

М. А. Тріщинська, В. О. Свистільник

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
Київ, Україна

M. A. Trishchynskaya, V. A. Svystilnyk

Shupyk National Medical Academy of postgraduate education
Kyiv, Ukraine

РОЛЬ КЛІНІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ НЕВРОЛОГІЧНИХ СИМПТОМІВ ПРИ ГЕНЕТИЧНИХ ХВОРОБАХ

The neurological symptoms clinical diagnostics role in patients with genetic diseases

Резюме

Мета роботи. Проаналізувати особливості прояву неврологічних симптомів синдрому дефіциту транспортера глюкози I типу (*Glut1 Deficiency*) та його диференційну діагностику.

Основними клінічними симптомами синдрому *Glut1 Deficiency* є напади судом, порушення руху: парези, паралічі, екстрапірамідна симптоматика (пароксизмальні дискінезії, баллізм, тремор, атетоз, дистонії), порушення координації (атаксії). Затримки рухового, пізнавального розвитку, поведінкові розлади, головні болі доповнюють клінічну симптоматику даного синдрому. Ступінь виразності і тяжкість симптомів при синдромі *Glut1 Deficiency* нерівномірна протягом доби і пов'язана з періодами харчування пацієнта.

В статті представлений план діагностики нейродегенеративних хвороб для проведення їх диференціальної діагностики і наступної ідентифікації діагнозу.

Ключові слова: діагностика нейродегенеративних хвороб, синдром дефіциту транспортеру глюкози I типу.

Abstract

The purpose of the study. The aim of the publication was to make analysis neurological symptoms peculiarities in patients with the glucose transporter type I deficiency syndrome and to make differential diagnostics with other diseases. There are main clinical symptoms in the patients with glucose transporter type I deficiency syndrome. They include attacks of seizures, movement disorders: paresis, plegia, paroxysmal induced dyskinesias, ballismus, tremor, athetosis, dystonia, ataxia. The glucose transporter type I deficiency syndrome clinical characteristics have been added by the delays of the movement, cognitive development, behavior disorders, head ache. Hardness of the clinical symptoms may fluctuate during a day and depends from the period of eating.

The plan for differentiation diagnostics and identification of the neurodegenerative diseases was presented in the article.

Keywords: neurodegenerative diseases diagnostics, glucose transporter type I deficiency syndrome.

ВСТУП

Проблеми диференціальної діагностики спадкових метаболічних синдромів, що проявляються в дитячому віці руховими, поведінковими та пізнавальними розладами, залишаються актуальними [1, 15]. Нові технології в генетиці, зокрема ДНК – діагностика, допомагають виявляти делеції, дуплікації та інші генетичні аномалії [7, 10, 17]. Однак, аналіз даних анамнезу, клінічного обстеження, співставлення особливостей дебюту, перебігу, прогресування симптомів захворювання і результатів генетич-

ного обстеження є ключовим в підтвердженні правильного клінічного діагнозу.

МЕТА РОБОТИ

Проаналізувати особливості прояву неврологічних симптомів при синдромі дефіциту транспортера глюкози I типу (*Glut1 Deficiency*) та його диференціальну діагностику.

АКТУАЛЬНИЙ ТЕКСТ

В патогенезі ряду захворювань центральної

нервової системи (ЦНС), які на перший погляд мають різну природу, наприклад дисметаболическу, спадкову та іншу, ключову роль відіграє судинний чинник, який обумовлений структурно-функціональними порушеннями внутрішнього шару судин – церебрального ендотелію.

