

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
КАТЕДРА ПО НЕВРОЛОГИЯ**

завеждащ катедра: чл.кор. проф. д-р Лъчезар Трайков, дмн

Д-р Кристина Сашева Кастрева

**ИЗРАБОТВАНЕ НА КЛИНИЧНА БАЗА ДАННИ ЗА
ФЕНОТИПИЗИРАНЕ НА НАСЛЕДСТВЕНИ НЕВРОЛОГИЧНИ
ЗАБОЛЯВАНИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”

Професионално направление 7.1. „Медицина“
Научна специалност „Неврология”

**Научен ръководител:
Проф. Д-р Ивайло Търнев, д.м.н**

София
2018

Дисертационният труд е написан на 249 машинописни страници, включващи 62 таблици и 65 фигури. Библиографският списък съдържа 348 литературни източника, от които 39 на кирилица и 309 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от Катедрения съвет на Катедрата по неврология при Медицински университет-София на 27.03.2018 г.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 4.07.2018 г. от 14.00 ч., в Аудиторията на Клиниката по нервни болести – УМБАЛ „Александровска” – София при научно жури в състав:

1. Проф. Д-р Иван Петров, дмн (рецензия)
2. Доц. Д-р Теодора Чамова, дм (рецензия)
3. Проф. Д-р Ивайло Търнев, дмн (становище)
4. Проф. Д-р Людмил Мавлов, дмн (становище)
5. Доц. Д-р Ниолай Никоевски, дмн (становище)

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ-София и са на разположение на интересующите се в Библиотеката на Клиниката по нервни болести – УМБАЛ „Александровска”, бул. „Св. Георги Софийски” №1.

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

СЪДЪРЖАНИЕ

ВЪВЕДЕНИЕ.....	6
I. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ	7
II. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	8
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	14
IV. 1. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА ПРОГРЕСИВНА МУСКУЛНА ДИСТРОФИЯ ТИП ДЮШЕН И ТИП БЕКЕР	14
IV. 2. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА СПИНАЛНА МУСКУЛНА АТРОФИЯ	23
IV. 3. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА МИОТОНИЧНА ДИСТРОФИЯ ТИП 1 (БОЛЕСТ НА ЩАЙНЕРТ) И ТИП 2 (ПРОКСИМАЛНА МИОТОНИЧНА МИОПАТИЯ).....	27
IV. 4. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА ВРОДЕНИ МИАСТЕННИ СИНДРОМИ.....	37
IV. 5. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА GNE МИОПАТИЯ (ДИСТАЛНА МИОПАТИЯ ТИП НОНАКА)	46
IV. 6. НАСЛЕДСТВЕНИ ПЕРИФЕРНИ НЕВРОПАТИИ: ЕТНИЧЕСКО РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ И ГЕНЕТИЧЕН СПЕКТЪР.....	53
V ИЗВОДИ.....	63
VI ПРИНОСИ	66
ЛИТЕРАТУРА	67
ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С НАУЧНИЯ ТРУД	68

Използвани съкращения

AchR – ацетилхолинов рецептор

CCTG – cytosine-cytosine-thymine-guanine

CMT – Charcot-Marie-Tooth

CPK – cretine phosphokinase

CTG – cytosine-thymine-guanine

CTSR - Care and Trail Site Registry

Del - deletion

dHMN – distal hereditary motor neuropathy

DI-CMT – dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth

DMD ген – дистрофинов ген

DMPK - myotonic dystrophy protein kinase

GNE - glucosamine (UDP-N-acetyl)-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase

HNPP – hereditary neuropathy with liability to pressure

HPN – hereditary peripheral neuropathy

MMSE – Mini Mental State Examination

NMD – neuromuscular diseases

PROMM – proximal myotonic myopathy

QMG – quantitative myasthenia gravis

SD – standart deviation

THAOS - Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey

TREAT-NMD - 2.2 Translational Research in Europe for the Assessment and Treatment of Neuromuscular Disease

TREAT-NMD - Translational Research in Europe – Assessment & Treatment of Neuromuscular Diseases

