

# Raznolikost fenotipova uzrokovanih mutacijom gena CACNA1

---

Vukić, Vana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:115338>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Vana Vukić**

**Raznolikost fenotipova uzrokovanih mutacijom gena  
CACNA1**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2020.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Odjelu za dječju neurologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Nine Barišić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

## **KRATICE**

HVA – high voltage activated

LVA – low voltage activated

FHM – familijarna hemiplegična migrena

GEFS – generalized epilepsy with febrile seizures

CSD – cortical spreading depression

GABA – gama-aminomaslačna kiselina

EA - epizodička ataksija

SCA – spinocerebelarna ataksija

mRNA - glasnička ribonukleinska kiselina

EEG – elektroencefalogram

MR – magnetska rezonanca

ADHD – attention deficit hyperactivity disorder

KBC - klinički bolnički centar

CMA – kromosomski microarray

ACTH – adrenokortikotropni hormon

# SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1.	STRUKTURA I FUNKCIJA KALCIJEVIH KANALA .....	1
2.	FAMILIJARNA HEMIPLEGIČNA MIGRENA TIP 1 .....	4
3.	EPIZODIČKA ATAKSIJA TIP 2.....	11
4.	SPINOCEREBELARNA ATAKSIJA TIP 6.....	14
5.	ZASTOJ U RAZVOJU, POREMEĆAJI SVIJESTI, EPILEPTIČKA ENCEFALOPATIJA I NEUROBIHEVIORALNE POSLJEDICE MUTACIJE CACNA1A .....	19
5.1	KONGENITALNA ATAKSIJA.....	20
5.2	REKURENTNE EPIZODE KOME.....	21
5.3	SINDROM HEMIKONVULZIJA-HEMIPLEGIJA-EPILEPSIJA .....	22
5.4	ZASTOJ U RAZVOJU, MENTALNA RETARDACIJA, AUTIZAM .....	23
5.5	EPILEPTIČKA ENCEFALOPATIJA .....	24
5.6	DRAVETIN SINDROM.....	25
5.7	HIPEREKPLEKSIJA.....	26
5.8	RETTTOV SINDROM .....	27
5.9	HOMOZIGOTI I SLOŽENI HETEROZIGOTI ZA MUTACIJE CANCA1A GENA .....	28
5.10	DELECIJA 19p13.....	29
6.	RAZNOLIKOST FENOTIPOVA UZROKOVANIH MUTACIJAMA OSTALIH CACNA1 ...	30
6.1	CACNA1B.....	30
6.2	CACNA1C.....	31
6.3	CACNA1D.....	32
6.4	CACNA1E.....	33
6.5	CACNA1G i CACNA1H.....	34
7.	PRIKAZ PACIJENATA .....	36
8.	RASPRAVA .....	40
9.	ZAKLJUČAK .....	42
10.	ZAHVALE.....	43
11.	LITERATURA .....	44
12.	ŽIVOTOPIS .....	56

## SAŽETAK

### Raznolikost fenotipova uzrokovanih mutacijom gena CACNA1

Vana Vukić

Kalcijevi kanali regulirani naponom široko su rasprostranjeni u središnjem živčanom sustavu gdje posreduju utok iona kalcija u stanicu u odgovoru na depolarizaciju. To omogućuje egzocitozu neurotransmitera, regulaciju ekspresije gena i brojne druge fiziološke funkcije.  $\alpha$  - podjedinica tvori senzor napona i poru kanala kroz koju ulaze kalcijevi ioni. Poznato je 10 različitih  $\alpha$  - podjedinica kodirano CACNA1 genima. Mutacije CACNA1 implicirane su u razvoju brojnih neuroloških poremećaja. Mutacije CACNA1A gena, koji kodira  $\alpha$  - podjedinicu P/Q - tipa kalcijevog kanala, dosada su pokazale najveću raznolikost fenotipa. Uzrokuju familijarnu hemiplegičnu migrenu tip 1, vrstu migrene s aurom karakteriziranom hemiplegijom. Epizodička ataksija tip 2 i spinocerebelarna ataksija tip 6 bolesti su koje poglavito oslikavaju zahvaćenost cerebeluma, što nije neuobičajeno budući da su P/Q - kanali tamo široko rasprostranjeni. Epizodička ataksija karakterizirana je povremenim simptomima poremećaja cerebelarne funkcije na početku bolesti, no s vremenom simptomi postaju trajno prisutni, a bolest progresivna. Spinocerebelarna ataksija je sporo progresivna bolest, koja se, u većini slučajeva, javlja u srednjoj do starijoj životnoj dobi. Dostignuća molekularne tehnologije omogućila su identifikaciju ostalih fenotipova. Otkrivena je povezanost mutacija CACNA1A gena s razvojem epileptičke encefalopatije, što je u ovom radu dodatno naglašeno prikazom dvoje pacijenata s tom dijagnozom. Refraktorne epilepsije, zastoj u razvoju i ostali neuropsihijatrijski poremećaji najčešće su posljedica *de novo* mutacija. Osim CACNA1A, *de novo* mutacije ostalih CACNA1 gena povezane su s ekspresijom sličnih fenotipova i ukratko prikazane.

**Ključne riječi:** ataksija, CACNA1, CACNA1A, cerebelum, epileptička encefalopatija

## SUMMARY

### Phenotypic diversity in patients with CACNA1 gene mutation

Vana Vukić

Voltage-gated calcium channels are expressed abundantly throughout the central nervous system. They mediate calcium influx in cells in response to membrane depolarization. This step is crucial for neurotransmitter exocytosis, regulation of gene expression, and other physiological functions. 10 CACNA1 genes code for alpha subunits that incorporate the voltage sensor and channel pore. CACNA1 encodes the alpha subunit of P/Q - calcium channel. Mutations of many of CACNA1 genes cause neurological disorders. CACNA1A gene mutations hold the greatest phenotypic diversity. Hemiplegia in the aura phase defines familial hemiplegic migraine type 1. Cerebellar dysfunction, as a consequence of high P/Q - channel expression in cerebellum, is best represented by episodic ataxia type 2 and spinocerebellar ataxia type 6. Episodes of cerebellar dysfunction characterize the beginning of episodic ataxia, but symptoms progress and become permanent in the later course of the disease. Spinocerebellar ataxia begins at an older age and progresses slowly. Advances in molecular technology provided the establishment of more phenotypes. A correlation between epileptic encephalopathy and CACNA1A mutations has been observed. This paper presents two patients with the disease and confirms the association. De novo mutations are usually the cause of refractory epilepsy, developmental delay, and various neuropsychiatric disorders. De novo mutations in other CACNA1 genes give rise to similar phenotypes.

**Key words:** ataxia, CACNA1, CACNA1A, cerebellum, epileptic encephalopathy

# 1. STRUKTURA I FUNKCIJA KALCIJEVIH KANALA

Kalcijevi kanali regulirani naponom sveprisutni su u ljudskom organizmu i neophodni su za brojne fiziološke funkcije, od kontrakcije mišića, sekrecije hormona i otpuštanja neurotransmitera do ekspresije gena.<sup>1,2</sup> Dio su superobitelji ionskih transmembranskih kanala reguliranih naponom kojoj pripadaju kalijevi i natrijevi ionski kanali.<sup>1</sup> Kalcijevi kanali aktiviraju se kao odgovor na depolarizaciju stanične membrane te propuštaju kalcijeve ione u stanicu. Na taj način prevode električna zbivanja na membrani u fiziološke procese unutar stanice. Prema fizikalnim i farmakološkim osobinama razlikuju se dvije velike skupine.<sup>3</sup> Po njihovim biofizikalnim karakteristikama, dijelimo ih na one aktivirane visokim (high voltage activated – HVA) i niskim naponom (low voltage activated – LVA), odnosno ovisno o tome zahtijevaju li snažnu ili slabu depolarizaciju stanične membrane za aktivaciju. Te dvije skupine možemo dalje podijeliti na temelju farmakoloških karakteristika, te u skupini aktiviranih visokim naponom razlikujemo L, N, P, Q i R tipove kalcijevih kanala, a u skupini koja zahtjeva niski napon nalazimo T tip kanala.<sup>4</sup> Navedene tipove kalcijevih kanala razlikuje osjetljivost na određene lijekove i toksine, pa je tako L - tip podložan inhibiciji dihidropiridinima, benzotijazepinima i fenilalkilaminima, a P/Q – tip kanala inhibiran je paukovim toksinom w-agatoxin IVA, dok je T – tip neosjetljiv na antagoniste i L i P/Q – kanala. P – tip kalcijske struje prvi put zabilježen je u Purkinjeovim stanicama malog mozga, a Q – tip u zrnatim stanicama malog mozga, pa su im dodijeljeni različiti nazivi, iako je kasnije utvrđeno da se radi o jednom kanalu.<sup>1,3</sup> Kalcijevi naponom regulirani kanali sastoje se od nekoliko podjedinica.<sup>5</sup> Glavna i dominantna strukturna podjedinica je  $\alpha_1$  podjedinica, protein sačinjen od oko 2000 aminokiselina<sup>3</sup>, čija molekularna masa iznosi između 190 i 250 kDa.<sup>1</sup> Sadrži poru kroz koju kalcijevi ioni ulaze u stanicu, senzor napona, vrata kanala te mjesta za regulaciju aktivnosti kanala drugim glasnicima, lijekovima i toksinima.  $\alpha_1$  podjedinica sastoji se od četiri homologne domene od kojih svaka sadrži po šest transmembranskih segmenata. Segment S4 služi kao senzor vrijednosti napona, a petlja koja povezuje segmente S5 i S6 određuje ionsku provodljivost i selektivnost.<sup>1</sup> Naime, poru omeđuju segmenti 5 i 6 te petlja koja ih povezuje, a koja sadrži par glutamatnih ostataka koji su zaslužni za afinitet prema kalcijevim ionima.<sup>3</sup> Otkriveno je 10 različitih gena koji kodiraju različite  $\alpha_1$  podjedinice, imenovani CACNA1S, C, D, F, A, B, E, G, H, I. Na temelju strukture kanala, 2000. godine predložena je nova nomenklatura kalcijevih kanala reguliranih naponom temeljena na različitim  $\alpha_1$  podjedinicama, a po uzoru na nomenklaturu kalijevih kanala.<sup>2</sup> Tako postoje tri podskupine unutar obitelji, sa



sličnošću aminokiselinskih sekvenci unutar podskupine od 70%, a između podskupina 40%. Cav1 podskupina sadrži kanale s  $\alpha_{1S}$ ,  $\alpha_{1C}$ ,  $\alpha_{1D}$  i  $\alpha_{1F}$  podjedinicama koji spadaju pod L- tip kanala. Cav2 podskupina sadrži kanale s podjedinicama  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  i  $\alpha_{1E}$  odnosno P/Q, N i R tip kalcijeve kanale. Cav3 podskupina s  $\alpha_{1G}$ ,  $\alpha_{1H}$  i  $\alpha_{1I}$  čini T tip kanala. Osim  $\alpha_1$  podjedinica, u izgradnji kanala sudjeluju još i  $\beta$ ,  $\alpha_2\delta$  i  $\gamma$  podjedinice.  $\beta$  podjedinica postoji u četiri različita tipa, kao i  $\alpha_2\delta$ , a  $\gamma$  podjedinica kodirana je s čak osam različitih gena.<sup>4,6</sup> Iako  $\alpha_1$  podjedinice posreduju raznolikost kalcijevih kanala, te dodatne podjedinice služe kao modulatori aktivnosti kanala.

L – tip kalcijevih kanala nalazi se najvećim dijelom u srčanom, glatkom i poprečnoprugastom mišićju te u endokrinih stanicama i u neuronima. T – tip kanala prisutan je u raznim stanicama u organizmu.<sup>2</sup> Iako su sve podskupine prisutne u živčanom tkivu, najzastupljeniji tipovi kalcijevih kanala u živčanom sustavu su N, P/Q i R.<sup>3</sup>

P/Q – tip kalcijevih kanala, odnosno Cav2.1, nalazi se na presinaptičkom kraju neurona te posreduje ulazak kalcijevih iona u stanicu, korak ključan u procesu egzocitoze neurotransmitera.<sup>6</sup> CACNA1A gen, koji kodira  $\alpha_1$  podjedinicu Cav2.1 kanala, nalazi se na kratkom kraku 19. kromosoma (19p13).<sup>7</sup> Raznolikosti kalcijevih kanala rasprostranjenih u središnjem živčanom sustavu doprinosi i mogućnost alternativnog prekrajanja mRNA, transkripta CACNA1A gena, uz prethodno navedeno kombiniranje  $\alpha_1$  podjedinice s dodatnim,  $\beta$  i  $\alpha_2\delta$  podjedinicama.<sup>7</sup> Osim na aksonu, P/Q - kanali nalaze se i na tijelu neurona i na dendritima, što upućuje na njihovu ulogu u neuronskoj ekscitabilnosti, genskoj ekspresiji i preživljenju stanice.<sup>7</sup> Ti kanali osobito su brojni u cerebelumu, u Purkinjeovim i zrnatim stanicama i u molekularnom sloju.<sup>5</sup> Istraživanja na eksperimentalnim životinjama koje nose mutacije CACNA1A gena pokazala su deficit granjanja Purkinjeovih stanica i neuspjelu migraciju zrnatih stanica u cerebelumu, a životinje kojima nedostaju P/Q-kalcijevi kanali umiru ubrzo nakon rođenja.<sup>8</sup>

Identificirane su bolesti poznate kao kanalopatije povezane s genima za  $\alpha_1$  podjedinice i dodatne podjedinice.<sup>6</sup> Svrha ovog diplomskog rada je opisati raznolikost fenotipova uzrokovanih mutacijom CACNA1 gena, s naglaskom na CACNA1A gen. Stoga ćemo se usredotočiti na Cav2.1 kanalopatije, od kojih su su dobro poznate poznate tri autosomno dominantno nasljedne bolesti: familijarna hemiplegična migrena tip 1, epizodička ataksija tip 2 i spinocerebelarna ataksija tip 6.<sup>5</sup> Prepoznato je, također, posebno zahvaljujući novim

molekularnim metodama, da su *de novo* mutacije CACNA1A gena važan uzrok neurorazvojnih poremećaja i prezentiraju se različitim simptomima poremećaja rada središnjeg živčanog sustava.<sup>8,9</sup> Ukratko će biti opisani i fenotipovi uzrokovani mutacijama ostalih CACNA1 gena, osim CACNA1A.

## 2. FAMILIJARNA HEMIPLEGIČNA MIGRENA TIP 1

Migrena je vrsta glavobolje karakterizirana intenzivnom, unilateralnom boli pulsirajućeg karaktera koja može trajati satima i danima. Bol je rekurentna, podložna pojavi uslijed izlaganja provocirajućim čimbenicima. Jedan od najvažnijih provocirajućih čimbenika je stres, a ostali uključuju određenu hranu, alkohol, duhanski dim, mirise, vježbanje, promjene u tlaku zraka, hormonske fluktuacije, nedostatak ili višak sna, intenzivno svjetlo i preskakanje obroka.<sup>10</sup> Epidemiološke studije pokazale su da se prevalencija migrene među djecom povećava kroz djetinjstvo, da bi vrhunac dosegla u adolescenciji. U predškolskoj dobi iznosi 3%, u osnovnoj školi od 4% do 11%, a među srednjoškolcima prevalencija migrene je između 8 i 23%.<sup>11</sup> Prevalencija među cjelokupnom svjetskom populacijom je 12%.<sup>12</sup> Napadaji migrene su učestali i javljaju se čak jednom do dvaput mjesečno.<sup>13</sup> Migrena se klasično dijeli na migrenu s aurom i migrenu bez aure, dok je u pedijatrijskoj populaciji dodana još jedna grupa, periodični simptomi s pojavom u djetinjstvu, zapravo prekursori migrene koja najčešće nastupa u adolescentnoj ili odrasloj dobi.<sup>11</sup>

Migrenski napadaj sastoji se od nekoliko faza – prodroma, aure, glavobolje i postdroma.<sup>10</sup> Prodrom je faza koja nagoviješta pojavu glavobolje, a prethodi joj nekoliko sati do čak nekoliko dana. Karakterizirana je simptomima poput neuobičajenog ponašanja, ekscitativnog zijevanja, žudnje za određenom hranom, umora i konfuzije.<sup>10</sup> Aura je prolazni neurološki fenomen koji se tipično razvija kroz nekoliko minuta i traje kratko. Najčešće se očituje smetnjama u domeni osjeta vida koje se prezentiraju kao binokularni ili monokularni gubitak vida sa skotomima, distorzije vida ili vidne halucinacije, a zabilježene su i bizarne manifestacije aure poput mikro/makroopsije, sindroma Alise u zemlji čudesa, i slično.<sup>11</sup> Aura se može prezentirati i kao gubitak osjeta u vidu utrnulosti ili parestezija lica ili udova te kao disfazija.<sup>14</sup> Glavobolja pulsirajućeg karaktera razvija se karakteristično unilateralno, s tim da se lateralizacija razlikuje u pojedinim napadajima. Kod djece mlađe od 15 godina moguća je pojava bifrontalne ili bitemporalne boli. U prosjeku traje od 4 sata do 72 sata, no u djece je dozvoljeno minimalno trajanje glavobolje od sat vremena.<sup>11</sup> Prate ju mučnina i povraćanje, suženje, crvenilo ili bljedoća lica kao očitovanja poremećaja autonomnog živčanog sustava.<sup>12</sup> Pojavljuju se i pretjerana osjetljivost na svjetlo, buku, mirise i dodir, odnosno, fonofobija, fotofobija, osmofobija i alodinija.<sup>12</sup> Bol pojačavaju pokreti glave i/ili tijela, bilo koja fizička aktivnost te tranzitorna povišenja intrakranijalnog tlaka zbog kihanja ili kašlja.<sup>10,11</sup> Postdromska faza slijedi

nakon rezolucije glavobolje, a karakterizira je osjećaj smušenosti, nemogućnost koncentracije i umor.<sup>10</sup> Otprilike 15 – 30% djece koja boluju od migrene iskuse i ranije navedenu auru.<sup>11</sup>