Вздовж судинного дерева організму людини ендотелій виявляє високого рівня структурну та функціональну гетерогенність. В ЦНС існує поняття про «нейросудинну одиницю» (НСО) – концептуальну структуру, яка пов'язує мікросудини головного мозку з функцією нейронів та обумовлює відповідь на ушкодження [18]. НСО складається з моношару ендотеліальних клітин, з'єднаних щільними контактами, які залягають на базальній мембрані, перицитів, гладеньком'язових клітин, ніжок астроцитів, мікроглії та нервових закінчень. Клітини, що циркулюють у крові, такі як поліморфноядерні клітини, лімфоцити та моноцити також є частиною НСО, за рахунок щільної взаємодії з люмінальною поверхньою ендотеліальних клітин та їх роллю у імунному нагляді. ГЕБ є інтегрованою частиною НСО. ГЕБ утворений високоспеціалізованими ендотеліальними клітинами, ніжками астроцитів та перицитами, які разом складають динамічний інтерфейс, що відокремлює мозок від системи кровообігу [11]. Щільні контакти (tight junctions) – складаються з трьох основних груп білків – трансмембранних білків (клаудинів та окклюдинів), білків з цитоскелету (актин) та допоміжних білків. Структурно вони взаємодіють для формування мережі трансмембранних і цитоплазматичних білків, пов'язаних з цитоскелетом на основі актину, що дозволяє щільним контактам формувати бар'єр з можливістю швидкого моделювання та регулювання.

Ендотеліальні клітини дрібних паренхіматозних судин головного мозку є однією з основних частин гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) та представляють особливий фенотип клітин без фенестр, з щільними контактами та не вираженим піноцитарним транспортом. Цей бар'єр дозволяє суворо контролювати обмін розчинами та клітинами між плазмою та інтерстиціальним простором головного мозку. Церебральний ендотелій у більшій частині головного мозку з'єднаний, за допомогою щільних контактів (tight junctions) та виконує функцію «фізичного бар'єру», який попереджає рух молекул між кров'ю та головним мозком [16]. ГЕБ також виступає в ролі «транспортного бар'єру», за рахунок специфічних транспортних систем, які регулюють трансцелюлярний рух малих гідрофільних молекул, а також, як «метаболический бар'єр», за рахунок комбінації внутрішньоклітинних та екстрацелюлярних ферментів [4].

Глюкоза є основним джерелом енергії у головному мозку ссавців, а постійна присутність даного субстрату є необхідною умовою для нор-

мального функціонування мозку [2, 24]. В головному мозку глюкоза швидко окислюється (катаболізується), що обумовлює зниження градієнту гексози у напрямку від крові до міжклітинної рідини мозку. Транспорт глюкози в мозок забезпечується білками полегшеного транспортування. Доставка глюкози з крові відбувається через ендотеліоцити ГЕБ, плазматичні мембрани нейронів та глії.

Існує декілька напрямків взаємодії між нейронами і астроцитами. А саме, глюкоза, яка використовується астроцитами утилізується до лактату, який в свою чергу вивільнюється у міжклітинний простір [5]. Лактат з інтерстиціального простору захоплюється нейронами і виступає в якості додаткового джерела енергії. Астроцити формують перший клітинний шлях глюкози до мозку, які ідеально розташовані для забезпечення спряження між активністю нейронів та захопленням глюкози.

В мозку виділяють декілька ізоформ транспортних систем глюкози GLUT, які регулюють рівень глюкози у головному мозку, а саме GLUT 1 (Human Genome Organization, HUGO, складає SLC2A1), 3 (SLC2A3) і 8 (SLC2A8) [13]. GLUT 1 є універсальним переносником глюкози, який рясно представлений у мозку; він експресується ексклюзивно у мозкових бар'єрах, особливо на люмінальній мембрані ендотеліальних клітин паренхіматозних судин мозку та хоріоїдального сплетення. Експресія на мембрані GLUT 1 контролюється гіпоксія-регулюючим фактором 1 (hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1), який є ключовим регулятором адаптації клітин до зниженого парціального тиску кисню [22]. Білок HIF-1 α нестабільний при фізіологічному рівні кисню і постійно руйнується під впливом проліл гідроксилаз [23]. Під час гіпоксії, білок HIF-1 α стабілізується в результаті зниження активності проліл гідроксилаз, зв'язується з білком HIF-1 β , переміщується в ядро, в результаті чого активується гіпоксія-опосередковані cis-елементи (зони ДНК, які не кодують, але регулюють транскрипцію розташованих поряд генів) [8]. Таким чином, білок HIF-1 активує декілька генів, які залучені до процесу ангиогенезу і регуляції метаболізму, включно з генами, які регулюють захоплення та утилізацію глюкози [22]. Так, є дані, що транзиторна ішемія мозку супроводжується підвищенням рівня HIF-1 та експресією GLUT 1 [9].