ZNF9 – zinc finger protein 9

АД – автозомно доминантно

АР – автозомно рецесивно

БМД – мускулна дистрофия тип Бекер

БРДМД – Български регистър за мускулна дистрофия тип Дюшен/Бекер

ВМС – вродени миастенни синдроми

ДМД – мускулна дистрофия тип Дюшен

дНМН – дистална наследствена моторна невропатия

ЕМГ - електромиография

ЕРМ - Европейска Референтна Мрежа

ИМФ – интермедиерен фенотип

КК - креатинфосфокиназа

ККЛДН – конгенитална катаракта, лицев дизморфизъм, невропатия

КМД – конгенитална миотонична дистрофия

КСТ – кортикостероидна терапия

МД1, МД2 – миотонична дистрофия тип 1 и тип 2

НМЗ – невромускулни заболявания

НМН – наследствена моторна невропатия

НМЦ – невромускулни центрове

ННПП – наследствена невропатия с парализи при притискане

НПН – наследствена периферна невропатия

НСАН – наследствена сетивна и автономна невропатия

НСМН – наследствена сетивна и моторна невропатия

ПР – пациентски регистри

РБ – редки болести

СЗО – световна здравна организация

СМА – спинална мускулна атрофия

ФВК – форсиран витален капацитет

ФИ – фракция на изтласкване

ФСХД – фацио-скапулоумерална мускулна дистрофия

ВЪВЕДЕНИЕ

Наследствените невромускулни заболявания са голяма група заболявания, които се дължат на различни генни дефекти, засягат периферните нерви и мускулите и често водят до инвалидизация. Малкият брой засегнати индивиди е основната причина за трудното изучаване на естествения ход на тези заболявания, както и разработването на стандарти за диагностика, грижи и терапевтични подходи. За да може да се отговори на множеството въпроси по отношение на наследствените невромускулни заболявания, е необходимо разработването на регистри (бази данни) за систематизиране на генетичните и клинични данни на пациентите, които в последствие да бъдат подложени на анализ. Освен за анализиране естествения ход на заболяванията базата данни е необходима и за лесна и бърза връзка с пациентите и дава възможност за откриване на пациенти, подходящи за включване в клинични изпитания за разработване на нови терапевтични стратегии.

Основна цел на настоящия труд е разработването и периодичното актуализиране на пациентски регистри за някои наследствени невромускулни заболявания в България, които да съдържат демографски, генетични и клинични данни, които да бъдат анализирани за добиване яснота по отношение епидемиологията на тези болести в страната, обуславящите ги генни дефекти и съответната им фенотипна характеристика, както и проследяване на пациентите веднъж годишно. Друга цел за създаването на пациентските регистри в България е включването на страната ни към глобалните пациентски регистри на световни и европейски мрежи за наследствени невромускулни заболявания, както и улесняването на провеждане на клинични проучвания сред български пациенти. Актуалността на труда е обусловена от липсата на съществуваща пациентска база данни към момента в страната за тези заболявания. В рамките на настоящия труд са разработени регистри за следните болести:

- Прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен/Бекер
- Спинална мускулна атрофия
- GNE миопатия /Дистална миопатия тип Нонака/
- Миотонична дистрофия тип 1 (болест на Steinert) и тип 2 (PROMM)
- Вродени миастенни синдроми
- Наследствени периферни невропатии

Настоящият труд включва генетично епидемиологично проучване на наследствените моторни и сетивни невропатии (болест на Charcot-Marie-Tooth) и наследствените моторни невропатии в България. Разработени са медико-географски карти, представящи разпределението на тези заболявания по области, етноси и форми на невропатиите.

I. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Целите на настоящото проучване са:

1. Създаване на електронни пациентски регистри, съдържащи демографски, клинични и генетични данни за пациенти, хоспитализирани и проследявани в Експертния център по генетични неврологични и метаболитни заболявания, разкрит към Клиниката по нервни болести при УМБАЛ Александровска за прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер (ДМД и БМД), миотонична дистрофия тип 1 и тип 2 (МД1 и МД2), вродени миастенни синдроми (ВМС), спинална мускулна атрофия (СМА), дистална миопатия тип Нонака или още наречена GNE миопатия, наследствени периферни невропатии (НПН).

2. Систематизиране на данните от тях, анализ и изготвяне на медико-географски карти за разпространението на различните генетични форми на НПН в страната.

За постигане на описаните цели бяха формулирани следните **задачи**:

1. Изготвяне на формуляри за регистрация на пациентите, включващи необходим минимум от информация и допълнителна препоръчителна информация.

2. Ретроспективно набиране на информация и връзка с пациентите с посочените заболявания чрез преглед на архива на болницата за периода 2007 г. – 2013 г.

3. Обхващане на новопостъпилите в Центъра пациенти със съответните заболявания за периода 2014 г. – 2017 г., обхващане на пациенти от амбулаторни прегледи към Експертния център и преглед на тези пациенти.

4. Систематизиране на информацията от Националната генетична лаборатория за генетично изследваните пациенти с НПН.

5. Систематизиране на цялата информация, събрана от различните източници и изготвяне на електронни регистри в Excel.

6. Анализ и сравняване на резултатите от проведените изследвания в отделните групи заболявания.

7. Статистическа обработка на получените резултати и извличане на изводи от проведения статистически анализ.

8. Сравняване на получените резултати с публикуваните до момента в литературата данни от подобни проучвания.

II. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Контингент на изследването

1.1 Прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер

Общият брой на пациентите в регистъра до януари 2017 г. е 154. Прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен, имат 106 момчета, и 45 пациенти имат картина на заболяването с по-лека фенотип – тип Бекер, 1 момче с интермедиерен фенотип и 2 жени-носителки.

1.2 Спинална мускулна атрофия

Общият брой на пациентите в регистъра до януари 2017 г. е 69.

1.3 Миотонична дистрофия тип 1 и тип 2

Общият брой на пациентите в регистъра до януари 2017 г. е 88, като диагнозата е генетично потвърдена при 80. Броят на пациентите с МД тип 1 е 75, а пациенти с диагноза МД тип 2 са 5.