Familijarna hemiplegična migrena (FHM) podvrsta je migrene s aurom. Aura je karakterizirana simptomima motornog karaktera koje obilježava hemipareza, odnosno slabost polovice tijela. Hemipareza se obavezno javlja uz nemotorne simptome tipične migrenske aure koji traju od 5 do 60 minuta.<sup>14</sup> Disfazija, kao nemotorni simptom aure, dolazi u kombinaciji s desnostranom hemiparezom<sup>14</sup>, što je i logično uzimajući u obzir da se Brocino i Wernickeovo područje za govor nalaze u lijevoj hemisferi. Glavobolja je obično, iako ne isključivo, kontralateralna u odnosu na paretičnu polovicu tijela.<sup>11</sup> Hemipareza može trajati tjednima, i nadilazi trajanje glavobolje.<sup>11</sup> Jedan od kriterija za dijagnozu familijarne hemiplegične migrene je prisutnost bolesti kod člana obitelji u prvom ili drugom koljenu. Kad obiteljska anamneza nije pozitivna, bolest se naziva sporadična hemiplegična migrena.<sup>15</sup> Prevalencija hemiplegične migrene iznosi 0.01% u europskoj populaciji, a procjenjuje se da je trećina svih slučajeva sporadična.<sup>16</sup> Hemiplegična migrena javlja se vrlo rano, oko 5 do 7 godine, s prosječnim vremenom javljanja između 12. i 17. godine. Kao i u tipičnoj migreni, žene su češće pogođene od muškarca. Zanimljivo je da napadaji migrene i hemiplegije prestaju nakon 50. godine.<sup>15</sup>

FHM se nasljeđuje autosomno dominantno, s penetracijom gena između 70 i 90% i ima tri poznate genetske podloge.<sup>16</sup> Međutim, u nekim obiteljima nisu nađene mutacije u tim trima genima unatoč postojanju hemiplegične migrene, što upućuje na mogućnost otkrivanja novih uzročnih gena u budućnosti.<sup>17</sup> Gotovo polovica obitelji nosi mutaciju u genu CACNA1A (FHM tip 1).<sup>18</sup> Povezanost mutacije u genu CACNA1A i razvoja familijarne hemiplegične migrene otkrio je Ophoff sa suradnicima 1996. godine.<sup>19</sup> Od tada je opisano 30 različitih mutacija.<sup>17</sup> Mogu se pojaviti znakovi poremećaja cerebelarne funkcije koji variraju od blagih, primjerice nistagmus, do izrazito teških, kao što je ataksija. Povremeni nalaz u pogođenim obiteljima je i atrofija cerebeluma.<sup>14</sup> Klinička slika familijarne hemiplegične migrene je varijabilna, od jednostavnih oblika samo migrene s hemiplegijom, preko kombinacije hemiplegične migrene i cerebelarne ataksije do razvoja kome uslijed edema mozga.<sup>13</sup>

Drugi uzročni gen familijarne hemiplegične migrene je ATP1A2 koji se nalazi na kromosomu 1q23, a odgovoran je za 20% slučajeva FHM.<sup>13</sup> Nađene su 73 različite mutacije.<sup>17</sup> Gen ATP1A2 nosi uputu za kodiranje  $\alpha_2$  izoforme  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-aze koja iskorištava energiju da bi protiv koncentracijskog gradijenta izbacila tri iona natrija iz stanice, a dva iona kalija ubacila u stanicu i tako stvorila gradijent potreban, između ostalog, za ulazak kalcija u stanicu i

egzocitozu glutamata. Taj gen je u neonatalnom razdoblju predominantno eksprimiran u neuronima, a kasnije tijekom života prevladava u glijalnim stanicama. Važna funkcija ovog proteina na tom mjestu je „skupljanje”, odnosno preuzimanje kalija i glutamata iz sinaptičke pukotine u glijalnu stanicu. Učinak mutacija na funkciju ATP1A2 proteina je gubitak funkcije, što dovodi do slabijeg čišćenja ekstracelularnog prostora i nakupljanja kalijevih iona i glutamata.<sup>13</sup>

Treći gen je SCN1A koji se nalazi na kromosomu 2q24, a protein koji nastaje njegovom ekspresijom je natrijev kanal reguliran naponom. Povezan je s fenotipom FHM tip 3, a nađeno je 11 mutacija koje dovode do razvoja bolesti.<sup>17</sup> Osim ovih mutacija, detektirano je još 150 koje uzrokuju teške fenotipove s epilepsijom, uključujući genetsku epilepsiju s epileptičkim napadajima u febrilitetu (GEFS), tešku mioklonu epilepsiju dojenačke dobi (Dravet sindrom), i druge.<sup>18</sup>

Osim u genu, povezanost migrene i epilepsije uočljiva je u tome što obje bolesti imaju paroksizmalni, epizodički karakter, te je u većini slučajeva interiktalno razdoblje bez osobitosti. Napadaji se često mogu preklapati u kliničkoj slici, primjerice epileptički napadaji mogu biti praćeni glavoboljom migrenskog karaktera, a napadaji migrene, primjerice bazilarnog tipa migrene, mogu se očitovati gubitkom svijesti. Migralepsiju obilježava udruženost i epilepsije i migrene u bolesnika, preklapanje kliničkih manifestacija i bliska povezanost epizoda migrene i epileptičkog napadaja. Oba poremećaja također se mogu očitovati statusom (epileptički status, migrenski status, status migrene s aurom).<sup>18</sup> Međutim, simptomi aure se progresivno razvijaju kroz otprilike sat vremena, što je rijetko u epileptičkom napadaju (iako postoji i aura continua).<sup>15</sup> Od 30 poznatih mutacija CACNA1A gena povezanih s hemiplegičnom migrenom, 10 ih je vezano uz fenotip koji uključuje kombinaciju hemiplegične migrene i epilepsije. Epileptički napadaji mogu se dogoditi za vrijeme hemiplegične atake ili neovisno o hemiplegiji.<sup>17</sup>

Opisana je mutacija CACNA1A gena S218L koja je povezana s teškim fenotipom rekurentnih napadaja plegije provociranih blagom traumom glave, nakon koje slijedi koma.<sup>18</sup> U literaturi su opisane neobične i izuzetno teške kliničke slike FMH tip 1 gdje, osim hemiplegije i migrene, oboljeli postaju konfuzni, uz razvoj kome praćene povišenom temperaturom te naposljetku razviju težak oblik ataksije.<sup>20</sup> Uz to mogu imati i mentalnu retardaciju i tešku ataksiju ranog početka uz atrofiju malog mozga, uz usporeni motorni razvoj.<sup>20</sup> Prvi put je opisana *de novo*

mutacija u CACNA1A genu koja uzrokuje sporadičnu hemiplegičnu migrenu kod jedne oboljele djevojke koja se prezentirala upravo ovakvom kliničkom slikom.<sup>20</sup>

Poznato je da je ženski spol predisponiraniji za razvoj migrene, što se i potvrdilo istraživanjima na miševima koji nose FHM mutacije CACNA1A gena. Razlika u prevalenciji među spolovima poništena je ovarijektomijom ženki, odnosno orhidektomijom mužjaka.<sup>13</sup> Ovaj nalaz govori u prilog golemog utjecaja kojeg okolišni i ostali čimbenici imaju na razvoj bolesti, budući da se zna da penetrantnost gena nije 100%-tna. U većini slučajeva bolesnici vode normalan život između napadaja, te je nepoznato što kontrolira neuronalnu hiperekscitabilnost u tom razdoblju. Uzimajući u obzir i goleme varijabilnosti u kliničkoj prezentaciji, sve upućuje na to da okolišni čimbenici i ostali geni imaju ulogu u moduliranju funkcije kalcijevih P/Q-kanala.<sup>16</sup>

Proučavanje familijarne hemiplegične migrene, kao monogeneske bolesti, pomoglo je u rasvjetljavanju nastanka migrenske aure. Danas se smatra da je u podlozi aure fenomen koji se naziva kortikalno šireća depresija (CSD).<sup>21</sup> Radi se o sporo putujućem valu brze, gotovo potpune depolarizacije neurona i astrocita koji se širi korteksom brzinom od 2-5 mm/min, a nakon kojeg slijedi period električne supresije različitih skupina neurona. Sam naziv CSD striktno gledajući trebao bi opisivati samo taj period električne tišine. Da bi se izbjegla konfuzija, precizniji naziv „šireća depolarizacija” prikladniji je za opis navedenih fenomena.<sup>21</sup> Popraćena je promjenama u perfuziji mozga koje se razvijaju kroz 4 faze: hipoperfuzija, prolazna hiperemija nakon koje dolazi hiperemija blažeg stupnja, te na kraju, oligemija. Uslijed šireće depresije dolazi do velikih promjena u ionskom sastavu izvanstanične tekućine. Koncentracija kalijevih iona raste s 4 mmol/L na 30-60 mmol/L. Istodobno, koncentracija natrijevih i kloridnih iona pada s 140 na 50-70mmol/L, a pad se vidi i u koncentraciji kalcijevih iona, s 1,5 – 2 mmol/L na 0,2-0,8 mmol/L. Potaknuta je i egzocitoza neurotransmitera, primjerice glutamata, koji vezući se za NMDA receptore dodatno potiče ulazak natrija i kalcija u stanice i smanjenje njihovih koncentracija u izvanstaničnoj tekućini. Važnu ulogu preuzimaju astrociti koji bi trebali ukloniti velike količine kalijevih iona i glutamata iz ekstracelularne tekućine. Međutim, u FHM tipa 2 mutacije u genu APT1A2 uzrokuju gubitak funkcije astrocitne Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP-aze koja je najvažniji korak tog procesa. Njena uloga je preuzeti ekscesivan kalij i glutamat iz ekstracelularnog prostora u astrocit te tako stabilizirati membranski potencijal mirovanja neurona koji je ovim uvjetima ionske neravnoteže neminovno poremećen, a istovremeno je ključan za normalnu funkciju neurona.<sup>21</sup> Potrebno je još istaknuti da je ova Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP-aza nađena ponajviše uz glutamatne transportere na membrani, dok je uz GABA-ergične sinapse ne nalazimo, što znači da sudjeluje samo u

ekscitacijskoj neurotransmisiji. Ekscesivni glutamat kojeg uklanja iz sinaptičke pukotine pokazatelj je poremećaja ekscitacijsko-inhibicijske ravnoteže.<sup>17,22</sup>

P/Q-kalcijev kanal eksprimiran je u moždanim strukturama uključenima u patofiziologiju migrene: moždani korteks, trigeminalni ganglij i jezgre moždanog debla. Ekspresija je posebno izražena u malom mozgu, što objašnjava cerebelarne simptome u sklopu FHM1.<sup>23</sup> Transmisija neurotransmitera na ekscitatornim sinapsama u moždanoj kori ovisi dominantno o P/Q-kanalima, osim na inhibitornim sinapsama između 5 sloja piramidalnih neurona i burst-firing bipolarnih interneurona u motornom korteksu.<sup>23</sup> Iz istraživanja mutacija u CACNA1A genu na mišjim modelima proizašlo je nekoliko spoznaja. Mutacije u genu koje dovode do razvoja FHM tip 1 fenotipa uzrokuju dobitak funkcije u proteinu. Pri malim depolarizacijama kalcijaska struja prema unutrašnjosti stanice veća je od one koja se događa pri istim vrijednostima u neuronima divljeg tipa (onima koji nemaju mutaciju). To znači da se mutirani kanali aktiviraju pri negativnijem potencijalu.<sup>23</sup> Čak i manji depolarizirajući stimulus poput blage traume glave će onda, u suprotnosti sa scenarijem u zdravoj populaciji gdje prolazi bez posljedica, dovesti do nastanka CSD-a i aure odnosno hemiplegije.<sup>21</sup> Nadalje, pri jačim depolarizacijama koje aktiviraju i kanale divljeg tipa, struja kroz oba kanala je jednaka, što govori u prilog normalnom broju funkcionalnih kanala, odnosno mutacija ne dovodi do promjene gustoće kanala na membrani. Otkriveno je i da je dobitak funkcije dvostruko veći u homozigota, u usporedbi s heterozigotima, što govori za efekt doze alela, to jest, ide u prilog dominantnosti mutacije. Nadalje, budući da kroz mutirane kanale prolazi više kalcijevih iona, logična posljedica je i pospješena, povećana egzocitoza neurotransmitera. U fiziološkim koncentracijama kalcijevih iona u izvanstaničnoj tekućini, influks kalcijevih iona u stanicu uslijed depolarizacije veći je te je stoga i povećana mogućnost egzocitoze glutamata. Međutim, kao što je prethodno navedeno, to „pravilo” ne vrijedi kod inhibitornih sinapsi te je dokazano da FHM1 mutacije ne utječu na pojačanu egzocitozu GABA-e. Moguće objašnjenje nalazi se u alternativnim prekrajanju CACNA1A gena pa se na inhibitornim sinapsama može nalaziti izoforma P/Q-kanala na čiju funkciju mutacija nema značajan utjecaj. Posljedica ovakvih saznanja je zaključak da, ako mutacija ne utječe jednako na ekscitacijske i inhibicijske puteve u mozgu, zapravo dolazi do neravnoteže između inhibicije i ekscitacije te u tome vjerojatno leži podloga bolesti. To je prihvatljivo objašnjenje s obzirom da se zna da obrada senzornih informacija nije potpuno normalna u oboljelih od migrene čak ni u interiktalnom periodu.<sup>23</sup>

Kao što je vidljivo iz prethodne rasprave, dobitak funkcije P/Q-kanala i gubitak funkcije Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP-aze dovode do olakšane, pojačane transmisije glutamata na ekscitacijskim

sinapsama, odnosno smanjenog čišćenja glutamata iz izvanstaničnog prostora pomoću astrocita, što u oba slučaja dovodi do facilitacije razvoja kortikalno šireće depresije.<sup>17</sup> Nav1.1 kanal kodiran je genom SCNA1A i povezan je s fenotipom FHM tip 3. Taj kanal eksprimiran je na GABA-ergičkim inhibitornim neuronima te ima ključnu ulogu u generiranju akcijskog potencijala. Iako su mutacije ovog gena povezane s mnogobrojnim epileptičkim sindromima, hemiplegična migrena nije dio fenotipa tih mutacija. Dokazano je da su mutacije ovog gena koje uzrokuju fenotip FHM3 mutacije dobitka funkcije.<sup>17</sup> Učinak te mutacije u predispoziciji za CSD, pretpostavlja se, bio bi ekscesivno okidanje neurona kao odgovor na blagu depolarizaciju. Uoči snažnog, ponavljano okidanja neurona kalijevi ioni izlaze u izvanstaničnu tekućinu.<sup>22</sup> Povišenje koncentracije kalijevih iona iznad granice podnošljivog u izvanstaničnoj tekućini dovodi do aktivacije konstantne ionske struje prema unutrašnjosti stanice što održava pozitivnu povratnu spregu koja izjednačava membranski potencijal gotovo s ničicom.

Da bi se dodatno istražili utjecaji mutacija CACNA1A na fenotip FHM tip 1 generirani su knock in mišji modeli bolesti, s mutacijama R192Q i S218L. Slično kao i kod ljudi, mutacija R192Q proizvela je običan fenotip familijarne hemiplegične migrene s napadajima hemiplegije praćenima migrenom, dok je mutacija S218L, opet slično kao i u oboljelih, dovela do razvoja izrazito teškog fenotipa s cerebelarnom ataksijom i atrofijom, epileptičnim napadajima, komom i teškim edemom mozga čiji je provocirajući faktor blaga trauma glave.<sup>13</sup> Mutacija S218L proizvodi tako težak fenotip zato što dovodi do većeg dobitka funkcije kanala što pridonosi ulasku veće struje kalcijevih iona u neuron te obilnijoj egzocitozi glutamata u sinaptičku pukotinu.<sup>21</sup>

Unatoč sve većim saznanjima, pitanje nastanka migrenske glavobolje još nije riješeno. Zna se da ulogu sigurno ima nociceptivna mreža trigeminalnog sustava. Kraniofacijalnim aferentnim živcima koji prenose bol tijelo neurona nalazi se u trigeminalnom gangliju i gangliju stražnjeg korijena C1-3. 2. neuron tog puta gdje se živci prekapčaju je trigeminocervikalni kompleks koji se sastoji od subnucleus caudalis V. kranijalnog živca i jezgre u stražnjem rogu početnih segmenata cervikalne kralježnične moždine. Iz subnucleus caudalis glutamatergičke projekcije odlaze u talamus, a od tamo dalje odlaze u somatosenzorni korteks, inzulu, asocijativni korteks, amigdalnu, hipotalamus i brojna druga moždana područja, između ostalih i ona zadužena za modulaciju boli.<sup>12</sup> Taj put aktivira se tim redoslijedom u razvoju migrenske glavobolje.<sup>24</sup> Mnoga nova saznanja upućuju na to da je sterilna meningealna upala zaslužna za aktivaciju i senzitivaciju perivaskularnih meningealnih aferentnih nociceptivnih vlakana. Sterilna



meningealna upala produkt je otpuštanja vazoaktivnih proinflamatornih neuropeptida poput peptida povezanog s kalcitoninskim genom (CGRP), supstance P i neurokinina A. Smatra se da je inicijalni korak aktivacija peptidergičnih meningealnih nociceptora kortikalno širećom depresijom ili nekim drugim mehanizmom.<sup>24</sup> U štakora, u eksperimentalnim uvjetima, CSD može aktivirati trigeminalna nociceptivna meningealna aferentna vlakna i dovesti do promjena u meningama i moždanom deblu koje su konzistentne s razvojem glavobolje.<sup>22</sup> Još uvijek, međutim, mišljenja su podjeljena oko toga je li CSD uzrok glavobolje i ako nije, koji je onda uzrok, poglavito jer aura i glavobolja nisu uvijek, i ne moraju, biti vremenski povezane.<sup>24</sup>