Експресія GLUT 1 в ГЕБ знаходиться під впливом астроцитів і гліальних клітин. Іншими словами, коли мозок потребує підвищеного вмісту глюкози, експресія GLUT 1 на поверхні ендотеліальних клітин мозку збільшується. Було виявлено, що астроцити в умовах гіпоксії вивільняють гуморальний фактор, який підвищує експресію GLUT 1 на поверхні ендотеліальних клітин мозку [21].

Рівень глюкози у спинномозковій рідині

складає 50–60% від рівня глюкози у плазмі крові, що створює від'ємний градієнт концентрації глюкози у лікворі. Встановлено, що існує Na⁺-незалежна система переносу глюкози з капілярів хоріоїдального сплетення у цереброспінальну рідину [12].

Синдром дефіциту транспортера глюкози типу 1 (в англійській літературі – Glut 1 DS) відноситься до генетичних хвороб, при якому порушується транспорт глюкози через ГЕБ і виникають розлади церебрального метаболізму. Виявлення мутації гену SLC2A1 на підставі сучасних генетичних методів підтверджує даний діагноз. Однак, у 10–15% таких хворих, за даними літератури, зазначена мутація залишається не ідентифікованою [6]. Синтез Glut1 протеїну забезпечує ген SLC2A1, який знаходиться на першій парі хромосом. Мутації даного гену призводять до синтезу Glut1 протеїну в недостатній кількості і передусім, до порушення транспорту глюкози через ГЕБ [2].

У зв'язку з цим, у хворих з синдромом дефіциту транспортера глюкози типу 1 відбуваються значні метаболічні розлади у вигляді недоотримання головним мозком глюкози, що призводить до порушень його нормального росту та функціонування. Наслідком церебрального дефіциту глюкози у пацієнтів є напади судом, альтернуюча геміплегія, головний біль, дизартрія, опсоклонус, мікроцефалія, порушення контролю рухової активності, в тому числі атаксія, труднощі навчання і комунікацій, гіперкінези по типу хореї або дистонії. Такі симптоми формують клінічну симптоматику синдрому Glut1 Deficiency [6]. Умовно клінічну симптоматику синдрому Glut1 DS можна розподілити на такі категорії:

1. Епілептичні випадки;
2. Порушення руху;
3. Порушення пізнавальних функцій і поведінки.

Однак, не всі пацієнти з даним синдромом мають однакову частоту і тяжкість зазначених симптомів.

КЛІНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Спектр проявів синдрому дефіциту транспортера глюкози типу 1, за фенотипом включає класичний синдром, пароксизмальну форму (дискинезія, яка провокується фізичним навантаженням), епілепсію (первинно відому як дистонія 18 – DYT 18), пароксизмальний хореоатетоз зі спастичністю (раніше відомий, як дистонія 9 – DYT 9), атипову дитячу форму без епілепсії, міоклонічну астатичну епілепсію, пароксизмальні неепілептичні явища, включаючи тимчасову атаксію, хореоатетоз, дистонію та переміжну геміплегію.

Класична форма характеризується раннім початком судом (до 6 місяців), затримкою неврологічного розвитку, набутими мікроцефаліями

і складними руховими розладами. Судоми при цій формі мають декілька типів: генералізовані тонічні або клонічні, фокальні, міоклонічні, атипові абсанси, атонічні та ті, що не класифікуються. У деяких немовлят епізоди апное та аномальні епізодичні рухи очей, подібні до опсоклонусу, можуть передувати початку судом. Припадки найчастіше виявляються у вигляді кивків і стрімких рухів тулуба і кінцівок, міоклонусу. Частота, тяжкість і тип судом відрізняються серед хворих і не пов'язані з тяжкістю захворювання [6]. Відомо, що для епілептичних випадків при синдромі Glut1 Deficiency є характерною фармакорезистентність до антиепілептичних препаратів [6, 14].