1.4 Вродени миастенни синдроми

Общият брой на пациентите в регистъра до януари 2017 г. е 91, като всички имат генетично потвърдена диагноза.

1.5 Дистална миопатия тио Нонака/ GNE миопатия

В регистъра са включени 44 пациенти с генетично потвърдена диагноза.

1.6 Наследствени периферни невропатии

До януари 2017 г. общо 835 засегнати са генетично верифицирани и включени в проучването.

2. Методи на изследване

2.1. Методи за събиране на данни

Данните за пациентите са събрани, както проспективно, така и ретроспективно. Проспективното събиране включва данни за пациенти, преминали през Клиниката по неврология към УМБАЛ „Александровска“, и насочени амбулаторно към Експертния център между 2014 и 2017 г. Всички пациенти са преминали изследвания в зависимост от поставената диагноза, които са описани в следващите подточки. Ретроспективното събиране включва информация за пациенти от архива на Клиниката за периода между 2007 и 2013 г., както и от архива на Национална генетична лаборатория, откъдето са иззети данни за пациенти от цялата страна, насочени за изследване в насока НПН. Теренните проучвания и скрининговите програми в цялата страна, проведени за период от 20 г. (от

1996 г. до 2016 г.), са друг метод, използван за установяване на максимален брой пациенти с НПН.

2.1.1. Прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер

В регистъра се въвеждат демографски, генетични и клинични данни. Информацията, която се включва е взаимствана с изискванията на TREAT-NMD мрежата за участие в глобалния регистър на пациентите с ДМД и БМД (важи за регистрите за всички заболявания, обхванати в дисертационния труд). Формулярът за регистрация е представен в приложение 6 към дисертационния труд. Клиничните данни служат за фенотипизация на заболяването, като за регистъра е необходима информация за:

- началото на заболяването,
- възможност за самостоятелно ходене,
- възможност за седене без опора,
- използване на инвалидна количка,
- възраст, на която е загубена самостоятелната походка,
- провеждане на КСТ в момента или в миналото,
- фамилност по отношение на заболяването,
- наличие на сколиоза и ортопедича корекция на сколиотично променен гръбначен стълб,
- наличие на функционални и структурни изменения на сърцето, фракция на изтласкване (ФИ), терапия на кардиомиопатия,
- използване на инвазивна или неинвазивна изкуствена вентилация, форсиран витален капацитет (ФВК).

Включването в регистъра е доброволно и изисква подписване на информирано съгласие от пациента и/или негов родител (изискването важи за включване в регистрите за всяко едно от заболяванията, обхванати в дисертационния труд). Пациентите се проследяват веднъж годишно от мултидисциплинарен екип от специалисти.

2.1.2. Спинална мускулна атрофия

В регистъра се въвеждат демографски, генетични и клинични данни. Формулярът за регистрация е представен в приложение 7 към дисертационния труд. Клиничните данни за фенотипизация на заболяването са:

- възраст на прохождение,
- възраст на самостоятелно седене без опора,
- възраст на загуба на самостоятелна походка,
- възраст на загуба възможността за самостоятелно седене,

- използване на назо-гастрална сонда или гастростома за хранене,
- фамилност по отношение на заболяването,
- наличие на сколиоза и ортопедича корекция на сколиотично променен гръбначен стълб,
- използване на инвазивна или неинвазивна изкуствена вентилация, форсиран витален капацитет (ФВК).

2.1.3. Миотонична дистрофия тип 1 и тип 2

В регистъра се въвеждат демографски, генетични и клинични данни. Формулярът за регистрация е представен в приложение 8 към дисертационния труд. Клиничните данни служат за фенотипизация на заболяването, като за регистъра е необходима информацията за:

- начало на оплакванията
- най-добра двигателна дейност към момента
- използване на инвалидна количка за придвижване и възраст, на която е започнал да използва инвалидна количка
- наличие на миотония
- терапия за миотония
- наличие на умора и сънливост
- терапия на умората
- сърдечен статус
- респираторни функции, използване на изкуствена вентилация
- наличие на дисфагия, използване на назогастрална сонда за хранене
- наличие на катаракта и операция по повод катаракта
- фамилност по отношение на заболяването
- когнитивна оценка с MMSE
- наличие на дизморфични белези

2.1.4. Вродени миастенни синдроми

В регистъра се въвеждат генетични и клинични данни. Формулярът за регистрация е представен в приложението (Скалата е представена в приложение 9 към дисертационния труд). Клиничните данни включват:

- Оценка на булбарната слабост по скали за оценка текстурата на храната, оценка на времето, необходимо за хранене, оценка на преглъщането (Скалата е представена в приложение 2 към дисертационния труд.).
- Оценка на булбарната слабост с тест „бързо преглъщане на вода“ - пациентът трябва да изпие 120 мл вода от чаша за минимално време.
- Оценка на диплопията – пациентът фиксира погледа си върху обект наляво или надясно, като се отчита времето до поява на двойно виждане. Оценката се провежда по следната скала - *Quantitative Myasthenia Gravis (QMG)* скала (Скалата е представена в приложение 3 към дисертационния труд).
- Оценка на аксиалната слабост:
 - Чрез двукратно отчитане времето, необходимо за изправяне от легнало положение на пода. Първият опит се провежда в началото на изследването, а вторият след провеждането на набор от упражнения (повдигане на главата, флексия на рамото, повдигане на крака, клякане, изправяне от седнало положение), които също са част от тестовете за оценка на мускулната уморяемост.
 - Чрез отчитане времето, за което пациентите повдигат главата си на 45° от легнало положение и задържат тази позиция. Отчита се по следната скала: *QMG скала за определяне степента на аксиална слабост* (виж приложение 4).
- Оценка на уморяемостта на проксималните мускули на горни крайници беше изследвана чрез отвеждане на всяка ръка поотделно на 90° и задържане на тази позиция до 4 мин.
- Оценка на уморяемостта на проксималните мускули на долни крайници
 - Чрез отчитане времето на флексия в тазобедрената става на всеки крак поотделно на 45° и задържане на тази позиция до 100 сек.
 - Чрез отчитане брой седания на стол и изправяне за 1 мин
- Оценка силата на захвата чрез динамометрия
- Оценка на форсиран витален капацитет (ФВК) чрез провеждане на спирометрия в седнало и легнало положение, като при всяка позиция са проведени три опита и е регистриран най-добрият от тях

2.1.5. Дистална миопатия тип Нонака/GNE миопатия

В регистъра се въвеждат демографски, генетични и клинични данни. Информацията, която се включва е взаимствана от регистъра на Ultragenyx Pharmaceuticals по програмата “GNE Myopathy Disease Monitoring Program”. Клиничните данни служат за фенотипизация на заболяването, като за регистъра е необходима информация за:

- възраст на начало,
- начални симптоми,

- допълнителни симптоми и възрастта, на която са се появили,
- симптоми, които са станали причина да бъде потърсена лекарска помощ,
- погрешно поставени диагнози,
- фамилност по отношение на заболяването,
- резултат от проведена мускулна биопсия,
- палиативни грижи,
- медикаментозно лечение,
- използване на ортези, помощни средства за ходене и инвалидна количка,
- най-добра двигателна дейност в момента,
- загуба на трудоспособност поради заболяването,
- ехокардиография – данни за сърдечна структура и функция,
- спирометрия – данни за форсиран витален капацитет,
- проследяване нивата на креатинфосфокиназа в серума при регистрирането, след 6, 12 и 24 месеца,
- придружаващи заболявания,
- физикална оценка - действията, които се оценяват са: обръщане в леглото, сядане от легнало положение, изправяне от седнало положение, ходене, качване по стълби, навеждане до пода и изправяне, бягане, скачане, седене без опора, свиване на ръката в юмрук, писане, придвижване на ръката към устата, дъвчене. Оценката се извършва по скала (виж приложение 5).

Пациентите са проследявани при регистрирането, след 6, 12 и 24 месеца, след което веднъж годишно от мултидисциплинарен екип от специалисти.

2.1.6. Наследствени периферни невропатии

Изследването включва всички пациенти с диагноза НПН от Експертния център по наследствени неврологични и метаболитни заболявания. Пациентите са преминали неврологични, клиничко-генеалогични изследвания, електрофизиологични, генетични изследвания и при необходимост аудиометрия.

Основните източници за събиране на информация за пациентите са пациентските досиета от Националната Генетична Лаборатория (НГЛ), към която са изпращани проби от венозна кръв за провеждане на генетично изследване от цялата страна. Пациентите са насочвани към НГЛ и Експертния център от университетски неврологични и педиатрични клиники, неврологични и педиатрични отделения от областни болници, електрофизиологични диагностично-консултативни кабинети в страната. Пациентите и техните роднини са подробно разпитване с цел провеждане на клиничко-генеалогично изследване и установяване на максимален брой засегнати родственици.

Теренните проучвания и скрининговите програми в цялата страна, проведени за период от 20 г. (от 1996 г. до 2016 г.) в 2500 населени места, са друг метод, използван за установяване на максимален брой пациенти с НПН. По време на теренните проучвания са провеждани неврологичен преглед на пациентите и са събирани кръвни проби за последващо генетично изследване.

2.2. Методи за анализ на данните

За статистическа обработка на данните е използван IBM SPSS statistics 21.0 софтуер. За ниво на статистическа значимост, което да отхвърли нулевата хипотеза бе избрано $p < 0.05$.

За обработка на данните са използвани следните статистически методи:

1. Дескриптивен анализ - в таблици са представени средните, минимални и максимални стойности, медиани и стандартното отклонение при описание на демографските характеристики на пациентите в изследваните групи.
2. Т-тестове за независими извадки (Independent-samples t test), Т-тестове на две извадки (Two-sample t test).
3. Непараметрични процедури на корелации са изследвани чрез теста на Pearson и теста на Spearman.
4. Непараметричен хи-квадрат тест
5. Еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA – analysis of variance).
6. Tukey post hoc анализ - сравнява всички двойки по групи, като поставя нивото на грешката на експеримента за една колекция (сбор) от всички сравнения.
7. Т-критерий на Student.
8. Непараметричен тест на Mann-Whitney.
9. Непараметричен тест на Shapiro-Wilk.
10. Непараметричен тест на Kruskal-Wallis.
11. Графичен анализ - за онагледяване на получените резултати.