Zaključno, P/Q kanali sudjeluju u procesu egzocitoze neurotransmitera i stoga su ključni u uspostavljanu ravnoteže između ekscitacijskih i inhibicijskih podražaja.<sup>22</sup> Dodatan dokaz da su ovi kanali ključni u razvoju šireće depolarizacije (CSD) koja je u podlozi migrenske aure dolazi iz istraživanja sorti miševa *leaner* i *tottering* koji imaju mutaciju u CACNA1A genu koja dovodi do gubitka funkcije proteina. Te mutacije vode većem pragu za indukciju CSD-a, manjoj brzini propagacije CSD-a koji i kraće traje.<sup>22</sup> Konkretno za auru u familijarnoj hemiplegičnoj migreni koja uključuje paralizu polovice tijela, pretpostavlja se da je objašnjenje to što CSD može zahvatiti i strijatum te tako dovesti do karakterističnih simptoma.<sup>22</sup>

### 3. EPIZODIČKA ATAKSIJA TIP 2

Još jedna autosomno dominantna bolest uzrokovana mutacijom gena CACNA1A je epizodička ataksija tip 2. Klasificirana je u grupu paroksizmalnih poremećaja kretanja<sup>25</sup>, odnosno u skupinu cerebelarnih ataksija.<sup>26</sup> Uloga cerebeluma u motorici je kompleksna: cerebelum uspoređuje naredbu i produkt, odnosno kretanju koju je korteks „smislio” i pokret koji je mišić zapravo izvršio, da bi mogao modulirati aktivnost korteksa te koordinirati kontrakciju i relaksaciju agonističkih i antagonističkih mišića u svrhu izvršenja pokreta.<sup>27</sup> Kad impuls krene iz gornjeg motoneurona prema donjem motoneuronu, istovremeno odlazi i u cerebelum. U cerebelum stižu i osjetne informacije iz mišićnih vretena, tetiva i zglobova.<sup>28</sup> Mjesto integracije svih tih signala su Purkinjeove stanice u kori malog mozga, GABA-ergički neuroni koji šalju konačni signal u duboke jezgre malog mozga, što dalje utječe na motornu izvedbu.<sup>27</sup> Svi neuroni u malom mozgu inhibitorni su neuroni, osim zrnatih stanica, koje tvore glutamatergičke sinapse.<sup>28</sup> Duboke jezgre malog mozga jedini su izlazni put informacijama iz cerebeluma.<sup>28</sup> Kad dođe do poremećaja u strukturi ili funkciji bilo kojeg dijela malog mozga ili njegovih veza s ostalim dijelom središnjeg živčanog sustava, razvija se ataksija.<sup>26</sup> Ataksija dolazi od grčke riječi koja znači „nedostatak reda”, a ovisno o tome koji dio cerebeluma je zahvaćen, prezentira se različitim simptomima.<sup>28</sup> Ako je problem u funkciji vestibulocerebeluma, dolazi do poremećaja ravnoteže i očnih pokreta. Kod disfunkcije spinocerebeluma poremećen je hod, koji je tad na širokoj osnovi, nespretnog početka i zaustavljanja i neujednačenih koraka. Intencijski tremor, dizartrijski i poremećaj u pisanju odraz su poremećaja u izvedbi voljnih radnji kao posljedica disfunkcije cerebrocerebeluma.<sup>28</sup> Ataksija može biti i perifernog podrijetla, kod poremećaja senzornih živaca.<sup>26</sup>

Grupa bolesti u koju поближе možemo svrstati ovu bolest su epizodičke ataksije. To su rijetke bolesti s incidencijom manjom od 1/100000 u populaciji, a uglavnom se nasljeđuju autosomno dominantno. Dosad je opisano osam različitih epizodičkih ataksija (EA1-8) s karakterističnim obilježjima. Najzastupljenije su epizodička ataksija tip 1 i 2, dok su ostale opisane tek u pojedinim obiteljima.<sup>29</sup>

Epizodička ataksija tip 1 javlja se obično u ranom djetinjstvu, u 1:500 000 ljudi.<sup>30</sup> Napadi ataksije karakterizirani su nespretnošću, hodom na širokoj osnovi, nekoordinacijom, vrtoglavicom, dizartrijom, mučninom, povraćanjem, glavoboljom, mišićnom slabošću i ukočenošću.<sup>26</sup> Epizode ataksije traju kratko, od nekoliko sekundi do nekoliko minuta, a mogu se javljati do 30 puta dnevno.<sup>27</sup> Javljaju se spontano ili su izazvane anksioznošću, stresom,

bolešću, glađu ili konzumacijom alkohola.<sup>30</sup> Terapija prvog izbora je karbamazepin.<sup>26</sup> Karakteristično za EA1 je nalaz miokimija u interiktalnom neurološkom statusu. Miokimije su fascikulacije mišića, koje mogu biti ili klinički prepoznatljive ili detektirane jedino putem elektromiografije, a u EA1 javljaju se najčešće periorbitalno i na prstima.<sup>31</sup> Neuromiotonija je također u nekih pacijenata uočljiva interiktalno, a uključuje ukočenost, trzanje i hipertrofiju mišića. Miokimije i neuromiotonija upućuju na zahvaćenost perifernog živčanog sustava.<sup>29</sup> Genska podloga epizodičke ataksije tip 1 je mutacija u genu KCNA1 na kromosomu 12p13 koji kodira  $\alpha$  podjedinicu kalijevog kanala reguliranog naponom Kv1.1.<sup>30</sup> Kv1.1 je odgovoran za tok kalijevih iona iz stanice nakon depolarizacije, što dovodi do repolarizacije.<sup>31</sup> Poznato je 30 patogenih, uglavnom točkastih mutacija pogrešnog smisla.<sup>29</sup> Mutacije dovode do smanjene ekspresije kanala i poremećenog otvaranja kanala<sup>31</sup>, u smislu produljene depolarizacije i pojačane ekscitabilnosti. Ovi kanali eksprimirani su posebno u košarastim stanicama i interneuronima koji prave GABA-ergičke sinapse s Purkinjeovim stanicama. Mutacije onda dovode do hiperekscitabilnosti interneurona i košarastih stanica, što rezultira pojačanom inhibicijom Purkinjeovih stanica.<sup>29</sup> To naposljetku dovodi do otežanog stvaranja impulsa u Purkinjeovim stanicama, odnosno smanjenog slanja impulsa prema dubokim jezgrama malog mozga.

Najčešća u grupi epizodičkih ataksija je epizodička ataksija tip 2. Prevalencija je 1:100 000, a javlja se u djetinjstvu ili ranoj adolescenciji, između 2. i 32. godine.<sup>32</sup> Epizode ataksije, vrtoglavice i mučnine traju od nekoliko sati do nekoliko dana.<sup>32</sup> Mogu ih pratiti dizartriya, distonija, tinitus, pojava dvoslika, glavobolje i hemipegije.<sup>32</sup> Javljaju se različitom frekvencijom, od nekoliko puta tjedno do jednom godišnje.<sup>30</sup> Oko polovice bolesnika može iskusiti migrenske glavobolje.<sup>32</sup> Napadaji ataksije provocirani su fizičkim naporom, stresom i alkoholom<sup>33</sup>, a izazivaju ih i fenitoin, kofein i povišena temperatura.<sup>34</sup> MR malog mozga tipično pokazuje atrofiju vermisa,<sup>32</sup> pogotovo anteriornog dijela.<sup>33</sup>

U periodu između ataktičnih epizoda prisutan je pogledom provociran nistagmus. S progresijom bolesti dolazi do razvoja sekundarne progresivne ataksije, koja je onda prisutna i interiktalno.<sup>31</sup> Kako su P/Q-kalcijevi kanali osim centralno, važni i u perifernom živčanom sustavu, posljedice poremećene neurotransmisije mogu se očitovati i na neuromišićnim sinapsama u vidu slabosti i mijasteničnih simptoma.<sup>30,33</sup>

EA2 se nasljeđuje autosomno dominantno, no opisani su i sporadični slučajevi bolesti.<sup>31</sup> Nađeno je 128 mutacija CACNA1A gena koje dovode do kliničke slike ove bolesti.<sup>32</sup> To su

uglavnom besmislene mutacije, mutacije pogrešnog smisla<sup>31</sup> i mutacije pomaka okvira čitanja<sup>33</sup> čiji je produkt nefunkcionalan, skraćeni protein.<sup>31</sup> Osim u egzonima, mutacija se može dogoditi u intronu i sakriti mjesto alternativnog prekrajanja, rezultirajući opet u nefunkcionalnom proteinu.<sup>35</sup> Smatralo se da je mehanizam odgovoran za razvoj kliničke slike haploinsuficijencija, no istraživanja su pokazala da ukoliko miševima reduciramo ekspresiju CACNA1A gena, neće doći do ovakvih neuroloških sekvela. Pokazano je da se defektni proteini, produkti mutiranog gena, vežu za normalne proteine te pokreću njihovu degradaciju, tako dovodeći do simptoma.<sup>36</sup>

P/Q-kalcijevi kanali eksprimirani su posebno u Purkinjeovim i zrnatim stanicama malog mozga. Zaduženi su za struju kalcijevih iona i ekscitabilnost tih stanica. Kontroliraju egzocitozu glutamata u ekscitacijskim sinapsama koje paralelna vlakna tvore s Purkinjeovim stanicama i egzocitozu neurotransmitera GABA-e u Purkinjeovim stanicama.<sup>32</sup> Mutacije dovode do redukcije kalcijске struje, smanjene egzocitoze neurotransmitera te slabijeg inhibitornog efekta Purkinjeovih stanica, a to rezultira dezinhibicijom dubokih jezgara malog mozga.<sup>26</sup>

Terapija izbora u liječenju EA2 je acetazolamid, inhibitor karboanhidraze, u dozi od 250 do 1000 mg dnevno.<sup>26</sup> Smanjuje učestalost i jačinu napadaja u čak 50-75% oboljelih.<sup>37</sup> Acetazolamid inhibira karboanhidrazu i uzrokuje diurezu, kaliurezu i metaboličku acidozu, smanjuje koncentraciju bikarbonata u serumu, laktata i piruvata u mozgu te dovodi do moždane acidoze.<sup>33</sup> Magnetska spektroskopija oboljelih od EA2 pokazala je povišen pH i povišene laktate u moždanim stanicama. Hipoteza o povezanosti povišenog pH i razvoja ataksije objasnila bi izvrstan efekt acetazolamida u modulaciji bolesti kroz promjenu u vrijednosti pH. Nuspojave lijeka su nefrolitijaza, hiperhidroza, ukočenost mišića i lako umaranje te gastrointestinalne smetnje.<sup>33</sup> Drugi izbor u terapiji je blokator kalijevih kanala, 4-aminopiridin.<sup>37</sup>

## 4. SPINOCEREBELARNA ATAKSIJA TIP 6

Spinocerebelarna ataksija tip 6 je autosomno dominantno nasljedna neurodegenerativna bolest.<sup>38,39</sup> Poznato je ukupno 47 spinocerebelarnih ataksija, a do danas je identificirano 35 uzročnih gena.<sup>38</sup> Prevalencija ovih bolesti je 1-3/100000 ljudi, što ih svrstava među rijetke.<sup>38,39,40</sup> Najčešće među njima su SCA1, SCA2, SCA3, SCA6 i SCA7.<sup>41</sup> Mutacije gena koje rezultiraju bolešću povećavaju broj ponavljanja trinukleotida CAG iznad normalnog za pojedini gen.<sup>38,40,42</sup> Translacijom gena s većim brojem CAG trinukleotida nastaje protein s dugačkim poliglutaminskim lancem.<sup>40</sup> Ovaj mehanizam nastanka bolesti nije jedinstven za spinocerebelarne ataksije, već ga nalazimo i u drugim neurološkim bolestima, poput Huntingtonove bolesti, spinobulbarne mišićne atrofije i ostalih.<sup>43</sup>

Simptomi se prvi put javljaju u odrasloj dobi, najčešće između 20. i 40. godine.<sup>38</sup> Dob početka bolesti obrnuto je proporcionalna broju ponavljanja CAG trinukleotida – veći broj ponavljanja uzrokuje raniji početak bolesti.<sup>38,44</sup> SCA6 javlja se u prosjeku u ranim 50-tim godinama,<sup>40,45</sup> s rasponom dobi od 19 do 71.<sup>43</sup> U literaturi je opisan pacijent koji je razvio simptome u prvim mjesecima nakon rođenja, a genetskom analizom utvrđena je ekspanzija ponavljanja CAG tripleta.<sup>46</sup> SCA6 je, poput ostalih iz ove skupine, progresivna bolest i napreduje od blagih simptoma na početku bolesti prema sve težoj kliničkoj slici.<sup>46,47</sup> Početak SCA6 karakteriziran je nestabilnošću u hodu i nespretnošću koja progredira do teške ataksije, pa čak i ovisnosti o pomagalicama za kretanje.<sup>38</sup> U početnoj fazi bolesti simptomi se javljaju epizodički, godišnje ili mjesečno, s trajanjem epizoda od nekoliko sekundi do nekoliko dana. Između epizoda neurološki status može biti uredan ili obilježen blagim poremećajem cerebelarne funkcije. Ovaj stadij nekoliko godina prethodi razvitku trajnih simptoma i nalikuje prethodno opisanoj epizodičkoj ataksiji tip 2.<sup>45</sup> S progresijom bolesti dolazi do trajne nekoordinacije udova, dizartrije i abnormalnosti pokreta očiju.<sup>40,48</sup> Najprogresivnija među spinocerebelarnim ataksijama je SCA1, dok se najblaži oblik s najsporijom progresijom javlja u pacijenata oboljelih od SCA6.<sup>38,48</sup> SCA6 ne uzrokuje skraćeno trajanje života oboljelih.<sup>40,43</sup>

Degenerativna narav SCA6 odlikuje se u atrofiji malog mozga, uz dominantan gubitak Purkinjeovih stanica.<sup>38,48,50</sup> Preživjele Purkinjeove stanice pokazuju izrazite morfološke promjene – heterotopične jezgre, nejasnu citoplazmatsku granicu, izdanke some, bubrenje dendritičkih izdanaka s povećanim brojem protruzija sličnih spinama i deorganizacijom aksona.<sup>43,51</sup> Eksperimentalnim miševima ciljano je utišan CACNA1A gen koji kodira za  $\alpha 1$  podjedinicu P/Q-kanala u Purkinjeovim stanicama. Miševi su imali normalno očekivano

trajanje života, međutim razvili su ataksiju ranije nego vidljive morfološke promjene Purkinjeovih stanica. To nam govori da je ablacija ovih kalcijevih kanala isključivo u Purkinjeovim stanicama dovoljna za ekspresiju bolesnog fenotipa.<sup>43</sup>

Uočeno je da su pojedini dijelovi malog mozga više zahvaćeni degenerativnim promjenama – vermis, u odnosu na hemisfere malog mozga.<sup>44,50,51</sup> Kortikalne strukture velikog mozga, bazalni gangliji i moždano deblu makroskopski su očuvani, bez znakova atrofije na prikazu slikovnim metodama.<sup>38,50,51</sup>

S druge strane, mnoge spinocerebelarne ataksije uzrokuju atrofiju i promjene u drugim dijelovima središnjeg živčanog sustava s posljedičnim nastankom raznolikih ekstracerebelarnih simptoma<sup>39,48</sup> - od piramidalnog i ekstrapiramidnog sindroma, degeneracije retine do konvulzija i demencije.<sup>38</sup> Nasuprot tome, SCA 6 dugo vremena smatrana je čisto cerebelarnom bolešću.<sup>39,41</sup> Međutim, i u ovoj bolesti javljaju se simptomi koji se ne mogu objasniti samo cerebelarnom patologijom, poput disfagije, piramidalnog i ekstrapiramidnog sindroma, senzorne poteškoće i abnormalni slušni evocirani potencijali moždanog debla.<sup>50</sup> Na obdukciji mozgovu umrlih pacijenata koji su bolovali od SCA6 makroskopski je primjetna jedino atrofija malog mozga.<sup>50</sup> Međutim, mikroskopski pregled moždanog tkiva otkriva nedostatak divovskih piramidalnih stanica (Betzove stanice) u primarnom motornom korteksu. Te promjene objašnjavaju hiperrefleksiju i pozitivan Babinskijev refleks koji se mogu naći u pacijenata.<sup>43</sup> Kod pacijenata s dugotrajnom bolešću također je uočen gubitak neurona u dijelovima talamusa i moždanog debla, degenerativne promjene dopaminergičkog sustava, slušnih, vestibularnih, somatosenzornih jezgara, jezgre povezane s aktom gutanja i ostalih struktura moždanog debla.<sup>50</sup>

Dodatni simptomi koji se uz navedene javljaju kognitivnog su i emocionalnog karaktera, a za mali mozak potvrđeno je da ima ulogu u tim funkcijama.<sup>38,39,41,52</sup> Mali mozak se kroz evoluciju nastavio razvijati baš kao i dijelovi velikog mozga, a funkcionalne slikovne metode potvrdile su njegovu ulogu u višim kognitivnim funkcijama.<sup>41</sup> Postoje dokazi da bi mali mozak mogao biti dio kompleksne funkcije ljudske svijesti – teorije uma, što nam omogućuje da prepoznamo i razumijemo osjećaje, razmišljanje i vjerovanja u drugim ljudima koja su drugačija od naših, odnosno da te karakteristike pripišemo drugim ljudima.<sup>41</sup> Uloga malog mozga u motornim funkcijama je integracija svih podražaja, naredbi iz korteksa te proprioceptivnih i senzornih s periferije, pa je moguće da ima i tu integrativnu ulogu u kognitivnom funkcioniranju, odnosno, primarna funkcija malog mozga mogla bi biti

integracija različitih informacija u cilju modeliranja ponašanja.<sup>41</sup> Zbog toga se, poput ataksije u motornom smislu, kod oštećenja malog mozga javlja „dizmetrija misli”.<sup>41</sup> Testovi kognitivnih funkcija provedeni na pacijentima koji boluju od SCA6 utvrdili su postojanja blagih kognitivnih poteškoća u izvršnim funkcijama, mentalnoj fleksibilnosti i vizualnoprostornim vještinama.<sup>38,50,51</sup> Kognitivni deficit koji se javlja u ovoj bolesti zato neki istraživači pripisuju poglavito oštećenju cerebeluma.<sup>52</sup> S druge strane, neke druge studije nisu potvrdile postojanje kognitivnih poteškoća u pacijenata oboljelih od SCA6.<sup>39</sup> Razlozi mogu biti brojni, od nedovoljnog broja ispitanika i pogreške u metodologiji istraživanja, do stvarnog nedostatka povezanosti između cerebelarne atrofije i viših kognitivnih funkcija. A i pokazano je da se i SCA6 pacijenti mogu grupirati u dvije skupine ovisno o izvedbi u testovima, jedna grupa bila je lošija od druge i pokazivala dodatne kognitivne teškoće. Taj rezultat implicira mogućnost da su različite regije cerebeluma uključene u različite kognitivne funkcije.<sup>51</sup> Možda je to odgovor na različite rezultate studija koje ispituju kognitivne funkcije u ovih pacijenata, a možda su odgovor epigenetski utjecaji ili postojanje depresije koja može biti komorbiditet u ovih pacijenata i ne smije se zanemariti jer može dovesti do narušenog kognitivnog funkcioniranja.<sup>47</sup>

