната гибел, което е същността на заболяването (9). CLN 6 подтипът е известен като индийски вариант, но мутации в гена са описани и в много други народности: Турция, Аржентина, Италия, Коста Рика, Канада, САЩ, Пакистан, Афганистан, Япония, Португалия, Англия (единични случаи и в Чехия, Ирландия и Китай) (5).

ПРЕДСТАВЯНЕ НА КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ:

Представяме момче на 5 г. възраст, роден с тегло 2400 г. от нормално протекла бременност, 8 дни преди вероятния термин. Проходил около 1 г. възраст, бил сговорно изоставане, като при първата хоспитализация на 4 години казва единични думи, с по-хиперактивно поведение и отчетена от майката влошена походката – станал по-нестабилна, трудно тичал, с чести внезапни падания. При неврологичното изследване установени дискретни пирамидни белези (оживени сухожилни рефлекс, непостоянен рефлекс на Бабиински). Проведени ЕЕГ без сигурни епилептични промени. КТ на главен мозък е с набелязана це-

Chr 15



Фиг. 1

ребеларна атрофия, обсъден за спиноцеребеларна атаксия – негативни резултати; проведено изследване за Niemann Pick тип C – в норма; обсъден и за прогресивна миоклонична епилепсия – Ramsay Hunt syndrome. МРТ на главен мозък разкрива редукция на бяло мозъчно вещество двустранно окципитално. Няколко месеца по-късно започнали миоклонии с „внезапни разтрисания“, до 1-2 пъти през ден, като в проведената ЕЕГ е установена забавена за възрастта активност, с генерализиран пароксизъм от острие-бавна вълна (SW) комплекси и последващи ритмични бавни вълни при фотостимулация (ФС) 12 хц, без иктална проява и непостоянни бавновълнови прояви двустранно централно-темпорално и напред. Започнато лечение с Конвулекс сироп, от което паданията и разтрисанията намалели степенно, но установен прогресиращ интелектуалния и двигателния регрес, като при последната хоспитализация от 08.01.2019 г. на 5 г. детето е псевдобулбарен синдром, централна квадрипареза, церебеларен синдром, деменция.

Неврологичен статус: Краниални нерви - псевдобулбарен синдром с орални автоматизми, затруднено преглъщане, изтичане на слюнка от устата; Двигателна дейност - ограничен обем на пасивни движения и спастична квадрипареза; сухожилни рефлекс - патологично оживени сухожилни рефлекс с разширени рефлексогенни зони, поликинетични коленни и Ахилови рефлекс, на моменти и спонтанни клонуси в долни крайници, положителни рефлекс на Бабински и Росолимо двустранно. Координация - при целенасочени движения с ръцете с интенционен тремор и дисметрия двустранно. Статична атаксия, на моменти с тремор на тялото - титубация. Походка - невъзможна самостоятелно, по спастично - атактичен тип. Скандиран говор. Сетивност - не може да се изследва пълноценно. Тазови резервоари - не контролира. ВКФ - сензорна афазия; деменция.

От проведените генетични изследвания се установи нова, неопишвана досега в базите данни хомозиготна мутация в CLN 6 гена при хетерозиготно носителство у двамата родители, които нямат клинична симптоматика. Мутацията NM_017882.2:c.765_785delGGACAGCA ACGGCCTCTTCTT, представляваща делеция на 21 нуклеотида, води до отпадане на 7 аминокиселини от крайния белтъчен продукт.

Въз основа на клиничната картина с изходно изоставащо нервно-психично развитие и наблюдаван значим двигателен и интелектуален регрес, в съчетание с епилептични пристъпи, атаксия и данните за мозъчна атрофия, както и предвид генетичния резултат при детето се прие диагнозата „Късна инфантилна форма на невронална цероидлипофусциноза“. Поради липса на дефинитивно лечение се препоръча провеждане на двигателна рехабилитация, както и редовна антиконвулсантна терапия с валпроат и леветирацетам.

ОБСЪЖДАНЕ:

Невроналните цероидлипофусцинози са група генетично хетерогенни заболявания, протичащи със сходна

клинична симптоматика предвид данните за напредваща невродегенерация с двигателни пирамидни и екстрапирамидни нарушения, атаксия, епилепсия, деменция и зрителни нарушения. Отделните форми се различават по възрастовото начало на клиничните симптоми, но общ белег при всички тях е настъпващия регрес в хода на заболяването. Важно и необходимо е провеждане на генетични изследвания с оглед възможната пренатална диагностика, както е в случая на семейството на нашия пациент, при което се проведе амниоцентеза при втората бременност на майката с оглед уточняване носителство на посочената мутация у плода (хетерозиготен здрав носител). При детските форми заболяването прогресира и завършва летално за няколко години, докато при формите при възрастните преживяемостта е по-добра, но също снижена спрямо останалата популация.

Благодарности:

Генетичното изследване е осъществено по научен проект ФНИ Б02/240, договор ДФНИ Б02/3 от 12.12.2014 г., на тема: „НАСЛЕДСТВЕНИ МАЛКОМОЗЪЧНИ АТАКСИИ – МОЛЕКУЛНА ЕПИДЕМИОЛОГИЯ В БЪЛГАРСКАТА ПОПУЛАЦИЯ И ТЪРСЕНЕ НА НОВИ ФОРМИ“, финансиран от МОН

ЛИТЕРАТУРА:

1. Божинова, В. 9.2. Невролипидози и левкодистрофии. В: Неврология. П.р. И.Миланов, Медицина и физкултура, София, 2012, 683-606.
2. Chang, C.H., Kao, A. Neuronal Ceroid Lipofuscinoses. Medscape. 2014
3. Gao, H., Boustani, R.-M., Espinola, J., A., Cotman S. и съавт. Mutations in a Novel CLN6-Encoded Transmembrane Protein Cause Variant Neuronal Ceroid Lipofuscinosis in Man and Mouse. AGHG, 2002, 70, 2
4. Haltia, M., Goebel H. The neuronal ceroid-lipofuscinoses: A historical introduction. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. 2013, 1832, 11, 1795-1800
5. Mole S. E. MRC Laboratory for Molecular Cell Biology, University College London. NCL resource, 2018
6. Mole, S.E., Anderson, G., Band H. и съавт. Clinical challenges and future therapeutic approaches for neuronal ceroid lipofuscinosis. Lancet, 2019, 18, 1, 107-116
7. Mole, S.E., Williams R. Neuronal Ceroid-Lipofuscinoses. Gene Reviews, 2013
8. Rakheja, D., Bennet M. Neuronal ceroid-lipofuscinoses. Translational Science of Rare Diseases. 2018, 3, 2, 83-95
9. Wheeler, R.B., Sharp, J.D., Cutler, D.F., Mole, S.E., Michaux, G., Codlin S. CLN6, which is associated with a lysosomal storage disease, is an endoplasmic reticulum protein. Experimental cell research. 2014, 298, 2, 399-406

Адрес за кореспонденция:

д-р Мая Колева, Клиника по нервни болести за деца, УМБАЛНП „Св. Наум“, София 1113, ул. „Д-р А. Русев“ 1, e-mail: maya_m_koleva@abv.bg

Address for correspondence:

Dr. Maya Koleva, Clinic of child neurology, UMHATNP „St. Naum“, 1113 Sofia, 1 „Luben Roussev“ str., e-mail: maya_m_koleva@abv.bg