Типовим є когнітивні порушення, починаючи від незначних труднощів у навчанні до важкої інтелектуальної недостатності, системного недорозвинення мовлення. Складні розлади руху, що характеризуються атаксією, дистонією і хореєю, можуть виникати в будь-якій комбінації і можуть бути безперервним, пароксизмальним або постійним з коливаннями тяжкості, на які впливають фактори навколишнього середовища, такі як голодування або інфекції.

Поведінкові розлади часто включають дефіцит уваги, девіантні форми поведінки, що обумовлює складнощі виховання дітей. Соціалізовані і несоціалізовані форми порушень поведінки часто супроводжуються емоційно – вольовими розладами.

Порушення рухової функції у дітей з синдромом Glut1 Deficiency спостерігається в формі розладів функцій екстрапірамідної системи (пароксизмальних дискинезій, баллізму, тремору, атетозу, дистоній), порушень координації рухів (атаксії), які впливають на якість моторних функцій. Затримки рухового розвитку дітей, обмеження активності довільних рухів (парези), знижена м'язова сила і патологічні рефлексії, порушений м'язовий тонус (найчастіше у вигляді гіпертонусу, спастичності м'язів, дистоній, рідше – м'язової гіпотонії), впливають на розвиток і рівень функціональної активності дитини та формування навичок самообслуговування.

Тяжкість і ступінь виразності зазначених симптомів коливається протягом доби і залежить від часу прийому їжі дитиною, зокрема найбільша обмеженість рухової активності пацієнтів з синдромом Glut1 Deficiency спостерігається вранці натщесерце після пробудження [6].

Клінічно представлений симптомокомплекс обґрунтовує необхідність диференціальної діагностики синдрому Glut1 Deficiency з іншою патологією. Стратегічно в діагностиці нейродегенеративних хвороб мають бути здійснені такі кроки:

1. Аналіз анамнестичних даних і уточнення інформації щодо перебігу перинатального періоду (вагітності, пологів, неонатального

періоду), ускладнення якого нерідко є причиною затримок рухового, мовленнєвого, пізнавального розвитку дитини. Зокрема, передчасні пологи в анамнезі, народження немовлят з ознаками незрілості свідчить на користь генетичних або метаболічних спадкових хвороб.

2. Виявлення провідного неврологічного симптомокомплексу у вигляді порушень руху, а саме парезів, паралічів, гіперкінетичного синдрому, порушень координації (статична і динамічна атаксія) в поєднанні з порушеннями здатності до пізнання і мовного розвитку. Уповільнення темпу зростання об'єму голови дитини (мікроцефалія) є ознакою існуючої причини затримок розвитку дітей.

3. В диференціальній діагностиці спадкових метаболічних хвороб надзвичайно важливим є уточнення факту прогресування симптомів захворювання. Наявність прогресивності перебігу – поява нових клінічних симптомів хвороби, поглиблення ступеню виразності існуючих проявів захворювання, втрата пацієнтом рухових навиків, наростання пізнавальних, мовних та інших розладів є важливою клінічною ознакою прогресуючих генетичних хвороб.

4. Поєднання неврологічних симптомів з іншими порушеннями. Ознаки ураження внутрішніх органів, наприклад, при хворобах накопичення і метаболічних синдромах. Поява атрофії зорового нерва, пігментної дегенерації сітківки, падіння гостроти зору в поєднанні з формуванням парезів і паралічів, порушеннями координації рухів при нейрональних цероїдних ліпофусцинозах є важливими кардинальними симптомами даної патології. З метою діагностики хромосомних синдромів важливо оцінювати фенотип пацієнта, наявність ознак дисморфізму.

5. Результати додаткових методів обстеження: КТ і МРТ дозволяють підтвердити структурні зміни мозку. Пацієнти переважно з руховими розладами, ознаками незрілості при народженні або перинатальними ускладненнями мають ризик перивентрикулярної лейкомаляції. Призначення МРТ надає можливість ідентифікувати причину ураження мозку. Аналіз результатів електроенцефалографії у вигляді змін біоелектричної активності мозку доповнюють інформацію, за результатами клінічного обстеження хворого.