Neke bolesti u skupini spinocerebelarnih ataksija, kao što je prethodno navedeno, uzrokovane su pretjerano ekspanziranim poliglutaminskim lancima zbog mutacije koja povećava broj ponavljanja CAG trinukleotida. Njih možemo svrstati u kategoriju poliglutaminskih bolesti. S druge strane, dio SCA nema u podlozi taj mehanizam. One spinocerebelarne ataksije koje odlikuje ekspanzija CAG ponavljanja imaju težu sliku bolesti.<sup>40</sup>

SCA 6 uzrokovana je ekspanzijom ponavljanja CAG trinukleotida u egzonu 47 gena CACNA1A.<sup>43,53</sup> Taj dio gena prevodi se u C-kraj proteina.<sup>53</sup> Normalni broj ponavljanja CAG trinukleotida u tom genu iznosi 4-18, a mutirani gen ima od 20 do 33 ponavljanja.<sup>40,43,49</sup> Oboljeli najčešće imaju mutirani alel s 22 ponavljanja.<sup>43</sup> Kako je ova bolest autosomno dominantna, oboljeli su većinom heterozigoti. Međutim, opisani su i slučajevi oboljelih homozigota, čiji je početak bolesti bio raniji, a tijekom bolesti teži.<sup>43</sup> Fenotipsko očitovanje genotipa s mutiranim alelom od 19 ponavljanja još je kontroverzno, jer iako su heterozigoti za taj alel obično asimptomatski, opisan je jedan slučaj bolesti s genotipom 19/7.<sup>43,54</sup> Broj ponavljanja u CACNA1A genu koji uzrokuje bolest jedinstven je jer je taj broj u drugim bolestima takvog tipa tek normalan genotip koji se ne očituje bolešću, a minimalan broj ponavljanja za ekspresiju bolesnog fenotipa je 35.<sup>41,48,55</sup> U SCA6 nije uočen fenomen anticipacije prepoznat u ostalim bolestima poliglutaminskih lanaca, gdje je broj ponavljanja

veći u sljedećim generacijama što rezultira ranijim nastupom bolesti.<sup>43</sup> Ekspanzija CAG ponavljanja u SCA6 stabilna je intergeneracijski.<sup>44,45,49</sup> To je bacilo sumnju na mogućnost da je SCA6 bolest stvaranja inkluzija poliglutaminskih lanaca kao što se mislilo. Istovremeno je u znanstvenoj zajednici bila prisutna hipoteza da je SCA6 kanalopatija, poput dvije alelske bolesti, EA2 i FHM1.

Početak identifikacije molekularnog aspekta patogeneze ove bolesti početkom 21. stoljeća bio je zbog nedostatka razvijenih tehnologija koje danas imamo, dosta nejasan i maglovit. Činjenice su ukazivale da SCA6 nije klasična bolest nakupljanja poliglutaminskih lanaca, a nije imala ni čistu patogenezu kanalopatija. Identificirane su inkluzije u jezgrama i citoplazmi Purkinjeovih stanica pomoću antitijela na poliglutaminske ostatke koje se nisu mogle identificirati pomoću antitijela na kalcijeve kanale.<sup>49</sup> To je navelo na razmišljanje da inkluzije ne čine cijeli proteini kodirani CACNA1A genom, već možda samo segmenti.<sup>48,56</sup> Identificirani nuklearni agregati nisu pozitivni na ubikvitin, za razliku od inkluzija u drugim poliglutaminskim bolestima.<sup>49</sup> Spekulirano je uzrokuju li te inkluzije disfunkciju P/Q-kanala te posljedično smrt stanice ili poremećena funkcija kanala dovodi do neravnoteže kalcija u stanici pogodujući stvaranju inkluzija poliglutaminskih lanaca.<sup>49</sup> Susljednim istraživanjima takve hipoteze su opovrgnute.<sup>57</sup> Na funkciju kanala ne utječe abnormalno ekspanziran poliglutaminski lanac na njegovom C-kraju.<sup>43,52,57,58</sup>

Ubrzo se došlo do novih otkrića o patogenezi SCA6.<sup>57</sup> Pored  $\alpha 1$  podjedinice P/Q-kanala koju kodira CACNA1A gen, uočeno je da C-kraj tog proteina može postojati kao samostalan protein, i to u funkciji transkripcijskog faktora,  $\alpha 1$ ACT.<sup>40,43,57</sup>  $\alpha 1$ ACT djeluje u jezgri Purkinjeovih stanica potičući ekspresiju gena GRN za granulin, PMCA2 za kalcijску ATPazu i BTG1 za protein gena translokacije B stanica 1.<sup>40,58</sup> Smatra se da su mehanizmi stvaranja ovog proteina dvojaki. U citoplazmi se C-kraj odcijepi od  $\alpha 1$  podjedinice kanala i premjesti se u jezgru. Još intrigantniji mehanizam sinteze  $\alpha 1$ ACT leži u činjenici da je mRNA nastala prepisivanjem CACNA1A gena bicistronska, što znači da se njenom translacijom stvaraju dva proteina,  $\alpha 1A$  i  $\alpha 1$ ACT.<sup>57</sup>  $\alpha 1$ ACT translacija se pomoću posebnog mehanizma – unutrašnjih ribosomskih ulaznih vrata.<sup>52,56</sup> Za translaciju mRNA u proteine eukarioti dominantno koriste 7- metil-gvanozin kapu na 5' kraju mRNA, a translacija pomoću unutrašnjih ribosomskih ulaznih vrata alternativni je put translacije mRNA u eukariota, preuzet od virusa.<sup>43,57</sup> Ovaj mehanizam utvrđen je u 10-15% stanične mRNA, a osigurava odvijanje translacije proteina u uvjetima staničnog stresa, različitih faza staničnog ciklusa ili u uvjetima kad iz bilo kojeg razloga translacija dominantnim mehanizmom nije u potpunosti funkcionalna.<sup>43</sup> Dakle,



CACNA1A gen za translaciju u proteine koristi dva mehanizma:  $\alpha 1A$  podjedinica kanala translira se pomoću mehanizma translacijske kape, a  $\alpha 1ACT$  neovisno o tom mehanizmu.<sup>59</sup> Geni čiju ekspresiju potiče  $\alpha 1ACT$  važni su za maturaciju Purkinjeovih stanica i izrastanje neurita tijekom njihove diferencijacije.<sup>42,52,57</sup> Kad  $\alpha 1ACT$  u SCA6 ima ekspanzirani poliglutaminski lanac ne može normalno obavljati svoju funkciju transkripcijskog faktora i dovodi do ekspresije bolesnog fenotipa.<sup>40,47,53</sup>

Terapijska opcija koju bi valjalo iskušati u liječenju SCA6 jest utišavanje ekspresije mutiranog gena. Istraživanja na eksperimentalnim modelima SCA pokazuju da je oporavak nakon takve strategije ovisan o dobi, odnosno što ranijem djelovanju. Kako neurološki simptomi prethode gubitku neurona i atrofiji, pravovremenim djelovanjem bolest bi se mogla zaustaviti u reverzibilnoj fazi i spriječiti njena progresija.<sup>40</sup> Utišavanje ekspresije cijelog CACNA1A gena pokazalo se letalnim.<sup>56,59</sup> Selektivno utišavanje ekspresije  $\alpha 1ACT$  ciljajući unutrašnja ribosomska ulazna vrata koristeći miRNA tehnologiju, a koje bi istovremeno poštedilo  $\alpha 1A$  podjedinicu P/Q - kalcijskog kanala bilo bi efikasno terapijsko rješenje za pacijente oboljele od SCA6.<sup>56,59</sup> Utišati ekspresiju  $\alpha 1ACT$  mogle bi i male molekule, odnosno lijekovi koji se već koriste za različita stanja - ajmaline (antiaritmik), deferoksamin (kelator željeza), nocodazole i klorambucil (kemoterapeutici) pokazali su se uspješnima u istraživanjima provedenim u kulturi stanica.<sup>59</sup>

## 5. ZASTOJ U RAZVOJU, POREMEĆAJI SVIJESTI, EPILEPTIČKA ENCEFALOPATIJA I NEUROBIHEVIORALNE POSLJEDICE MUTACIJE CACNA1A

U literaturi se spominju mnogi slučajevi zastoja u razvoju s podlogom u mutaciji CACNA1A gena.<sup>8,59,61</sup> U usvajanju motoričkih vještina ova djeca kasne za svojim zdravim vršnjacima, a kad prohodaju hod im je nestabilan i ataktičan.<sup>60,61,62</sup> Razvoj govora također je usporen.<sup>59,60</sup> Djeca u dojenačkoj dobi i dobi malog djeteta mogu razviti diskinezije u smislu devijacije pogleda, ritmičke pokrete glavom i jednostavne stereotipne kretnje.<sup>8</sup> Različite motorne radnje poput hranjenja mogu provocirati epizode nemira prezentirane nevoljnim pokretima i tremorom glave i udova.<sup>8</sup>

## 5.1 KONGENITALNA ATAKSIJA

Hipotonija, nistagmus, titubacija glave i abnormalni pokreti očiju u ranoj dobi podudaraju se sa slikom kongenitalne ataksije.<sup>8</sup> Kongenitalna ataksija obilježena usporenim motornim razvojem prezentira se tijekom prve ili druge godine života. Prezentacija je šarolika pa može uključivati i druge neurološke abnormalnosti poput intelektualnih teškoća i epilepsije. MR mozga u većini slučajeva pokaže cerebelarnu atrofiju. Kongenitalna ataksija neprogresivna je i povezuje se s mutacijama u oko 30 gena. Posljednjih godina je primijećeno da neke od ovih ataksija ipak pokazuju sporu progresiju, pa je predložena nova podskupina kongenitalnih ataksija vrlo ranog početka. CACNA1A gen opisan je kao jedan od uzroka kongenitalnih ataksija.<sup>63</sup> Dizmetrija, dizartrijska, hipotonija, tremor i ataktični hod kao simptomi poremećaja funkcije cerebeluma perzistiraju u pacijenata s CACNA1A mutacijom i postaju sve izraženiji tijekom razvoja.<sup>8</sup> Kod male djece koja zaostaju u motornom razvoju i imaju simptome poremećaja cerebelarne funkcije te nalaz atrofije malog mozga u obradi bi trebalo razmatrati i mutacije CACNA1A gena.<sup>60</sup>

## 5.2 REKURENTNE EPIZODE KOME

Mutacija gena CACNA1A može se očitovati fenotipom koji uključuje rekurentne epizode kome nakon kojih je na slikovnim prikazima evidentna atrofija cerebeluma.<sup>60</sup> Ta atrofija ne mora biti vidljiva prije komatoznih epizoda, međutim može se dokazati čak nepunih godinu dana od napadaja, što sugerira brzu progresiju.<sup>60</sup> Kod neke oboljele djece koma je isprovocirana blagom traumom glave koju slijedi neposredno ili s odmakom od nekoliko sati.<sup>8</sup> Komu mogu pratiti ili joj prethoditi povišena tjelesna temperatura i povraćanje, a epizoda poremećaja svijesti traje minutama, danima ili tjednima.<sup>8,62</sup> Hemiplegija može biti dio kliničke slike takve epizode,<sup>8,62</sup> kao i ostali motorni simptomi poput devijacije pogleda i diskinetičnih kretnji udova.<sup>8</sup> Konvulzivne epizode nisu rijetkost tijekom ovih epizoda.<sup>8</sup> Slikovne pretrage mogu pokazati edem mozga, uglavnom jedne od moždanih hemisfera.<sup>8</sup> Iktalni EEG obilježen je intermitentnim theta i delta valovima iznad edematozne moždane polutke, a analiza punktata dobivenog lumbalnom punkcijom pokazuje sterilnu limfocitnu pleocitozu.<sup>8</sup> Ovakav fenotip mutacije u CACNA1A genu javlja se uglavnom u mlađoj životnoj dobi, s rasponom dobi 21+/-16 godina.<sup>8</sup> Oporavak je obično potpun, na stanje prije napadaja.<sup>8</sup> No, postoje i iznimke kao što je, u literaturi opisan, slučaj djevojčice koja je uz ataksiju, glavobolju i poremećaje svijesti doživljavala opetovane konvulzivne epizode što je rezultiralo polaganom motoričkom i razvojnom regresijom, uz gubitak sposobnosti govora i samostalne pokretnosti. Uz atrofiju cerebeluma prikazala se i bilateralna meziotemporalna skleroza.<sup>64</sup>

Bolesnici često imaju obiteljsku anamnezu opterećenu istom kliničkom slikom ili fenotipskim varijantama uslijed mutacija CACNA1A gena<sup>59,60,61</sup> ili su kod njih zabilježene mutacije nastale *de novo*.<sup>8,64</sup> Kognitivni deficit potrebno je naglasiti kao obilježje ovog fenotipa koje se ne javlja uvijek, ali je često.<sup>8</sup> Mentalna retardacija u opsegu je blaga do vrlo teška, a inteligencija može biti i normalna, no i tada je niža nego kod ostalih članova obitelji.<sup>8</sup>

### 5.3 SINDROM HEMIKONVULZIJA-HEMIPLEGIJA-EPILEPSIJA

Sindrom hemikonvulzija-hemiplegija-epilepsija obilježen je pojavom unilateralnih epileptičkih napadaja u dojenačkoj dobi i dobi malog djeteta nakon kojih nastupa privremena ili trajna hemiplegija. Slučaj djevojčice koja je razvila ovaj sindrom uslijed infekcije parvovirusom B19 opisan je u literaturi. Zaostajala je u psihomotoričkom razvoju. Razvila je ataksiju u dojenačkoj dobi. U dva navrata razvila je poremećaj svijesti u obliku kome kojem je prethodilo povraćanje. Infekciju parvovirusom B19 slijedio je razvoj parcijalnih epileptičkih napadaja i desnostrane hemikonvulzije. Desnostrana hemipareza i blaga dizartrijska perzistirale su nakon završetka ovih akutnih epizoda. MR mozga pokazala je atrofiju cerebeluma i lijeve moždane polutke. Genetskom analizom nađena je S218L mutacija u genu CACNA1A. Ova mutacija povezana je s FHM1 te autori rada predlažu da su disfunkcija P/Q-kalcijevih kanala i posljedična kortikalna šireća depresija doveli do vazospazma cerebralne vaskulature rezultirajući desnostranim hemikonvulzijama, hemipegijom i atrofijom lijeve moždane polutke.<sup>65</sup>

## 5.4 ZASTOJ U RAZVOJU, MENTALNA RETARDACIJA, AUTIZAM

Jedno veliko istraživanje opisalo je kliničke slike 16 članova 4 obitelji koje nisu u krvnom srodstvu, a nose mutacije gubitka funkcije u genu CACNA1A. Raznolikost fenotipova kojima se takve mutacije očituju uključuje epileptičku encefalopatiju s generaliziranom epilepsijom, aspans epilepsiju, febrilne konvulzije, zastoje u razvoju, intelektualne poteškoće, ADHD, poremećaje socijalizacije i socijalnih vještina, autizam, teškoće u učenju i potrebu za radom u prilagođenom programu. Iako su bili prisutni, cerebelarni znakovi poput nistagmusa, ataksije i dizatrije, u nekih provocirani stresom, infekcijama ili umorom, nisu dominirali kliničkom slikom.<sup>66</sup> I drugi su utvrdili povezanost između mutacije CACNA1A i zastoja u razvoju nakon urednog perinatalnog i neonatalnog razdoblja. Oboljeli zahtijevaju školovanje po prilagođenom programu ili neki oblik dodatne pomoći u nastavi.<sup>67,68</sup> Neke studije nisu uspjele dokazati korelaciju između stupnja atrofije cerebeluma i težine kognitivnog i bihevioralnog deficita,<sup>67</sup> dok su drugi utvrdili povezanost cerebelarne, posebice vermalne, atrofije i intelektualnog deficita.<sup>68</sup> Mentalna retardacija nađena je u oboljelih od FHM1, međutim razvoj intelektualnog deficita prethodio je pojavi hemiplegične migrene, a ne obrnuto, što sugerira da nije nastao sekundarno kao posljedica oštećenja mozga zbog hemiplegičnih napadaja.<sup>69</sup> Od psihijatrijskih poremećaja identificirani su ADHD, psihoza, anksiozni poremećaj, depresija i poremećaji ličnosti.<sup>67</sup> Drugim istraživanjem željelo se pronaći genetsku strukturu koja je u podlozi preklapanja kliničkih slika poremećaja iz autističnog spektra i epilepsije. CACNA1A gen bio je među identificiranim genima.<sup>70</sup> Potrebno je naglasiti da se fenotip CACNA1A mutacija može prezentirati neurorazvojnim poremećajem.<sup>67</sup> Stoga u sklopu neurološke obrade djeteta s kliničkom slikom zastoja u razvoju, intelektualnih poteškoća i poremećaja iz autističnog spektra treba učiniti sekvencioniranje CACNA1A gena.<sup>66</sup> Iz toga proizlazi također da se djetetu s CACNA1A mutacijom utvrđenom u obradi nekog drugog stanja mora pratiti psihomotorni razvoj i akademski uspjeh.<sup>68</sup>