За изобразяване на разпределението на различните форми на НПН по области е използван картографски метод. Картите в дисертационния труд са съставени с помощта на ArcGIS 9.3 софтуер въз основа на събраната база данни. Те са оформени за отпечатване в М 1:2 000 000 за размер на лист с формат А4.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

IV. 1. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА ПРОГРЕСИВНА МУСКУЛНА ДИСТРОФИЯ ТИП ДЮШЕН И ТИП БЕКЕР

1. Генотипно разпределение

Общият брой на пациентите в регистъра до януари 2017 г. е 154. При 17 от тези пациенти не са открити големи делеции и дупликации в дистрофиновия ген. При останалите 137 пациенти диагнозата е потвърдена и чрез молекулярно-генетично изследване, като са установени следните видове мутации в дистрофиновия ген: 12 (9%) точкови мутации, 122 (89%) делеции и 3 (2%) дупликации. Установени са 73 различни мутации сред пациентите.

2. Фенотипно разпределение

По-тежката форма на заболяването, съответстваща на прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен, имат 106 пациенти (69% от общия брой); 45 момчета (29%) имат картина на заболяването с по-лека фенотип – тип Бекер.

При един от пациентите (*Del 3-6 ex* в *DMD* гена) в регистъра бе определен интермедиерен фенотип, поради начало на заболяването на 1 г. и 3 м., съответстващо на фенотип ДМД, и загуба на самостоятелната походка на 19 г. възраст, което съответства на фенотип БМД, като при пациента не е провеждана кортикостероидна терапия, която да забави загубата на самостоятелна походка.

В регистъра са включени две жени, носителки на мутация в *DMD* гена. При едната е установена делеция на 44 екзон от дистрофиновия ген, а при другата е доказано хетерозиготно носителство на точкова *splice site* мутация *c.2169-2 A>G*. Самостоятелната походка при първата пациентка е загубена на 21 г. възраст, докато при втората все още е възможна. Нито една не е провеждала КСТ. За 27 г. на прогресия на заболяването при втората пациентка се установява проксимална мускулна слабост в четирите крайника, лека систолна дисфункция с гранични размери на лява камера, при фракция на изталскване (ФИ) 51% и рестриктивен тип вентилаторна недостатъчност с форсиран витален капацитет (ФВК) 56%. Липсва проследяване при първата пациентка.

3. Възрастово разпределение

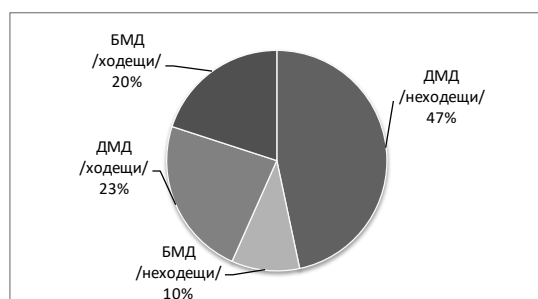
Пациентите с ДМД са на възраст между 5 и 29 г., средната възраст на пациентите с ДМД е 16 г. ± 6 г., медианата е 15 г. Пациентите с БМД са на възраст между 7 и 67 г. средната възраст е 32 г. ± 15 г., медианата е 31 г. Един пациент с интермедиерен фенотип (ИМФ) е на 23 г.

Възрастта на начало при пациентите с ДМД е между 1 и 7 г. Средната възраст на начало при тях е 2 г. и 11 м., медианата е 3 г. Забавено моторно развитие се наблюдава при 29% от момчетата с ДМД, като те са проходили на възраст между 1 г. и 8 м. и 2 г. и 6 м. При 40% от пациентите с фенотип ДМД първоначалните симптоми са се проявили още при прохождането, с тромава, клатушкаща се походката, с чести падания, затруднено изправяне от клекнало и седнало положение, невъзможни скачане и тичане.

Възрастта на начало при пациентите с БМД е между 7 и 30 г. Средната възраст на начало при тях е 13 г. Началните симптоми при тези пациенти са миалгия след физическо натоварване, потъмняване на урината, непосредствено след физическо усилие, мускулни крампи и паралелно с тези оплаквания или няколко години по-късно се добавя и мускулна слабост за проксимални мускулни групи на долни крайници.

При пациентите с ДМД загубата на самостоятелна походка е настъпила между 6 г. и 16 г., средната възраст е 10 г. \pm 1.8 г., медианата е 10 г. При пациентите с БМД загубата на самостоятелна походка е настъпила на възраст между 18 г. и 54 г., средната възраст при тях е 29 г. \pm 9 г., медианата е 25 г. и 6 м.