6. Методи ідентифікації, до яких відносяться каріотипування, ферментна діагностика, аналіз метаболітів, ДНК – діагностика, порівняльна геномна гібридизація та інші надають можливість верифікації клінічного діагнозу.

Діагностика синдрому Glut1 Deficiency передбачає оцінку рівня глюкози в лікворі: зниження рівня співвідношення глюкози ліквор/кров менше 0,4, типово для даного діагнозу. Діагноз Glut1 DS встановлюється у пробандів з відповідними клінічними симптомами, нормальною концентрацією глюкози в крові, концентрацією

глюкози у лікворі < 60 мг/дл, та ідентифікацією гетерозиготного варіанта (або рідше, двоалельних патогенних варіантів) в SLC2A1 шляхом молекулярного генетичного тестування. Додатково може бути проведено дослідження поглинання 3-О-метил-D-глюкози в еритроцитах; результати в межах 35–74% мають діагностичне значення.

Протиепілептичні препарати нерідко бувають неефективними при лікуванні епілептичних випадків, обумовлених нейродегенеративними хворобами [6, 14]. Відомо, що кетогенна дієта виявляється ефективним альтернативним методом терапії ряду фармакорезистентних форм епілепсії [3, 6]. Своєчасне призначення кетогенної дієти при синдромі Glut1 Deficiency запобігає затримкам розвитку, розладам поведінки, забезпечує покращення рухової активності і пізнавальних функцій дітей, сприяє досягненню контролю епілептичних випадків у таких пацієнтів.

ВИСНОВКИ

Діагноз спадкових метаболічних синдромів, зокрема синдрому Glut1 Deficiency є клінічним, а сучасні методи діагностики та дані лабораторного обстеження ліквору підтверджують його.

Диференціальна діагностика затримок розвитку і порушень руху у хворих потребує уточнення етіології, в зв'язку з чим мають бути призначені додаткові методи ідентифікації діагнозу після аналізу анамнестичних даних і результатів клінічного обстеження дитини.

Диференціальна діагностика синдрому дефіциту транспортера глюкози типу 1 (Glut1 DS) включає таке:

1. Інші причини нейроглікопенії, включаючи умови, що викликають хронічну або переривчасту гіпоглікемію (наприклад, сімейний гіперінсулінізм);
2. Всі причини виникнення новоутворень у новонароджених та придбаній мікроцефалії; зокрема, ранній розвиток синдрому Ретта, синдрому Ангельмана та інфантильних форм нейронального цероїд-ліпофусцинозу;
3. Синдром опсоклонус-міоклонус [19, 20];
4. Криптогенні епілептичні енцефалопатії із затримками розвитку;
5. Сімейні епілепсії з аутосомно-домінантним типом успадкування;
6. Епізоди пароксизмальної неврологічної дисфункції, що пов'язана або її можливо уникнути прийомом вуглеводів, особливо при появі переміжного геміпарезу, атаксії, когнітивної дисфункції або судом.
7. Порушення рухової функції, включаючи дистонію.