## 5.5 EPILEPTIČKA ENCEFALOPATIJA

Epilepsija je jedan od najčešćih neuroloških poremećaja u populaciji.<sup>71</sup> Ponavljajući epileptični napadaji refraktorni na terapiju imaju devastirajući učinak na mladi mozak u razvoju i često rezultiraju razvojem epileptičkih encefalopatija.<sup>72,73</sup> Povezani su s abnormalnim EEG nalazom, a uzrok su globalnog zastoja u razvoju, kognitivnog i motoričkog deficita, poremećaja u ponašanju i nerazvijenih socijalnih vještina te smanjene kvalitete života.<sup>64,65,73</sup> Više od trećine epilepsija s početkom prije 24. mjeseca života manifestira se fenotipom epileptičkih encefalopatija, a rane infantilne epileptičke encefalopatije počinju kao refraktorne epilepsije već u prvim tjednima do mjesecima života.<sup>72,73</sup> Više od 500 gena ima ulogu u patogenezi epilepsija, a čak četvrtina ih kodira ionske kanale.<sup>71</sup> Gen koji se najviše vezuje uz epilepsiju je SCN1A koji kodira  $\alpha$  podjedinicu natrijskog kanala Na1.1.<sup>71,74</sup> I ostali ionski kanali imaju značajnu ulogu u refraktornim epilepsijama i epileptičkim encefalopatijama, uključujući i kalcijeve kanale.<sup>71</sup> *De novo* mutacije uzrok su većine epileptičkih encefalopatija.<sup>75,76</sup> Kad je nikad dotad opisana *de novo* varijanta nađena u djeteta s kliničkim fenotipom epileptičke encefalopatije, smatra se vjerojatno patogenom ako je rijetka i nikad pronađena u kontrolnoj skupini, kada zahvaća visoko konzerviranu domenu čija bi promjena prema procjenama patološki utjecala na strukturu, konformaciju ili funkciju proteina, i kada zahvaća gen koji nije tolerantan na haploinsuficijenciju.<sup>76</sup> Mutacije u CACNA1A genu uzrokuju ranu infantilnu epileptičku encefalopatiju tip 42.<sup>63,71</sup> *De novo* mutacije i gubitka i dobivanja funkcije mogu uzrokovati epileptičku encefalopatiju.<sup>76</sup> U obradi epileptičkih encefalopatija i refraktornih generaliziranih epilepsija u diferencijalnu dijagnozu trebalo bi uvrstiti mutacije CACNA1A gena.<sup>63,71,72,75,77</sup> Poznata genetska dijagnoza važna je za daljnje planiranje obitelji, donošenje odluke o pravilnom terapijskom režimu i izbjegavanje nepotrebnih dijagnostičkih i terapijskih postupaka.<sup>72</sup>

## 5.6 DRAVETIN SINDROM

Dravetin sindrom je epileptički sindrom obilježen teškim napadajima refraktornima na terapiju s početkom u 1. godini života. Epileptički napadaji često su provocirani febrilitetom. Većina oboljele djece ima *de novo* mutaciju gena SCN1A. Klinička slika ovog sindroma nije jednoznačna što sugerira da okolišni čimbenici i ostali genetski faktori mogu modificirati fenotip SCN1A mutacija. Provedeno je istraživanje o utjecaju mutacije CACNA1A gena na kliničku sliku Dravetinog sindroma. U 21-og od 48-ero oboljelih nađena je mutacija u CACNA1A genu naslijeđena od roditelja. Roditelji oboljele djece bili su zdravi što upućuje na zaključak da nađene mutacije u CACNA1A genu ne mogu samostalno dovesti do navedene kliničke slike. Međutim, teži oblik bolesti utvrđen je u oboljelih u kojih su bile prisutne mutacije i SCN1A i CACNA1A gena. U tih pacijenata epileptički napadaji su se prezentirali u ranijoj dobi, bili su češći i duljeg trajanja tijekom prve godine života. Apsans napadaji javljali su se isključivo u pacijenata s CACNA1A mutacijom. Zaključujemo da u Dravetinom sindromu mutacije CACNA1A gena imaju ulogu modulatora fenotipa SCN1A mutacije.<sup>78</sup>



## 5.7 HIPEREKPLESIJA

Mioklonički napadaji i epizode apneje koji su uslijedili samo par minuta po porodu jedan su od najtežih opisanih fenotipova CACNA1A mutacija. Napadaji su progredirali u hiperekpleksiju provociranu taktilnim i akustičnim podražajima, a epizode apneje i konvulzija uspjele se politerapijom stabilizirati na frekvenciju od jednom tjedno. S 12 mjeseci dječak je razvio dnevne napadaje grča cijelog tijela popraćene višesatnim plačem. Nije bio pokretan, hranjen je na sondu i nije samostalno držao glavu, nije pratio predmete pogledom niti ih je mogao držati u rukama, ni koristiti ruke za bilo koje svrsishodne pokrete. MR mozga pokazala je ventrikulomegaliju s redukcijom bijele tvari, cerebelarnom atrofijom i poremećenom demijelinizacijom, a EEG je bio abnormalan.<sup>79</sup> I drugdje su opisani pacijenti s CACNA1A mutacijom koji su razvili mioklone ili toničko-kloničke napadaje i hiperekpleksiju unutar par sati od rođenja, a pokreti nalik konvulzivnima mogli su se pratiti već in utero. I ovi pacijenti zaostali su u razvoju s umjereno teškim do teškim intelektualnim teškoćama.<sup>75</sup>

## 5.8 RETTOV SINDROM

Rettov sindrom razvojni je poremećaj obilježen regresijom i zastojem u razvoju koji pogađa djevojčice. Većina oboljelih ima mutaciju u genu MECP2. Dijagnoza atipičnih oblika Rettovog sindroma temelji se na ispunjavanju kriterija za dijagnozu uz prisutnost regresije nakon koje je uslijedio oporavak ili stabilizacija neuroloških funkcija. U literaturi je prikazan slučaj djevojčice koja zadovoljava kriterije za dijagnozu atipičnog Rettovog sindroma uz postojanje epileptičkih napadaja ranog početka prije 5. mjeseca života što se uklapa u varijantu Rettovog sindroma s ranom epilepsijom. Djevojčica je heterozigot za *de novo* mutaciju u CACNA1A genu. Doživjela je prvi konvulzivni napadaj u prvom danu života. Zaostajala je u razvoju, no bitna obilježja bila su znakovi regresije koja bi se javila nakon početnog poboljšanja motoričkih ili kognitivnih funkcija. Od 20. mjeseca života pacijentica boluje od refraktorne epilepsije raznolikih tipova napadaja. S 5 godina MR mozga pokazao je evidentnu cerebelarnu atrofiju. U kliničku sliku atipične varijante Rettovog sindroma spada gubitak svrsishodnih i prisutnost stereotipnih pokreta rukama, odsutnost hoda, hipotonija, skolioza, zastoj u rastu, neprimjereni napadaji vrištanja, poremećen obrazac spavanja i poremećaj perifernih vazomotornih funkcija.<sup>80</sup>

## 5.9 HOMOZIGOTI I SLOŽENI HETEROZIGOTI ZA MUTACIJE CACNA1A GENA

Mutacije na oba alela CACNA1A uzrokuju težak klinički fenotip i opisane su u literaturi. Dovode do hipotonije s odsutnim tetivnim refleksima, bez spontanih pokreta i s diskonjugiranim pokretima očiju bez uspostavljanja pogleda. Dječak opisan u literaturi uz navedeno je imao i atrofiju očnog živca te je postupno nastupila i atrofija cerebeluma uz umjerenu atrofiju mozga. Prepoznao je glasove članova svoje obitelji. Sestra oboljelog pacijenta naslijedila je od roditelja iste mutacije CACNA1A gena te je umrla u 5. godini života zbog epileptičke encefalopatije.<sup>81</sup>

Utvrđena je mutacija CACNA1A gena u podlozi progresivne mioklone epilepsije s početkom u 50. godini života u dvoje srodnika homozigota za navedenu mutaciju. Obilježena je refraktornim mioklonim napadajima, poremećajem neuroloških funkcija i kognitivnim propadanjem. Početku epileptičkih napadaja prethodila je foto- i fonofobija. Bolest je progredirala uzrokujući naposljetku atrofiju proksimalnih i distalnih skupina mišića, slabost mišića i progresivnu ataksiju.<sup>82</sup>

## 5.10 DELECIJA 19p13

CACNA1A gen nalazi se na kratkom kraku 19. kromosoma (19p13) te može biti zahvaćen u delecijama koje zahvaćaju taj dio genoma. Tada su najčešće uz taj gen deletirani i drugi te se ekspimirani fenotip ne može sa sigurnošću pripisati pojedinom od tih gena.<sup>83</sup> Delecija koja zahvaća CACNA1A, BEST2 i NFIX uzrokuje zastoj u psihomotoričkom razvoju i pretjerani tjelesni rast uz diskrepanciju kronološke i koštane dobi. Dovodi do hipotonije, opstipacije, parcijalnih epileptičkih napadaja i infantilnih spazama.<sup>83</sup> Infantilni spazmi koji se pojavljuju u klasterima uz hipsaritmiju na EEG-u u sklopu Westovog sindroma također su opisani kao rezultat delecije 19p13.2 koja zahvaća CACNA1A.<sup>84</sup> Delecija gena CACNA1A i NFIX zabilježena je u brata i sestre s kariotipima 47,XXY, odnosno 47,XXX. Oboje su se prezentirali zastojem u razvoju, pretjeranim tjelesnim rastom, abnormalnostima kostura i dizmorfičnim crtama lica što su karakteristike Malanovog sindroma koji se povezuje s delecijom gena NFIX.<sup>85</sup> Epilepsija je dodatno obilježje fenotipa ovih pacijenata što bi se moglo povezati s delecijom CACNA1A gena.<sup>85</sup> Dvije sestre također s delecijom zahvaćena oba ova gena opisane su u literaturi. Fenotipom dominira zastoj u ranoj fazi razvoja i umjereno teška mentalna retardacija. Stupanj dizmorfije razlikovao se između sestara, a jedna od njih imala je izražene cerebelarne simptome poput hipotonije, epizodičke vrtoglavice i nestabilnog hoda te je bolovala i od okcipitalne epilepsije.<sup>86</sup>

## 6. RAZNOLIKOST FENOTIPOVA UZROKOVANIH MUTACIJAMA OSTALIH CACNA1

Kao što je pokazano na primjeru CACNA1A gena koji kodira kalcijev kanal P/Q – tipa, ravnoteža kalcijevih iona iznimno je važna za normalno funkcioniranje središnjeg živčanog sustava, a posebno malog mozga.<sup>87</sup> Stoga će u nastavku ukratko biti opisani poremećaji funkcije mozga uzrokovani mutacijama u ostalim CACNA1 genima.

### 6.1 CACNA1B

CACNA1B gen kodira za  $\alpha_{1B}$  – podjedinicu kalcijeva kanala N – tipa. Taj kanal eksprimiran je diljem središnjeg živčanog sustava, u bijeloj tvari, korteksu, hipokampusu, cerebelumu i bazalnim ganglijima. Smatra se važnim u egzocitozi neurotransmitera i brojnim drugim neuronalnim funkcijama, poglavito u ranom postnatalnom periodu.<sup>88</sup> Literatura o povezanosti mutacija gena CACNA1B s razvojem neuroloških poremećaja je oskudna i opisana je tek nekolicina pacijenata. Prikazano je šestoro pacijenata iz tri nepovezane obitelji sa slikom razvojne i epileptičke encefalopatije udružene s hiperkinetskim poremećajem pokreta posljedično mutacijama CACNA1B gena na oba alela. Oboljeli su homozigoti ili složeni heterozigoti za mutacije. Klinička slika obilježena je izrazito teškim epileptičkim napadajima različite semiologije refraktornima na terapiju. Globalni zastoj u razvoju kod nekih pacijenata je slijedio pojavu epileptičkih napadaja u vidu regresije dotad stečenih vještina, a kod nekolicine je prethodio pojavi epileptičkih napadaja. Postnatalna mikrocefalija, hipotonija, bulbarna disfunkcija i abnormalnosti očnih pokreta dodatna su obilježja fenotipa. Hiperkinetski poremećaj pokreta, kao kombinacija distonije, neepileptičkog mioklonusa, diskinezija i koreoatetoze dominira kliničkom slikom. Također je refraktoran na terapiju.<sup>88</sup> Druga skupina autora opisala je članove obitelji, heterozigote za mutaciju CACNA1B gena s mioklonus-distonija sindromom. Fenotip se sastojao od cervikalne i aksijalne distonije, distonije ekstremiteta provocirane radnjom uz mioklonus nogu u stojećem položaju, rezultirajući nespretnošću. Prezentirali su se još i abnormalnim očnim pokretima, srčanim aritmijama i grčevima u ekstremitetima.<sup>89</sup>

## 6.2 CACNA1C

Gen CACNA1C kodira informaciju za  $\alpha_{1C}$  – podjedinicu L – tipa kalcijevog kanala,  $Ca_v1.2$ .<sup>90,91</sup> Ovaj kanal eksprimiran je u neuronima hipokampusa, talamusa, moždanog korteksa, suprahijazmatske jezgre i cerebeluma. Osim u središnjem živčanom sustavu, važan je u fiziološkim procesima u srcu, plućima i glatkim mišićima.<sup>90</sup> Ima ključnu ulogu u započinjanju unutarstanične signalizacije drugim glasnicima i posljedičnoj ekspresiji gena.<sup>91</sup> Mutacije gena povezuju se s mnogim psihijatrijskim poremećajima poput bipolarnog poremećaja, shizofrenije, depresivnog poremećaja, ADHD-a i autizma.<sup>91</sup> Jedan od upečatljivijih fenotipova u kojima su opisane mutacije ovog gena je Timothyjev sindrom karakteriziran srčanim anomalijama, anomalijama udova, dizmorfičnim crtama lica, hipotonijom, intelektualnim poteškoćama, epileptičnim napadajima i poremećajem iz autističnog spektra.<sup>90,91</sup> Brugada sindrom, također jedan od fenotipova, obilježen je razvojem ventrikularnih aritmija, sinkopa i iznenadnom smrću.<sup>90</sup> U literaturi je opisan slučaj djevojčice, heterozigota za *de novo* CACNA1C mutaciju, koja se prezentirala infantilnom epileptičkom encefalopatijom. Uz refraktorne epileptičke napadaje, u kliničku sliku spadala je aksijalna i periferna hipotonija, laringomalacija, dizmorfija lica, sindaktilija i kamptodaktilija, hipoplazija optičkog živca i teška disfagija. S navršenih 18 mjeseci djevojčica nije usvojila motoričke i kognitivne vještine specifične za dob, bila je izrazito hipotonična, uz nesposobnost praćenja i fiksiranja objekta pogledom. Shodno opisanom fenotipu, autori spomenutog rada predložili su uvrštavanje CACNA1C gena u dijagnostički panel gena impliciranih u razvoj infantilnih epilepsija.<sup>90</sup>

### 6.3 CACNA1D

Još jedan kalcijev kanal L – tipa je  $Ca_v1.3$  čiju  $\alpha$  – podjedinicu kodira gen CACNA1D.<sup>92,93</sup>  $Ca_v1.3$  kanali široko su rasprostranjeni u mozgu i važni su za maturaciju neurona i sinapsi, stoga je očekivana njihova uloga u neurološkim poremećajima.<sup>92,93</sup> Istraživanja na eksperimentalnih miševima pokazala su da dobitak funkcije  $Ca_v1.3$  kanala dovodi do ponašanja sličnog depresiji te povećane aktivnosti u raznim moždanim područjima uključenima u emocionalno procesiranje i integraciju.<sup>93</sup> Shodno ovim nalazima, pretpostavljalo se da bi mutacije CACNA1D gena mogle uzrokovati neuropsihijatrijske poremećaje i dovesti do razvoja epileptičkih napadaja.<sup>93</sup> Prvi dokazi da mutacije ovog gena uzrokuju bolest u ljudi došli su iz istraživanja primarnog hiperaldosteronizma.<sup>93</sup> Opisana je nekolicina pacijenata koji su, uz primarni hiperaldosteronizam, razvili epilepsiju i zastoj u razvoju.<sup>93</sup> Sada se već zna da *de novo* mutacije CACNA1D gena nose vrlo visok rizik za razvoj poremećaja iz autističnog spektra.<sup>92,93</sup> Osim hetero – i autoagresivnošću te stereotipnim ponašanjem, pacijenti se mogu prezentirati hipotonijom i epileptičkim napadajima te biti teško zaostali u razvoju.<sup>92</sup> Predloženo je da se CACNA1D gen uključi u genske panele za otkrivanje podloge neurorazvojnih poremećaja.<sup>92</sup>

## 6.4 CACNA1E

Gen CACNA1E nalazi se na kromosomu 1q25.3 i odgovoran je za ekspresiju  $\alpha_{1E}$  – podjedinice R – tipa kalcijevog kanala,  $Ca_v2.3$ .<sup>94</sup>  $Ca_v2.3$  ima ulogu u presinaptičkim i postsinaptičkim procesima u neuronu.<sup>95</sup> Opsežna studija provedena na velikom kliničkom uzorku pacijenata s neurorazvojnim poremećajima povezala je mutacije CACNA1E gena s fenotipom neurorazvojnog poremećaja i epilepsije.<sup>96</sup> U literaturi je opisano 30 pacijenata s *de novo* mutacijama CACNA1E gena koji su se prezentirali slikom epileptičke encefalopatije s početkom u dojenačkoj dobi. Svi pacijenti zaostali su u razvoju, a kod nekih je primijećena regresija usvojenih vještina nakon početka epileptičkih napadaja. Od prisutnih obilježja izdvajala su se teška hipotonija, spastička kvadriplegija i kongenitalne kontrakture zglobova. Dio pacijenata prezentirao se hiperkinetskim poremećajima pokreta. Makrocefalija se također isticala kao karakteristika fenotipa dijela pacijenata.<sup>94</sup>