4. Двигателна дейност



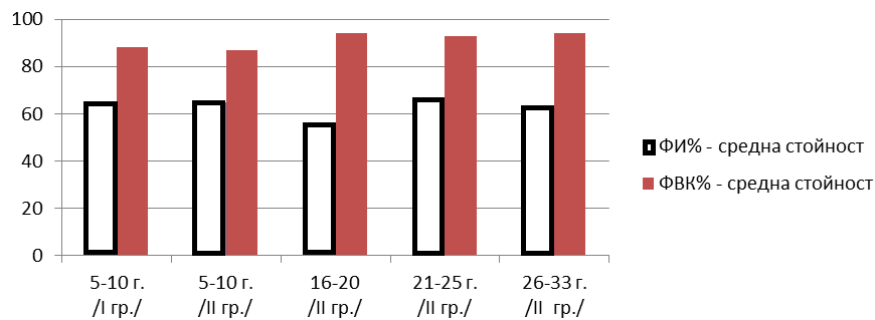
Фигура 1. Фенотипно разпределение според възможността за самостоятелна походка

Самостоятелната походка е запазена при 65 пациенти, представляващи 43% от общия брой. От тях 35 момчета са с диагноза ДМД и 30 пациента с БМД. Пациентите с ДМД са на възраст между 5 г. и 17 г., средната възраст е 10 г. и 7 м. \pm 2 г., медианата е 10 г. КСТ приемат 25/35 момчета, средната възраст на които е 10 г. и 7 м. \pm 2 г., медианата е 10 г. Средната възраст на ходещите пациенти с ДМД, непровеждащи КСТ, е 10 г. и 10 м. \pm 3 г., медианата е 11 г. и 6 м. Ходещите пациенти с БМД са на възраст между 7 г. и 52 г., средната им възраст е 28 г. \pm 13 г., медианата е 27 г., от тях две момчета провеждат КСТ, на 14 г. и 9 г.

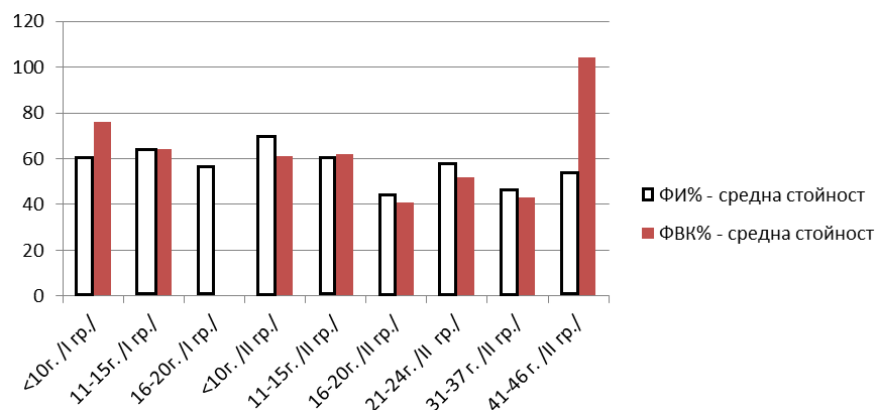
Неходещите пациенти в БРДМД са 57%, от които 47% са с диагноза ДМД и 10% с БМД. Пациентите с диагноза ДМД са на възраст между 12 г. и 34 г., средната възраст е 19 г. \pm 4 г., медианата е 19 г. От неходещите пациенти с ДМД 20% приемат или са приемали КСТ преди загубата на самостоятелна походка. Самостоятелната походка при тях е невъзможна от възраст между 8 г. и 11 г., средната възраст на загуба на походката е 9 г. и 2 м. \pm 1 г. Останалите 80% от неходещите момчета с ДМД никога не са приемали КСТ. Възрастта, на която са загубили възможността за ходене е между 6 г. и 16 г., средна възраст – 10 г. и 5 м \pm 2 г.

5. Изследване на ФВК и ФИ в зависимост от възрастта и възможността за самостоятелна походка

Пациентите в регистъра са разделени на групи в зависимост от възможността им за самостоятелно ходене, прием на КСТ и възраст. Анализирани са данни от 46 ходещи и 33 неходещи пациенти. Ходещите пациенти са разделени в две групи: I група – премащи КСТ към момента (24 пациенти), и II група – без КСТ (22 пациенти). Неходещите пациенти също са разделени в две групи: I група – премащи КСТ към момента или в миналото (17 пациенти), и II група – без КСТ (36 пациенти). Всички пациенти в групите са разделени на подгрупи според възрастта, на която са проведени изследванията (ехокардиография и спирометрия).



Фигура 2. Форсиран витален капацитет (ФВК) и фракция на изтласкване (ФИ) при ходещи пациенти в различните групи и подгрупи



Фигура 3. Форсиран витален капацитет (ФВК) и фракция на изтласкване (ФИ) при неходещи пациенти в различните групи и подгрупи

Средните стойности на ФИ при неходещи пациенти в групите под 10 г. възраст и между 11 и 15 г. възраст са сравними и са в границите на нормата (норма >55%). ФИ намаля в следващите подгрупи.