Призначення альтернативних методів лікування (кетогенної дієти) та її ефективність при генетичних хворобах, зокрема у хворих з синдромом Glut1 Deficiency, підтверджує необхідність і важливість правильного діагнозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Aicardi J, Hanefeld F. Nasledstvennye degenerativnye zbolevanija. In the book: Aicardi J (ed.), Bax M, Gillberg Ch. et al. Zbolevanija nervnoy sistemy u detey (vol. 1). Moskva, Izdatelstvo Panfilova. BINOM Laboratorija znaniy, 2013, pp. 360–420.
2. Trishchynskaya MA, Dziak LA, Glumcher FS. Infuzionnaya terapiya pri nevrologicheskikh zbolevaniyah. In the book: Glumcher FS (ed.), Kligunenko EN, Dziak LA et al. Infuzionno- Transfuzionnaya terapija (uchebnoe posobie dlja vrachey). Kyiv, Izdatel Zaslavskiy A, 2018, pp. 366–400.
3. Svystilnyk VO. Ketogenna dieta – metod likuvannia refracternyh form epilepsiy u ditey. *Liky Ukrainy plus*. 2014; 1 (18): 38-40.
4. Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci*. 2006; 7 (1): 41–53. DOI:10.1038/nrn1824.
5. Abi-Saab WM, Maggs DG, Jones T et al. Striking differences in glucose and lactate levels between brain extracellular fluid and plasma in conscious human subjects: effects of hyperglycemia and hypoglycemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002; 22 (3): 271–279. DOI: 10.1097/00004647-200203000-00004.
6. Arsow T, Mullen SA, Rogers S, Phillips AM et al. Glucose transporter type I deficiency in the idiopathic generalized epilepsies. *Ann Neurol*. 2012; 72 (5): 807–815. DOI: 10.1002/ana.23702.
7. Ebbink BJ, Poelman E, MD, Plug I et al. Cognitive decline in classic infantile Pompe disease: an underacknowledged challenge. *Neurology*. 2016; 86: 1260–1261. DOI: 10.1016/j.ymgme.2015.12.244.
8. Bruick RK, McKnight SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science*. 2001; 294:1337–1340. DOI: 10.1126/science.1066373.
9. Chavez JC, LaManna JC. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: potential role of insulin-like growth factor-1. *J Neurosci*. 1993, 22: 8922–8931.
10. Crosiers O, Goethem G Van. Phenotypic spectrum of movement disorders in 18p deletion syndrome. *European Journal of Neurology*, 2018; 25; (Suppl. 2): 90–276.
11. Del Zoppo GJ. Aging and the neurovascular unit. *Ann NY Acad Sci* 2012; 1268: 127–133. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06686.x.
12. Deane R, Segal MB. The transport of sugars across the perfused choroid plexus of the sheep. *J Physiol*. 1985; 362: 245–260.
13. Doege H, Sch rmann A, Bahrenberg G et al. Glucose transporter 8 (GLUT8): a novel sugar facilitator with glucose transport activity. *J Biol Chem*. 2000; 275: 16275–16280.
14. Dudzinska M. Dieta w chorobach neurologicznych. In the book: Postepy w diagnostyce i leczeniu chorob ukkladu nerwowego u dzieci. Opracowane zbirowe Sergiusza Jozwiaka (ed). Lublin, Wydawnictwo Bifolium, 2017, pp. 143–159.
15. Emily de los Reyes. Neurodevelopmental disorders. Shawn Aylward, Dennis Cunningham. Manual of pediatric neurology. Ed. Pedro Weisleder. New Jersey, World scientific Publishing Co. Pte. Ltd, 2012, pp. 81–87.
16. Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron*. 2013; 80 (4): 844–866. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.10.008.
17. Marques-Matos C, Leao M. Diagnostic yield of Next Generation Sequencing (NGS) technology applied to Neurological disorders. *European Journal of Neurology*. 2018; 25; (Suppl. 2): 90–276.
18. Neuwelt EA, Bauer B, Fahlke C et al. Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology. *Nat Rev Neurosci*. 2011; 12 (3): 169–182. DOI: 10.1038/nrn2995.
19. Pike M. Opsoclonus-myoclonus syndrome. *Handb Clin Neurol*. 2013;112:1209–1211. DOI: 10.1016/B978-0-444-52910-7.00042-8.
20. Pearson TS, Pons R, Engelstad K et al. Paroxysmaleye-headmovementsinGlut1deficiency syndrome. *Neurology*. 2017; 88 (17):1666–1673. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003867.
21. Régina A, Morchoisne S, Borson ND et al. Factor (s) released by glucose-deprived astrocytes enhance glucose transporter expression and activity in rat brain endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1540 (3): 233–242.
22. Semenza GL: Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1. *Biochem J*. 2007; 405 (1):1–9. DOI: 10.1042/BJ20070389.
23. Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol*. 2000; 88 (4): 1474–1480. DOI: 10.1152/jappl.2000.88.4.1474.
24. Simpson IA, Carruthers A, Vannucci SJ. Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007; 27 (11): 1766–1791. DOI:10.1038/sj.jcbfm.9600521.