## 6.5 CACNA1G i CACNA1H

Gen CACNA1G nalazi se na kromosomu 17q21,<sup>97</sup> a njegovom ekspresijom nastaje T – tip kalcijevog kanala  $Ca_v3.1$ .<sup>87</sup> U literaturi se mutacije tog gena povezuju s razvojem spinocerebelarne ataksije tip 42.<sup>87,97,98</sup> Početak bolesti opisan je u rasponu dobi od 9 do 78 godina.<sup>87</sup> Klinička slika obilježena je sporo progresivnom ataksijom, dizatrijom i abnormalnostima pokreta očiju.<sup>97,98,99</sup>  $Ca_v3.1$  eksprimiran je u cerebelumu, poglavito u Purkinjeovim stanicama i neuronima dubokih jezgri malog mozga.<sup>100</sup> Kao posljedica mutacija u ovom genu nastaje atrofija hemisfera malog mozga i vermisa, sa značajnim gubitkom Purkinjeovih stanica.<sup>87</sup> *De novo* mutacije CACNA1G gena, koje dovode do dobitka funkcije proteina, uzrokuju ranu cerebelarnu atrofiju u djetinjstvu. Uz postojanje znakova cerebelarnog oštećenja, pacijenti se prezentiraju globalnim zastojem u razvoju, motornim deficitom bez samostalne pokretnosti te siromašnom ili odsutnom verbalnom komunikacijom. Zastoj u razvoju primjetan je tijekom dojenačke dobi. Pridružena obilježja kliničke slike mogu biti aksijalna hipotonija, periferna hipertonija, mikrocefalija, dizmorfične crte lica te epileptička encefalopatija.<sup>100,101</sup>

CACNA1G povezuje se i s idiopatskom generaliziranom epilepsijom, ali kao predisponirajući, a ne uzročni čimbenik.<sup>87,102</sup> Ima ulogu genetskog modulatora u Dravetinu sindromu.<sup>103</sup> Umiješanost poremećaja kalcijevih kanala u ekspresiju fenotipa nekog od epileptičkih sindroma samo potvrđuje poligenetsko podrijetlo tih bolesti.<sup>104</sup>

Osim CACNA1G, još 2 gena kodiraju T – tip kalcijevih kanala, CACNA1H i CACNA1I. T – kanali eksprimirani su u moždanom korteksu i talamusu i smatraju se važnima za razvoj apsans epilepsija. Idiopatske apsans epilepsije dio su idiopatskih generaliziranih epilepsija i očituju se nekonvulzivnim napadajima i šiljak-val kompleksima frekvencije 2,5 – 4 Hz u EEG-u. Istraživanja pokazuju da su T – kalcijevi kanali implicirani u razvoju apsans epilepsija.<sup>105</sup>

CACNA1H kodira uputu za proizvodnju  $\alpha_{1H}$  – podjedinice  $Ca_v3.2$  T – tipa kalcijevog kanala.<sup>106</sup> *De novo* mutacija CACNA1H gena identificirana je u dječaka s intelektualnim teškoćama koji je usto bolovao od epilepsije.<sup>107</sup> Opisani su fenotipovi mutacija CACNA1H koji uključuju autizam i zastoj u razvoju te serija pacijenata s generaliziranom, fokalnom i multifokalnom epilepsijom, koja je kod nekih pacijenata čak refraktorna na terapiju.<sup>106</sup> Iako su i mnoge ranije studije povezivale mutacije CACNA1H gena s razvojem epilepsije, danas se zna da o mutacijama tog gena u ovom kontekstu možemo govoriti tek kao o predisponirajućim i modificirajućim čimbenicima fenotipa, nikako kao o monogenskom uzroku.<sup>108,109,110</sup> Unatoč

takvim spoznajama, CACNA1H gen je još uvijek dio velikog broja komercijalno dostupnih kliničkih genskih testova za otkrivanje uzroka epilepsije.<sup>108</sup> Štoviše, različiti paneli za epilepsije razlikuju se u sadržaju gena čije mutacije identificiraju i uključuju barem 24 gena upitne povezanosti s ekspresijom istraživanog fenotipa.<sup>96</sup> To vodi lažno pozitivnim rezultatima i pogrešno interpretiranoj korelaciji genotipa i fenotipa.<sup>96</sup> Stoga su potrebna daljnja istraživanja za identifikaciju uzročnih gena i bolje strukturiranje dijagnostičkih panela.

U literaturi možemo pronaći opis zanimljivog fenotipa CACNA1H mutacije. Djevojčica, složeni heterozigot za mutacije ovog gena prezentirala se kliničkom slikom kongenitalne amiotrofije. Apgar zbroj je bio jako nizak (2/2) te je djevojčica odmah po rođenju intubirana zbog nepravilnog disanja te odsutnog faringealnog refleksa i refleksa sisanja. Trudnoća je bila komplicirana polihidramnijem. Uz artrogripozu i arefleksiju, dojenče nije izvodilo antigravitacijske kretnje. Biopsija mišića pokazala je varijabilnost mišićnih vlakana uz predominaciju vlakana tipa 1, a u pojedinim mišićima vlakna nisu bila vijabilna. Od svakog roditelja djevojčica je naslijedila po jednu mutaciju CACNA1H gena, a oni nisu pokazivali slične simptome. Objašnjenje navedene ekspresije mutacija možda se krije u važnosti  $Ca_v3.2$  kanala u diferencijaciji skeletnih mišićnih vlakana tijekom embrionalnog života i ulozi kalcijevih iona u fuziji mišićnih vlakana. Smanjena kalcijaska struja kroz promijenjene kanale poremetila bi te procese. T – kalcijevi kanali ekspimirani su i u motornim neuronima, te mutirani gen potencijalno može i tamo djelovati.<sup>111</sup>

## 7. PRIKAZ PACIJENATA

### PACIJENT 1

Žensko dojenče u dobi od 7,5 mjeseci liječeno je na Odjelu za neuropedijatriju na KBC-u Zagreb. Obrađivana je zbog kliničke slike težeg psihomotornog zaostajanja s epileptičkim napadajima različite semiologije. Djevojčica je začeta metodom potpomognute oplodnje, točnije in vitro fertilizacijom nakon donacije muške spolne stanice. Nemamo podataka o donoru. Majka djevojčice je zdrava. Sestra djevojčice ima 4 godine i također je začeta metodom IVF-a i donacijom muške spolne stanice od različitog donora te je zdrava. Upadljiv podatak iz obiteljske anamneze je da majčina sestrična boluje od epilepsije i mentalne retardacije. U 39. tjednu gestacije primijećen je zaostatak ploda u rastu zbog čega je napravljen hitni carski rez. Po porodu tjelesna težina je bila 2870 g, tjelesna duljina 49 cm, Apgar zbroj 9/10. Rani novorođenački period protekao je uredno, osim što je bila neuobičajeno pospana i izrazito plačljiva. Dojena je. U dobi od mjesec i pol hospitalizirana je zbog bronhiolitisa, a u tijeku bolesti bila je izraženije klonula i plačljiva. Od trećeg mjeseca prisutna je opstipacija. U 4. mjesecu života razvila je tremor u mirovanju, a roditelji primjećuju da zaostaje u razvoju. U dobi od 5 mjeseci prvi put je hospitalizirana zbog obrade razvojnog zaostajanja u vanjskoj ustanovi. Tada su primijećene suspektne konvulzivne epizode koje su uključivale tremor ekstremiteta, fleksijske spazme, zagledavanja, devijaciju bulbusa, krutu ekstenziju ruku s adukcijom i unutarnjom rotacijom. Te epizode javljale bi se nekoliko puta dnevno u trajanju od nekoliko sekundi. EEG nije bio patološki promijenjen. U terapiju je uveden natrijev valproat, a učinjena metabolička i gastroenterološka obrada te MR mozga bili su uredni. Uvedena je nazogastrična sonda. Učinjen je panel na epilepsije kojim je ustanovljena mutacija CACNA1A gena, c.6343A>T (p.Thr2115Ser), koja je klasificirana kao varijanta nepoznata značenja. Pregledana je od strane genetičara te je uzet materijal za CMA. CMA pretraga pokazala je duplikaciju veličine 218 kb u regiji Xp22.32-p22.31, koja djelomično zahvaća NLGN4X gen (neuroligin 4X-linked). Taj gen kodira za protein koji pripada skupini proteina tipa B karboksilesteraze/lipaze koji se nalaze na površini neurona te mogu biti uključeni u formiranje i remodeliranje sinapsi središnjeg živčanog sustava te ostvarivanje interakcija među stanicama. Varijante ovog gena poput delecija i mutacija koje dovode do pomaka okvira čitanja povezuju se s razvojnim zaostajanjem, autističnim spektrom poremećaja i Aspergerovim sindromom, a mala duplikacija poput ove nađene u djevojčice smatra se varijantom nepoznata značenja. Druga hospitalizacija uslijedila je mjesec dana nakon zbog učestalijih napadaja

fleksijskih spazama, koji su se počeli javljati u serijama od desetak, po desetak puta dnevno, uz zagledavanja i devijaciju bulbusa desno. U terapiju je uveden sintetski ACTH, te se broj napadaja smanjio. No stanje djevojčice se pogoršalo, uz izraženiju hipotoniju, pretjeranu pospanost i usporenu motoriku. Počeo se javljati tonički grč ruku s unutarnjom rotacijom i izmjenjivanjem zahvaćenosti lijeve i desne ruke te tremor glavice i ekstremiteta uz pojačano slinjenje. EEG je pokazao ritmične, visoko voltažne valove frekvencije 4 Hz obostrano straga, ponekad samo desno. Trzajevi glavice i ekstremiteta prestajali su na taktilnu stimulaciju ili poziv, frekvencija je tada 6-7 Hz, srednjih voltaža uz superponirane brze beta valove.

U našoj ustanovi djevojčica je hospitalizirana zbog potrebe za daljnjom obradom. Prilikom pregleda je pri svijesti. Izražen je tremor desne strane tijela. Prisutan je i tremor glave. Povremeno se javljaju trzajevi tijela prema nogama uz fleksijsko širenje ruku što odgovara fleksijskim spazmima. U neurološkom statusu prisutni su elementi infantilnih spazama. Naizmjenice je jedna polovica tijela manje aktivna. Prisutna je asimetrija položaja koja odgovara poremećaju kretanja po tipu distonije uz tremor i ataksiju. Izraziti je hipertonus mišića, poput zupčanika, više izražen na desnoj ruci i lijevoj nozi. Babinski je pozitivan lijevo. Svaki napadaj trzajeva završava fleksijom trupa ili nogu. Zbog poremećaja s hranjenjem u obliku nemira, grčenja pri hranjenju i odbijanja hrane učinjen je akt gutanja čiji nalaz je suspektan na orofaringealnu disfagiju.

Na osnovi kliničke slike i nalaza pretraga u djevojčice je postavljena dijagnoza razvojne i epileptičke encefalopatije uzrokovane mutacijom gena CACNA1A u okviru koje se pojavljuju epileptički napadaji različite semiologije. Djevojčica zaostaje u motoričkom razvoju, pati od učestalih epizoda hiperekscitabilnosti, motoričkog nemira i hiperreaktivnosti na vanjske podražaje koje odgovaraju hiperekpleksiji. Uz to se javljaju poremećaji kretanja po tipu distonije uz tremor i ataksiju. U terapiji djevojčica prima levetiracetam i karbamazepin uz vitamin B6, koenzim Q10 i ranitidin te je preporučeno uključiti je u postupke fizikalne rehabilitacije.

## PACIJENT 2

Drugi pacijent čija će klinička slika biti opisana je dječak u dobi od 6 godina i 11 mjeseci. Boluje od epileptičke encefalopatije tip 42 koja u podlozi ima mutaciju CACNA1A gena. Na Odjel za dječju neurologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb primljen je zbog razvoja epileptičkog statusa u febrilitetu i ugradnje vagus stimulatora.

Dječak je rođen iz uredne trudnoće u 39. gestacijskom tjednu planiranim carskim rezom. Porod je protekao uredno. Porođajna težina bila je 3600 g, porođajna duljina 53 cm, opseg glave 35 cm i uredan Apgar zbroj 9/10. U prvom danu života dječak je razvio grubi tremor i povremene trzajeve ekstremitetima uz vriskav plač. EEG-om su zabilježene epileptogene promjene. MR mozga bio je uredan. Isključena je infekcija središnjeg živčanog sustava i započeta je terapija fenobarbitonom i vitaminom B6. Primijećeno je poboljšanje kliničkog statusa, a povremeno su se javljali stereotipni pokreti kopcima. U dojenačkoj dobi dječak je jednom mjesečno imao toničko-kloničke napadaje u trajanju od nekoliko minuta. Nakon ukidanja terapije fenobarbitonom u dobi od 15 mjeseci napadaji su recidivirali, te je postupno uvedena politerapija antikonvulzivima. Dječak je praćen kod neuropedijatra u vanjskoj ustanovi. U dobi od 2 godine nađena je hipotireoza te je uvedena supstitucijska terapija koju je dječak primao do otprilike 5. godine. Infekcija virusom varicelle u dobi od 3 godine rezultirala je težom kliničkom slikom vodenih kozica i učestalijim napadajima. Od tada su, prema navodima roditelja, napadaji češći, teži i duljeg trajanja uz veću sklonost generalizaciji. U tom periodu je hospitaliziran zbog ponavljanih epileptičkih napadaja u febrilitetu i sumnje na meningoencefalitis. MR mozga pokazao je znakove encefalitisa i leptomeningitisa lijevo te citotoksični edem korteksa lijevo. Nakon provedene antibiotske i antiviralne terapije uz imunoglobuline i kortikosteroide dječak se oporavio te je kontrolni nalaz MR-a pokazao regresiju edema. S 4. godine MR mozga bio je uredan, a godinu dana kasnije pokazao je minimalnu dilataciju moždanih komora, nespecifične supratentorijalne promjene, atrofične promjene cerebelarnog vermisa i korteksa uz primjerenu mijelinizaciju. Tehnikom WGS-a dokazana je mutacija CACNA1A gena koja se povezuje s infantilnom epileptičkom encefalopatijom tip 42. Mutacija je nastala *de novo* ili kao posljedica mozaicizma jer nije nađena u roditelja. Tada je roditeljima preporučena vagusna stimulacija.

Iz obiteljske anamneze potrebno je spomenuti da dječak ima stariju sestru kojoj je s 3 godine dijagnosticirana epilepsija, no dobro je kontrolirana i već 8 godina nema napadaje. Urednog je psihomotornog razvoja.

U večer pred prijem dječak je razvio seriju epileptičkih napadaja koji su se prezentirali gubitkom svijesti, devijacijom bulbusa prema gore i lijevo uz tonizam donjih ekstremiteta. Svaki napadaj trajao je do 2 minute nakon čega bi dječak došao k svijesti, no nakon otprilike 5 minuta uslijedio bi novi napadaj. Napadaji su prestali na primjenu klizme diazepama. Pri prijemu na našu kliniku dječak je bio komatozan uz razvoj kontinuiranog epileptičkog statusa u febrilitetu. Povremeno bi se javljali toničko-klonički napadaji uz oromandibularne automatizme. Stabiliziran je u JIL-u uz mehaničku ventilaciju. EEG je pokazao sporu i diskontinuiranu cerebralnu aktivnost s intenzivnim epileptičkim žarištima obostrano. Tijekom boravka ponavljana EEG snimanja zabilježila su generalizirana žarišta obostrano uz obrazac supresije s izbijanjima što odgovara dijagnozi rane epileptičke encefalopatije. Roditelji su naveli da je u posljednje vrijeme imao prosječno 2 do 5 napadaja dnevno, koji su se manifestirali različito, uglavnom negativnim mioklonusom i atoničko-astatskim napadajem. Dječak ne kontrolira sfinktere. U statusu dominira hipotonija trupa s izostankom držanja glave i generalizirana distonija. Tijekom boravka pacijentu je ugrađen vagusni stimulator. U daljnjem boravku s pacijentom se uspostavlja neverbalna komunikacija, broj epileptičkih napadaja se smanjio, no i dalje su bili prisutni u obliku devijacija bulbusa, treptanja, gelastičkih napadaja i složenog apsansa. Tijekom sljedećih kontrolnih pregleda nakon otpusta evidentirana je značajna redukcija epileptičkih napadaja.

## 8. RASPRAVA

Prikazano je dvoje pacijenata koji su liječeni na Odjelu za neuropedijatriju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb. Riječ je o djevojčici dojenačke dobi i dječaku predškolskog uzrasta. Oba pacijenta boluju od epileptičke encefalopatije uzrokovane mutacijom CACNA1A gena. Razvili su prve epileptičke napadaje vrlo rano – dječak već prvog dana života, a djevojčica u dobi od nekoliko mjeseci. Djevojčica je razvila tremor ekstremiteta i glavice, uz zagledavanja, devijaciju bulbusa i fleksijske spazme s elementima infantilnih spazama. Dječak se početno prezentirao grubim tremorom uz trzajeve ekstremitetima i stereotipne pokrete kopcima, a s vremenom su napadaji progredirali u različite tipove – toničko-kloničke, negativni mioklonus, atoničko-astatičke, gelastičke, apsans napadaje. I dječak i djevojčica pokazuju psihomotorni zastoj u razvoju. U dobi od 7 mjeseci djevojčica ne sjedi i ne rotira se. U pokusu trakcije glavica zaostaje. Guguće, a socijalni kontakt ostvaruje nakratko. U dobi od 6 godina dječak još ne kontrolira držanje glave, ne kontrolira sfinktere i ne komunicira verbalno. U neurološkom statusu prisutne su hipotonija i distonija što upućuje na oštećenje cerebelarne funkcije. Djevojčica pokazuje znakove ataksije. MR mozga joj je bio uredan. No i dječakov MR mozga je u početnim godinama bio uredan, da bi naposljetku pokazao cerebelarnu atrofiju, poglavito vermisa. To je u skladu s opisima u literaturi koji navode da se atrofiju cerebeluma na MR mozga može evidentirati i godinama nakon početka prvih simptoma. Djevojčica pokazuje znakove hiperekpleksije, odnosno epizode nemira i povećane osjetljivosti na podražaje poput hranjenja. Djevojčica je začeta metodom potpomognute oplodnje nakon donacije spolne stanice pa ne možemo znati je li mutacija nastala *de novo*. Majka je zdrava, a obiteljska anamneza opterećena je epilepsijom i mentalnom retardacijom. Mutacija nađena kod dječaka nije nađena kod roditelja te je mogla nastati *de novo* ili kao posljedica mozaicizma spolnih stanica jednog od roditelja. To nam je zanimljivo pitanje zato što je i sestri bolesnika dijagnosticirana epilepsija u dobi od 3 godine, dakle kasnije nego našem pacijentu, ali ona se uspješno kontrolira medikamentozno. Povrh toga, urednog je psihomotornog razvoja. U slučaju da dječakova sestra u podlozi epilepsije također ima CACNA1A mutaciju, to bi išlo u prilog familijarnoj heterogenosti ove mutacije opisanoj u literaturi.