Не се открива съществена разлика във ФИ при ходещи и неходещи пациенти на възраст под 10 г., независимо от това дали приемат КСТ. Резултатите за ходещите пациенти, които никога не са приемали КСТ и са на възраст между 16 и 20 г. са сравними с тези на

неходещите на възраст между 18 и 19 г., които към момента продължават КСТ, докато неходещите пациенти от кореспондиращата група между 16-20 г., които никога не са били на КСТ, показват резултати под нормата.

Всички ходещи пациенти показват нормални резултати за ФВК. В сравнение с тях неходещите пациенти показват по-ниски резултати за ФВК, като почти всички средни стойности за ФВК в отделните подгрупи на неходещите пациенти са под нормата. Проведен е непараметричен тест на Mann-Whitney, който доказва наличието на статистически значима разлика за резултатите за ФВК между ходещи и неходещи пациенти ($p=0.000$, $U=671.500$, $z=4.404$).

6. Разлика във възрастта на загуба на самостоятелната походка в зависимост от провежданата терапия

Непараметричен тест на Mann-Whitney не установява статистически значима разликата във възрастта на загуба на самостоятелна походка между пациентите, провеждали и непровеждали КСТ ($p=0.787$, $U=473.5$, $z=-0.271$). Необходимо е да се отбележи, че в анализа са включени пациентите, които вече са загубили самостоятелната си походка, като броят на тези пациенти ($n=14$), приемали КСТ е значително по-малък от този на същата категория пациенти ($n=54$), но непровеждали КСТ. Броят на децата, които ходят самостоятелно и провеждат КСТ, е 24. Те са на възраст между 7 и 17 г., средната възраст е 10 г. и 5 м. ± 2.7 , медианата е 10 г.

Неходещите пациенти с диагноза БМД са на възраст между 27 г. и 67 г., средната възраст е 41 г. ± 13 г., медианата е 38 г. Не е провеждана КСТ при тези пациенти. Загубата на самостоятелна походка е настъпила на възраст между 18 г. и 54 г., средната възраст при тях е 29 г. ± 9 г., медианата е 25 г. и 6 м.

7. Сколиоза

Сколиоза имат 38% от неходещите пациенти. От тях има един пациент с диагноза БМД, останалите са с диагноза ДМД. При трима от пациентите е проведена ортопедична корекция за стабилизиране на торакалния отдел на гръбначния стълб.

8. Фамилност

При една трета от пациентите (51/154) в регистъра има данни за фамилност по отношение на заболяването. От тях 65% са с ДМД, 30% с БМД. Останалите 5% са две жени-носителки на мутация с клинично проявление и едно момче с ИМФ.

9. Структурни и функционални сърдечни промени

При 70% (76/109) от изследваните няма нарушение във функциите на сърцето и при повечето от тях няма и структурни промени, освен при трима пациенти с лекостепнна левокамерна хипертрофия или дилатация. Средната фракцията на изтласкване (ФИ) при тях е $64\% \pm 5\%$. Тяхното разпределение във фенотипно отношение е 70% (53/76) - ДМД и 30%(23/76) – БМД. Пациентите с невъзможност за самостоятелно ходене са 43% (33/76). Пациентите с нормално във функционално и структурно отношение сърце с диагноза ДМД са на възраст между 8 г. и 24 г. при последната проведена ехокардиография. Пациентите с

БМД с нормална находка от последното проведено ултразвуково изследване на сърце са на възраст между 8 г. и 67 г. Почти половината от пациентите (37/76) провеждат или са провеждали КСТ.

При 33-ма от 109 пациенти, за които има ехокардиографски данни се наблюдават функционални нарушения, както и структурни при 28 души. При 84%(28/33) от тези пациенти се открива систолна дисфункция, като при 26 от тях тя се съпровожда от структурни изменения на сърцето, които се изразяват в дилатация в различна степен на лява камера и ляво предсърдие, а при двама пациенти се открива и хипертрофия на лява камера. Четирима пациенти имат съчетана систолна и диастолна дисфункция при разширени сърдечни кухини, а един пациент има само диастолна дисфункция при наличие на левокамерна хипертрофия. Тази група пациенти са на възраст между 14 г. и 62 г. при последното проведено ехокардиографско изследване. От тях 19 момчета са с диагноза ДМД, 51 – с БМД и 1 – с ИМФ. Всички пациенти с ДМД са неходещи, както и пациентът с ИМФ. Самостоятелната походка е възможна само при 7 пациента с БМД. КСТ в миналото са провеждали само двама пациенти. Средната ФИ при тези 33-ма пациента със систолна дисфункция е 47% ± 8%.