Oba pacijenta imaju epilepsiju refraktornu na terapiju. Zadnji terapijski režim kod djevojčice uključuje karbamazepin, levetiracetam, vitamin B6 i koenzim Q10. Dječak je podvrgnut implantaciji vagusnog stimulatora uz politerapiju antiepilepticima, nakon čega su se napadaji prorijedili. Antiepileptička nefarmakološka terapija stimulacijom živca vagusa primjenjuje se

u liječenju parcijalne i generalizirane epilepsije neovisno o dobi. Indikacija za liječenje je farmakološki rezistentna epilepsija, a kriteriji koji moraju biti zadovoljeni, osim farmakološki rezistentne epilepsije su pokušaj liječenja s barem 2 antiepileptika, isključenje neepileptičkih događaja u podlozi i nepogodnost za kirurško liječenje epilepsije. Kirurški tretman epilepsije se preferira jer dovodi do značajnije redukcije napadaja. Nakon implantacije stimulatora vagusa pacijent i dalje ostaje na terapiji antiepilepticima. Ishodi su jako povoljni, iako je redukcija epileptičkih napadaja rijetko kad potpuna. U pedijatrijskoj populaciji značajni rezultati uočljivi su u liječenju epileptičkih encefalopatija ovom metodom. Dovodi do poboljšanja kognitivnog i motornog funkcioniranja i sukladno tome, veće kvalitete života.<sup>112</sup> Smatra se da vagusna stimulacija u akutnom zbivanju djeluje desinkronizirajući neuronsku aktivnost. Međutim, dugotrajno djelovanje ove metode dovodi do modulacije neurotransmitterske aktivnosti noradrenalina, serotonina i GABA-e. Dolazi do pojačane aktivnosti u locusu coeruleusu i dorzalnim raphe jezgrama koji su izvori noradrenalina, odnosno serotonina, a uočena je i povećana koncentracija GABA-e i gustoća njenih receptora. Uređaj svoje djelovanje ostvaruje stimulacijom A-vlakana živca vagusa.<sup>113</sup> Napredak tehnologije omogućuje detekciju početka epileptičkog napadaja putem prepoznavanja promjena u frekvenciji srca, budući da su refraktorni epileptički napadaji povezani s iktalnom tahikardijom.<sup>87</sup>



## 9. ZAKLJUČAK

Gen CACNA1A među 2% je najnetolerantnijih gena u našem genomu<sup>68,80</sup> Što je gen netolerantniji na pojave funkcionalnih varijacija unutar populacije, izglednije je da utjecati na razvoj bolesti. Razvojni poremećaji predominantno su uzrokovani genima koji nisu tolerantni na varijacije.<sup>114</sup> Opisano je 170 patogenih mutacija u CACNA1A genu.<sup>32</sup> Spektar simptoma i bolesti koji one uzrokuju jako je širok, od bolesti epizodičkog karaktera poput familijarne hemiplegične migrene tip 1, epizodičke ataksije tip 2 i epizodičkih poremećaja svijesti, preko progresivne spinocerebelarne ataksije tip 6 do zastoja u razvoju, intelektualnih poteškoća i epileptičke encefalopatije. Korelacija između genotipa i fenotipa u mutacijama CACNA1A gena često je nejasna, te se fenotipovi često preklapaju.<sup>60,61,62,66,81,90,91,92</sup> Razlike u fenotipu moguće su i unutar obitelji gdje svi članovi imaju istu mutaciju.<sup>59,60,68</sup> Neke se bolesti javljaju u odrasloj i čak u starijoj životnoj dobi, a neke počinju već prvog dana života. Na primjeru CACNA1A uočavamo da mutacije u jednom genu imaju raznolik utjecaj na funkciju proteina – mogu uzrokovati dobitak ili gubitak funkcije, a mogu i djelovati naizgled nepovezanim mehanizmom što vidimo u primjeru SCA6 gdje je zahvaljujući ovoj bolesti otkriven jedan transkripcijski faktor. No s druge strane, bez obzira na vrstu mutacije, sama disfunkcija kanala, bilo dobitka ili gubitka funkcije, uzrokuje neurobiheviorna oštećenja.<sup>66,69</sup> Smatra se da, kad je funkcija P/Q kanala nedostatna, drugi kanali nastoje nadomjestiti njihovu funkciju na sinapsi što dovodi do različite sinaptičke učinkovitosti, odnosno njezine disfunkcije. To može biti ključ uočene raznolikosti fenotipova.<sup>79,81</sup> Povrh toga, u kompleksnim neurološkim bolestima mutaciju uzročnog gena moduliraju druge genetske varijacije i okolišni čimbenici rezultirajući u konačnici određenim fenotipom.<sup>115</sup> Stoga bi se bolesti uzrokovane mutacijama u CACNA1A genu mogle promatrati ne kao pojedinačne bolesti sa strogo definiranim obilježjima, već kao spektar bolesti uzrokovanih mutacijama ovog gena.<sup>60</sup>

Iz svega dosad navedenog proizlazi da o mutacijama ovog gena treba razmišljati. Raznolikost fenotipova CACNA1A mutacija još se otkriva. Kognitivni i bihevioralni simptomi dio su te raznolikosti. Kod djeteta koje zaostaje u razvoju, pogotovo ako su u statusu prisutni znakovi cerebelarnog oštećenja poput hipotonije, tremora i ataksije, treba misliti na CACNA1A gen. U diferencijalnoj dijagnozi epileptičkih encefalopatija ovaj gen također ima svoje mjesto.

## 10. ZAHVALE

Prije svega se zahvaljujem svojoj mentorici, prof.dr.sc. Nini Barišić na ukazanom povjerenju, pruženoj prilici i vodstvu kroz pisanje diplomskog rada.

Htjela bih spomenuti u zahvali i pacijente koje sam opisala u radu, jer je uz njihove prikaze rad zasigurno bolji.

Na kraju, zahvaljujem svojim najdražima na ljubavi i potpori tijekom svih ovih godina.

## 11. LITERATURA

1. Clapham DE, Julius D, Montell C, Schultz G. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature and structure-function relationships of transient receptor potential channels. *Pharmacol Rev.* 2005;57(4):427-450. doi:10.1124/pr.57.4.6
2. Ertel EA, Campbell KP, Harpold MM, et al. Nomenclature of Voltage-Gated Calcium Channels. *Neuron.* 2000;25(3):533-535. doi:10.1016/S0896-6273(00)81057-0
3. Catterall WA. Voltage-Gated Calcium Channels. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(8):a003947-a003947. doi:10.1101/cshperspect.a003947
4. Zamponi GW, Lory P, Perez-Reyes E. Role of voltage-gated calcium channels in epilepsy. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2010;460(2):395-403. doi:10.1007/s00424-009-0772-x
5. Pietrobon D. Calcium channels and channelopathies of the central nervous system. *Mol Neurobiol.* 2002;25(1):31-50. doi:10.1385/mn:25:1:031
6. Adams PJ, Snutch TP. Calcium Channelopathies: Voltage-Gated Calcium Channels. In: *Calcium Signalling and Disease.* Dordrecht: Springer Netherlands; 2007:215-251. doi:10.1007/978-1-4020-6191-2\_8
7. Pietrobon D. CAV2.1 channelopathies. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2010;460(2):374-393. doi:10.1007/s00424-010-0802-8
8. Blumkin L, Michelson M, Leshinsky-Silver E, Kivity S, Lev D, Lerman-Sagie T. Congenital ataxia, mental retardation, and dyskinesia associated with a novel CACNA1A mutation. *J Child Neurol.* 2010;25(7):892-897. doi:10.1177/0883073809351316
9. Jiang X, Pepin J, Pierson TM, Raju PK, Mitchell WG. Both gain - of - function and loss - of - function de novo CACNA1A mutations cause severe developmental epileptic encephalopathies in the spectrum of Lennox - Gastaut syndrome. 2019;(July):1881-1894. doi:10.1111/epi.16316
10. Burgos-Vega C, Moy J, Dussor G. Meningeal Afferent Signaling and the Pathophysiology of Migraine. In: *Molecular and Cell Biology of Pain.* Vol 131. 1st ed. Elsevier Inc.; 2015:537-564. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.01.001

11. Lewis DW. Pediatric Migraine. *Neurol Clin.* 2009;27(2):481-501. doi:10.1016/j.ncl.2008.11.003
12. Brennan KC, Pietrobon D. A Systems Neuroscience Approach to Migraine. *Neuron.* 2018;97(5):1004-1021. doi:10.1016/j.neuron.2018.01.029
13. Uchitel OD, Inchauspe CG, Urbano FJ, Di Guilmi MN. Ca V2.1 voltage activated calcium channels and synaptic transmission in familial hemiplegic migraine pathogenesis. *J Physiol Paris.* 2012;106(1-2):12-22. doi:10.1016/j.jphysparis.2011.10.004
14. Gene Reviews [Internet]. Jen JC. - Familial Hemiplegic Migraine;1993. [pristupljeno 18.02.2020.]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301562>.
15. Kazemi H, Speckmann E-J, Gorji A. Familial hemiplegic migraine and spreading depression. *Iran J child Neurol.* 2014;8(3):6-11. doi:10.5325/jmedirelicult.37.1.0060
16. Sutherland HG, Albury CL, Griffiths LR. Advances in genetics of migraine. *J Headache Pain.* 2019;20(1):72. doi:10.1186/s10194-019-1017-9
17. Mantegazza M, Cestèle S. Pathophysiological mechanisms of migraine and epilepsy: Similarities and differences. *Neurosci Lett.* 2018;667:92-102. doi:10.1016/j.neulet.2017.11.025
18. Haan J, Terwindt GM, Van Den Maagdenberg AMJM, Stam AH, Ferrari MD. A review of the genetic relation between migraine and epilepsy. *Cephalalgia.* 2008;28(2):105-113. doi:10.1111/j.1468-2982.2007.01460.x
19. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, et al. Familial Hemiplegic Migraine and Episodic Ataxia Type-2 Are Caused by Mutations in the Ca<sup>2+</sup> Channel Gene CACNL1A4. *Cell.* 1996;87(3):543-552. doi:10.1016/S0092-8674(00)81373-2
20. Vahedi K, Denier C, Ducros A, et al. CACNA1A gene de novo mutation causing hemiplegic migraine, coma, and cerebellar atrophy. *Neurology.* 2000;55(7):1040-1042. doi:10.1212/WNL.55.7.1040
21. Shibata M, Suzuki N. Exploring the role of microglia in cortical spreading depression in neurological disease. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017;37(4):1182-1191. doi:10.1177/0271678X17690537

22. Pietrobon D. *Biological Science of Headache Channels*. Vol 97. 1st ed. Elsevier B.V.; 2011. doi:10.1016/S0072-9752(10)97005-X
23. Pietrobon D. Insights into migraine mechanisms and Ca<sub>v</sub> 2.1 calcium channel function from mouse models of familial hemiplegic migraine. *J Physiol*. 2010;588(11):1871-1878. doi:10.1113/jphysiol.2010.188003
24. Pietrobon D. Calcium channels and migraine. *Biochim Biophys Acta - Biomembr*. 2013;1828(7):1655-1665. doi:10.1016/j.bbamem.2012.11.012
25. De Gusmao CM, Silveira-Moriyama L. Paroxysmal movement disorders—practical update on diagnosis and management. *Expert Rev Neurother*. 2019;19(9):807-822. doi:10.1080/14737175.2019.1648211
26. Orsucci D, Raglione LM, Mazzoni M, Vista M. Therapy of episodic ataxias: Case report and review of the literature. *Drugs Context*. 2019;8(Table 1):8-13. doi:10.7573/dic.212576
27. Jen JC, Graves TD, Hess EJ, Hanna MG, Griggs RC, Baloh RW. Primary episodic ataxias: Diagnosis, pathogenesis and treatment. *Brain*. 2007;130(10):2484-2493. doi:10.1093/brain/awm126
28. D'Angelo E. Neural circuits of the cerebellum: Hypothesis for function. *J Integr Neurosci*. 2011;10(3):317-352. doi:10.1142/S0219635211002762
29. Choi K-D, Choi J-H. Episodic Ataxias: Clinical and Genetic Features. *J Mov Disord*. 2016;9(3):129-135. doi:10.14802/jmd.16028
30. Kipfer S, Strupp M. The Clinical Spectrum of Autosomal-Dominant Episodic Ataxias. *Mov Disord Clin Pract*. 2014;1(4):285-290. doi:10.1002/mdc3.12075
31. Baloh RW. Episodic ataxias 1 and 2. *Handb Clin Neurol*. 2012;103:595-602. doi:10.1016/B978-0-444-51892-7.00042-5
32. Algahtani H, Shirah B, Algahtani R, Al-Qahtani MH, Abdulkareem AA, Naseer MI. A novel mutation in CACNA1A gene in a Saudi female with episodic ataxia type 2 with no response to acetazolamide or 4-aminopyridine. *Intractable Rare Dis Res*. 2019;8(1):67-71. doi:10.5582/irdr.2018.01133

33. Strupp M, Zwergal A, Brandt T. Episodic Ataxia Type 2. *Neurotherapeutics*. 2007;4(2):267-273. doi:10.1016/j.nurt.2007.01.014
34. Fernández-Alvarez E, Perez-Dueñas B. Paroxysmal movement disorders and episodic ataxias. *Handb Clin Neurol*. 2013;112:847-852. doi:10.1016/B978-0-444-52910-7.00004-0
35. Nachbauer W, Nocker M, Karner E, et al. Episodic ataxia type 2: Phenotype characteristics of a novel CACNA1A mutation and review of the literature. *J Neurol*. 2014;261(5):983-991. doi:10.1007/s00415-014-7310-2
36. Ahuja AS, Rozen TD, Atwal PS. A sleep modulated Channelopathy: A novel CACNA1A pathogenic variant identified in episodic Ataxia type 2 and a potential link to sleep alleviated migraine. *BMC Neurol*. 2019;19(1):1-3. doi:10.1186/s12883-019-1491-3
37. Guterman EL, Yurgionas B, Nelson AB. Pearls & Oysters: Episodic ataxia type 2. *Neurology*. 2016;86(23):e239-e241. doi:10.1212/wnl.0000000000002743
38. Coarelli G, Brice A, Durr A. Recent advances in understanding dominant spinocerebellar ataxias from clinical and genetic points of view. *F1000Research*. 2018;7(0):1781. doi:10.12688/f1000research.15788.1
39. Globas C, Bösch S, Zühlke C, Daum I, Dichgans J, Bürk K. The cerebellum and cognition: Intellectual function in spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). *J Neurol*. 2003;250(12):1482-1487. doi:10.1007/s00415-003-0258-2
40. Paulson HL, Shakkottai VG, Clark HB, Orr HT. Polyglutamine spinocerebellar ataxias — from genes to potential treatments. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(10):613-626. doi:10.1038/nrn.2017.92
41. Giocondo F, Curcio G. Spinocerebellar ataxia: a critical review of cognitive and socio-cognitive deficits. *Int J Neurosci*. 2018;128(2):182-191. doi:10.1080/00207454.2017.1377198
42. Wiethoff S, O'Connor E, Haridy NA, et al. Sequencing analysis of the SCA6 CAG expansion excludes an influence of repeat interruptions on disease onset. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018;89(11):1226-1227. doi:10.1136/jnnp-2017-317253

43. Du X, Gomez CM. Spinocerebellum ataxia type 6: Molecular mechanisms and calcium channel genetics. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1049:147-173. doi:10.1007/978-3-319-71779-1\_7
44. Ishikawa K, Watanabe M, Yoshizawa K, et al. Clinical, neuropathological, and molecular study in two families with spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999;67(1):86-89. doi:10.1136/jnnp.67.1.86
45. Mantuano E, Veneziano L, Jodice C, Frontali M. Spinocerebellar ataxia type 6 and episodic ataxia type 2: Differences and similarities between two allelic disorders. *Cytogenet Genome Res.* 2003;100(1-4):147-153. doi:10.1159/000072849
46. Gosalakkal JA, Swamy PM. Infantile Spinocerebellar Ataxia Type 6: Relationship to Episodic Ataxia Type 6. *Pediatr Neurol.* 2006;34(4):301-302. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2005.08.022
47. Jayabal S, Ljungberg L, Watt AJ. Transient cerebellar alterations during development prior to obvious motor phenotype in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 6. *J Physiol.* 2017;595(3):949-966. doi:10.1113/JP273184
48. Jacobi H, du Montcel ST, Bauer P, et al. Long-term disease progression in spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6: A longitudinal cohort study. *Lancet Neurol.* 2015;14(11):1101-1108. doi:10.1016/S1474-4422(15)00202-1
49. Ishikawa K, Owada K, Ishida K, et al. Cytoplasmic and nuclear polyglutamine aggregates in SCA6 Purkinje cells. *Neurology.* 2001;56(12):1753-1756. doi:10.1212/WNL.56.12.1753
50. Gierga K, Schelhaas HJ, Brunt ER, et al. Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6): Neurodegeneration goes beyond the known brain predilection sites. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2009;35(5):515-527. doi:10.1111/j.1365-2990.2009.01015.x
51. Rentiya Z, Khan N-S, Ergun E, Ying SH, Desmond JE. Distinct cerebellar regions related to motor and cognitive performance in SCA6 patients. *Neuropsychologia.* 2017;107(1):25-30. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2017.10.036
52. Rentiya ZS, Jung BC, Bae J, et al. Selective Patterns of Cognitive Impairment in Spinocerebellar Ataxia Type 6 and Idiopathic Late-Onset Cerebellar Ataxia. *Arch Clin Neuropsychol.* 2018;33(4):427-436. doi:10.1093/arclin/acx077

53. Du X, Wang J, Zhu H, et al. Second Cistron in CACNA1A Gene Encodes a Transcription Factor Mediating Cerebellar Development and SCA6. *Cell*. 2013;154(1):118-133. doi:10.1016/j.cell.2013.05.059
54. Komeichi K, Sasaki H, Yabe I, Yamashita I, Kikuchi S, Tashiro K. Twenty CAG repeats are sufficient to cause the SCA6 phenotype. *J Med Genet*. 2001;38(11):6-7. doi:10.1136/jmg.38.11.e38
55. Gomez CM. Polyglutamine aggregates in SCA6 Purkinje cells: A tail of two toxicities. *Neurology*. 2001;56(12):1618-1619. doi:10.1212/WNL.56.12.1618
56. Kordasiewicz HB, Thompson RM, Clark HB, Gomez CM. C-termini of P/Q-type Ca<sup>2+</sup> channel  $\alpha$ 1A subunits translocate to nuclei and promote polyglutamine-mediated toxicity. *Hum Mol Genet*. 2006;15(10):1587-1599. doi:10.1093/hmg/ddl080
57. Miyazaki Y, Du X, Muramatsu S, Gomez CM. An miRNA-mediated therapy for SCA6 blocks IRES-driven translation of the CACNA1A second cistron. *Sci Transl Med*. 2016;8(347):347ra94-347ra94. doi:10.1126/scitranslmed.aaf5660
58. Bavassano C, Eigentler A, Stanika R, et al. Bicistronic CACNA1A Gene Expression in Neurons Derived from Spinocerebellar Ataxia Type 6 Patient-Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells Dev*. 2017;26(22):1612-1625. doi:10.1089/scd.2017.0085
59. Pastor PDH, Du X, Fazal S, Davies AN, Gomez CM. Targeting the CACNA1A IRES as a Treatment for Spinocerebellar Ataxia Type 6. *The Cerebellum*. 2018;17(1):72-77. doi:10.1007/s12311-018-0917-6
60. García-Baró-Huarte M, Iglesias-Mohedano AM, Slöcker-Barrio M, et al. Phenotypic variability in a four generation family with a p.Thr666Met CACNA1A gene mutation. *Pediatr Neurol*. 2014;51(4):557-559. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2014.07.008
61. Naik S, Pohl K, Malik M, Siddiqui A, Josifova D. Early-onset cerebellar atrophy associated with mutation in the CACNA1A gene. *Pediatr Neurol*. 2011;45(5):328-330. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2011.08.002
62. Wada T, Kobayashi N, Takahashi Y, Aoki T, Watanabe T, Saitoh S. Wide clinical variability in a family with a CACNA1A T666m mutation: hemiplegic migraine, coma, and progressive ataxia. *Pediatr Neurol*. 2002;26(1):47-50. doi:10.1016/S0887-8994(01)00371-X



63. Valence S, Cochet E, Rougeot C, et al. Exome sequencing in congenital ataxia identifies two new candidate genes and highlights a pathophysiological link between some congenital ataxias and early infantile epileptic encephalopathies. *Genet Med*. 2019;21(3):553-563. doi:10.1038/s41436-018-0089-2
64. Guerin AA, Feigenbaum A, Donner EJ, Yoon G. Stepwise Developmental Regression Associated With Novel CACNA1A Mutation. *Pediatr Neurol*. 2008;39(5):363-364. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2008.07.030
65. Yamazaki S, Ikeno K, Abe T, Tohyama J, Adachi Y. Hemiconvulsion-hemiplegia-epilepsy syndrome associated with CACNA1A S218L mutation. *Pediatr Neurol*. 2011;45(3):193-196. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2011.04.010
66. Damaj L, Lupien-Meilleur A, Lortie A, et al. CACNA1A haploinsufficiency causes cognitive impairment, autism and epileptic encephalopathy with mild cerebellar symptoms. *Eur J Hum Genet*. 2015;23(11):1505-1512. doi:10.1038/ejhg.2015.21
67. Indelicato E, Nachbauer W, Karner E, et al. The neuropsychiatric phenotype in CACNA1A mutations: a retrospective single center study and review of the literature. *Eur J Neurol*. 2019;26(1):66. doi:10.1111/ene.13765
68. Humbertclaude V, Riant F, Krams B, et al. Cognitive impairment in children with CACNA1A mutations. *Dev Med Child Neurol*. 2020;62(3):330-337. doi:10.1111/dmcn.14261
69. Freilinger T, Bohe M, Wegener B, Müller-Myhsok B, Dichgans M, Knoblauch H. Expansion of the phenotypic spectrum of the CACNA1A T666M mutation: A family with familial hemiplegic migraine type 1, cerebellar atrophy and mental retardation. *Cephalalgia*. 2008;28(4):403-407. doi:10.1111/j.1468-2982.2008.01540.x
70. Long S, Zhou H, Li S, et al. The clinical and genetic features of co-occurring epilepsy and autism spectrum disorder in Chinese Children. *Front Neurol*. 2019;10(MAY). doi:10.3389/fneur.2019.00505
71. Liu J, Tong L, Song S, et al. Novel and de novo mutations in pediatric refractory epilepsy. *Mol Brain*. 2018;11(1):1-18. doi:10.1186/s13041-018-0392-5

72. Kothur K, Holman K, Farnsworth E, et al. Diagnostic yield of targeted massively parallel sequencing in children with epileptic encephalopathy. *Seizure*. 2018;59:132-140. doi:10.1016/j.seizure.2018.05.005
73. Tavyev Asher YJ, Scaglia F. Molecular bases and clinical spectrum of early infantile epileptic encephalopathies. *Eur J Med Genet*. 2012;55(5):299-306. doi:10.1016/j.ejmg.2012.04.002
74. Noh GJ, Jane Tavyev Asher Y, Graham JM. Clinical review of genetic epileptic encephalopathies. *Eur J Med Genet*. 2012;55(5):281-298. doi:10.1016/j.ejmg.2011.12.010
75. Myers CT, McMahon JM, Schneider AL, et al. De Novo Mutations in SLC1A2 and CACNA1A Are Important Causes of Epileptic Encephalopathies. *Am J Hum Genet*. 2016;99(2):287-298. doi:10.1016/j.ajhg.2016.06.003
76. Jiang X, Raju PK, D'Avanzo N, et al. Both gain-of-function and loss-of-function de novo CACNA 1A mutations cause severe developmental epileptic encephalopathies in the spectrum of Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsia*. 2019;60(9):1881-1894. doi:10.1111/epi.16316
77. M. Christopher AMLS. De novo mutations in epileptic encephalopathies. *Nature*. 2013;501(7466):217-221. doi:10.1038/nature12439
78. Ohmori I, Ouchida M, Kobayashi K, et al. CACNA1A variants may modify the epileptic phenotype of Dravet syndrome. *Neurobiol Dis*. 2013;50(1):209-217. doi:10.1016/j.nbd.2012.10.016
79. Hayashida T, Saito Y, Ishii A, et al. CACNA1A-related early-onset encephalopathy with myoclonic epilepsy: A case report. *Brain Dev*. 2018;40(2):130-133. doi:10.1016/j.braindev.2017.08.006
80. Epperson M V., Haws ME, Standridge SM, Gilbert DL. An Atypical Rett Syndrome Phenotype Due to a Novel Missense Mutation in CACNA1A. *J Child Neurol*. 2018;33(4):286-289. doi:10.1177/0883073818754987
81. Reinson K, Öiglanc-Shlik E, Talvik I, et al. Biallelic CACNA1A mutations cause early onset epileptic encephalopathy with progressive cerebral, cerebellar, and optic nerve atrophy. *Am J Med Genet Part A*. 2016;170(8):2173-2176. doi:10.1002/ajmg.a.37678

82. Lv Y, Wang Z, Liu C, Cui L. Identification of a novel CACNA1A mutation in a Chinese family with autosomal recessive progressive myoclonic epilepsy. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2017;13:2631-2636. doi:10.2147/NDT.S145774
83. Auvin S, Holder-Espinasse M, Lamblin M-D, Andrieux J. Array-CGH detection of a de novo 0.7-Mb deletion in 19p13.13 including CACNA1A associated with mental retardation and epilepsy with infantile spasms. *Epilepsia.* 2009;50(11):2501-2503. doi:10.1111/j.1528-1167.2009.02189.x
84. Hino-Fukuyo N, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, et al. Genomic analysis identifies candidate pathogenic variants in 9 of 18 patients with unexplained West syndrome. *Hum Genet.* 2015;134(6):649-658. doi:10.1007/s00439-015-1553-6
85. Kuroda Y, Mizuno Y, Mimaki M, et al. Two patients with 19p13.2 deletion (Malan syndrome) involving NFIX and CACNA1A with overgrowth, developmental delay, and epilepsy. *Clin Dysmorphol.* 2017;26(4):224-227. doi:10.1097/MCD.0000000000000185
86. Nimmakayalu M, Horton VK, Darbro B, et al. Apparent Germline Mosaicism for a Novel 19p13.13 Deletion Disrupting NFIX and CACNA1A. *Am J Med Genet Part A.* 2013;161(5):1105-1109. doi:10.1002/ajmg.a.35790
87. Coutelier M, Blesneac I, Monteil A, et al. A recurrent mutation in CACNA1G alters Cav3.1 T-type calcium-channel conduction and causes autosomal-dominant cerebellar ataxia. *Am J Hum Genet.* 2015;97(5):726-737. doi:10.1016/j.ajhg.2015.09.007
88. Gorman KM, Meyer E, Grozeva D, et al. Bi-allelic Loss-of-Function CACNA1B Mutations in Progressive Epilepsy-Dyskinesia. *Am J Hum Genet.* 2019;104(5):948-956. doi:10.1016/j.ajhg.2019.03.005
89. Groen JL, Andrade A, Ritz K, et al. CACNA1B mutation is linked to unique myoclonus-dystonia syndrome. *Hum Mol Genet.* 2015;24(4):987-993. doi:10.1093/hmg/ddu513
90. Bozarth X, Dines JN, Cong Q, et al. Expanding clinical phenotype in CACNA1C related disorders: From neonatal onset severe epileptic encephalopathy to late-onset epilepsy. *Am J Med Genet Part A.* 2018;176(12):2733-2739. doi:10.1002/ajmg.a.40657

91. Moon AL, Haan N, Wilkinson LS, Thomas KL, Hall J. CACNA1C: Association with psychiatric disorders, behavior, and neurogenesis. *Schizophr Bull.* 2018;44(5):958-965. doi:10.1093/schbul/sby096
92. Pinggera A, Mackenroth L, Rump A, et al. New gain-of-function mutation shows CACNA1D as recurrently mutated gene in autism spectrum disorders and epilepsy. *Hum Mol Genet.* 2017;26(15):2923-2932. doi:10.1093/hmg/ddx175
93. Pinggera A, Striessnig J. Cav1.3 (CACNA1D) L-type Ca<sup>2+</sup> channel dysfunction in CNS disorders. *J Physiol.* 2016;594(20):5839-5849. doi:10.1113/JP270672
94. Helbig KL, Lauerer RJ, Bahr JC, et al. De Novo Pathogenic Variants in CACNA1E Cause Developmental and Epileptic Encephalopathy with Contractures, Macrocephaly, and Dyskinesias. *Am J Hum Genet.* 2018;103(5):666-678. doi:10.1016/j.ajhg.2018.09.006
95. Carvill GL. Calcium Channel Dysfunction in Epilepsy: Gain of CACNA1E. *Epilepsy Curr.* 2019;19(3):199-201. doi:10.1177/1535759719845324
96. Heyne HO, Singh T, Stamberger H, et al. De novo variants in neurodevelopmental disorders with epilepsy. *Nat Genet.* 2018;50(7):1048-1053. doi:10.1038/s41588-018-0143-7
97. Li X, Zhou C, Cui L, et al. A case of a novel CACNA1G mutation from a Chinese family with SCA42: A case report and literature review. *Med (United States).* 2018;97(36):1-5. doi:10.1097/MD.00000000000012148
98. Morino H, Matsuda Y, Muguruma K, et al. A mutation in the low voltage-gated calcium channel CACNA1G alters the physiological properties of the channel, causing spinocerebellar ataxia. *Mol Brain.* 2015;8(1):1-9. doi:10.1186/s13041-015-0180-4
99. Kimura M, Yabe I, Hama Y, et al. SCA42 mutation analysis in a case series of Japanese patients with spinocerebellar ataxia. *J Hum Genet.* 2017;62(9):857-859. doi:10.1038/jhg.2017.51
100. Chemin J, Siquier-Pernet K, Nicouveau M, et al. De novo mutation screening in childhood-onset cerebellar atrophy identifies gain-of-function mutations in the CACNA1G calcium channel gene. *Brain.* 2018;141(7):1998-2013. doi:10.1093/brain/awy145
101. Barresi S, Dentici ML, Manzoni F, et al. Infantile-Onset Syndromic Cerebellar Ataxia and CACNA1G Mutations. *Pediatr Neurol.* 2020;104:40-45. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2019.09.005

102. Feng YCA, Howrigan DP, Abbott LE, et al. Ultra-Rare Genetic Variation in the Epilepsies: A Whole-Exome Sequencing Study of 17,606 Individuals. *Am J Hum Genet.* 2019;105(2):267-282. doi:10.1016/j.ajhg.2019.05.020
103. Calhoun JD, Hawkins NA, Zachwieja NJ, Kearney JA. Cacna1g is a genetic modifier of epilepsy in a mouse model of Dravet syndrome. *Epilepsia.* 2017;58(8):e111-e115. doi:10.1111/epi.13811
104. Lee CG, Lee J, Lee M. Multi-gene panel testing in Korean patients with common genetic generalized epilepsy syndromes. *PLoS One.* 2018;13(6):1-15. doi:10.1371/journal.pone.0199321
105. Yalin Ö. Genes and molecular mechanisms involved in the epileptogenesis of idiopathic absence epilepsies. *Seizure.* 2012;21(2):79-86. doi:10.1016/j.seizure.2011.12.002
106. Chourasia N, Ossó-Rivera H, Ghosh A, Von Allmen G, Koenig MK. Expanding the Phenotypic Spectrum of CACNA1H Mutations. *Pediatr Neurol.* 2019;93:50-55. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2018.11.017
107. Han JY, Jang JH, Park J, Lee IG. Targeted next-generation sequencing of Korean patients with developmental delay and/or intellectual disability. *Front Pediatr.* 2018;6(December):1-9. doi:10.3389/fped.2018.00391
108. Calhoun JD, Huffman AM, Bellinski I, et al. CACNA1H variants are not a cause of monogenic epilepsy. *Hum Mutat.* 2020;089858:0-3. doi:10.1002/humu.24017
109. Becker F, Reid CA, Hallmann K, et al. Functional variants in HCN4 and CACNA1H may contribute to genetic generalized epilepsy. *Epilepsia Open.* 2017;2(3):334-342. doi:10.1002/epi4.12068
110. Heron SE, Khosravani H, Varela D, et al. Extended spectrum of idiopathic generalized epilepsies associated with CACNA1H functional variants. *Ann Neurol.* 2007;62(6):560-568. doi:10.1002/ana.21169
111. Carter MT, McMillan HJ, Tomin A, Weiss N. Compound heterozygous CACNA1H mutations associated with severe congenital amyotrophy. *Channels.* 2019;13(1):153-161. doi:10.1080/19336950.2019.1614415
112. Wheless JW, Gienapp AJ, Ryvlin P. Vagus nerve stimulation (VNS) therapy update. *Epilepsy Behav.* 2018;88:2-10. doi:10.1016/j.yebeh.2018.06.032

113. Yuan H, Silberstein SD. Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part III. *Headache*. 2016;56(3):479-490. doi:10.1111/head.12649
114. Petrovski S, Wang Q, Heinzen EL, Allen AS, Goldstein DB. Genic Intolerance to Functional Variation and the Interpretation of Personal Genomes. *PLoS Genet*. 2013;9(8). doi:10.1371/journal.pgen.1003709
115. Frankel WN. Genetics of complex neurological disease: challenges and opportunities for modeling epilepsy in mice and rats. *Trends Genet*. 2009;25(8):361-367. doi:10.1016/j.tig.2009.07.001

## 12. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Zadru 4. lipnja 1995. godine. Pohađala sam OŠ Petra Preradovića i Gimnaziju Jurja Barakovića u Zadru.

Studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisala sam u akademskoj godini 2014./15.

Ljubav prema volontiranju iz srednje škole prenijela sam u Zagreb te sam u akademskoj godini 2017./18. volontirala u Udruzi za pomoć djeci i oboljelima suočenim s malignim bolestima "Krijesnica", a od iste godine volontiram u Specijalnoj bolnici za kronične bolesti dječje dobi Gornja Bistra.

Članica sam Studentske linije za rijetke bolesti pri Hrvatskom savezu za rijetke bolesti. Zajedno s kolegama organizirala sam 1. studentski skup o rijetkim bolestima koji se održao 29. veljače 2020. godine.

Od akademske godine 2018./19. jedna sam od voditeljica Studentske sekcije za pedijatriju.

U slobodno vrijeme uživam u čitanju.