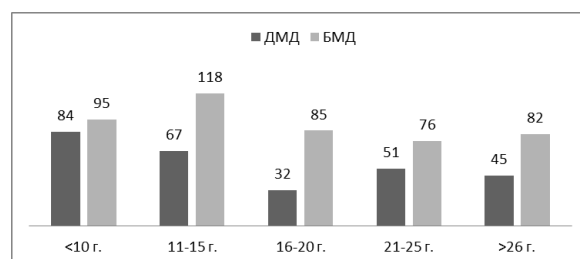
Таблица 1. Обобщени ехокардиографски данни по групи според възрастта

Възраст	Брой пациенти	НСФ	СД, СДД, ДД	НСС	ЛКД, ЛКХ	МР	ФИ%
<10 г.	31	100.00%	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	66.00%
11-15 г.	26	77.00%	19.00%	85.00%	12.00%	0.00%	61.00%
16-20 г.	19	47.00%	53.00%	42.00%	58.00%	16.00%	55.00%
21-25 г.	12	58.00%	42.00%	58.00%	42.00%	0.00%	56.00%
>26 г.	21	43.00%	57.00%	48.00%	52.00%	38.00%	53.00%
Общо	109	70.00%	29.00%	72.00%	28.00%	11.00%	

НСФ – нормална сърдечна функция, СД – систолна дисфункция, СДД – систолна и диастолна дисфункция, ДД – диастолна дисфункция, НСС – нормална сърдечна структура, ЛКД – левокамерна дилатация, ЛКХ – левокамерна хипертрофия, МР – митрална регургитация, ФИ – фракция на изтласкване;

10. Респираторни функции

Данни от проведена спирометрия има за 103 пациенти. На таблицата са показани средните стойности на ФВК при пациентите, разделени по възрастови групи и фенотип.



Фигура 4. Обобщена схема на разпределението на ФВК по възрасти и фенотип

Във възрастта под 10 г. при всички пациенти белодробната функция е съхранена и стойностите на ФВК са в нормални граници. От 11 до 15 г. възраст при пациентите с ДМД се наблюдава спад в средните стойности на ФВК, ФВК = 67%, при норма над 75%. В тази възраст пациентите губят самостоятелната си походка и започват да използват инвалиден стол за придвижване, което се отразява и на виталните им капацитети. Между 16 и 20 г. при

пациентите с ДМД дихателните капацитети са силно намалени, средната стойност на ФВК е 32%. Пациентите над 21 г. с ДМД, които са провели спирометрия, са само трима, като и при тях се наблюдават стойности на ФВК под нормата. За разлика от пациентите с ДМД, тези с БМД имат съхранени дихателни функции и на по-късна възраст. Забелязва се тенденция за намаляване на дихателните капацитети при пациентите с ДМД след 11 г. възраст.

11. Смъртност

От всички пациенти, включени в регистъра, са починали 13, от които 12 с ДМД и един с БМД. Причината за смърт при пациентите с ДМД са усложнения на заболяването – сърдечна и дихателна недостатъчност. Пациентът с БМД е починал по причини, несвързани със заболяването. Възрастта, на която са починали пациентите с ДМД, е между 17 и 34 г., средната възраст е 21 г. \pm 3 г., и медиана равна на 22 г.

12. Резултати от клинично проследяване на пациентите в БРДМД

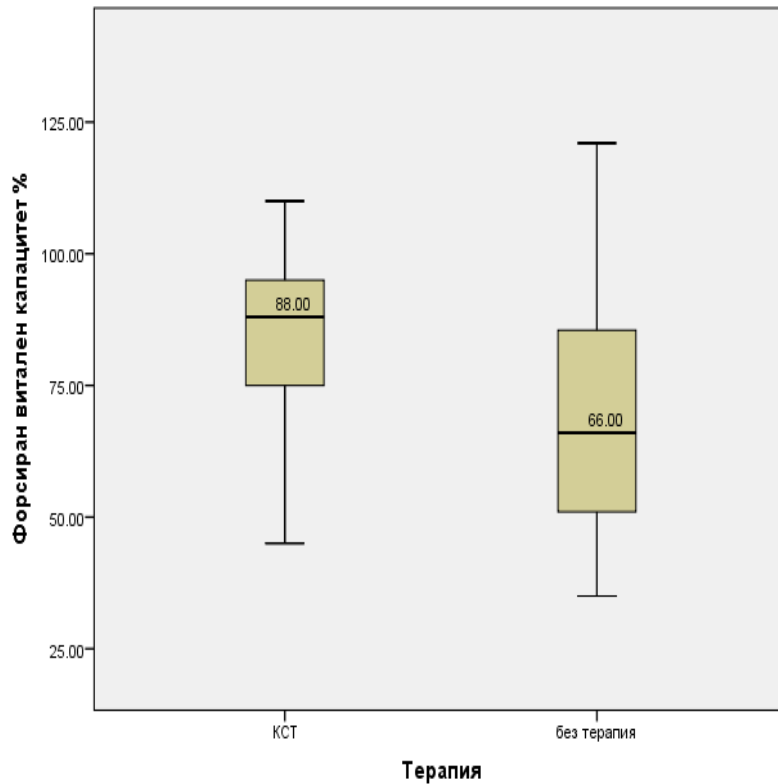
Проведена е статистическа обработка на данните от проведените ехокардиография и функционално изследване на дишането на 38 пациенти, които са проследени за период от 3 г. Пациентите са разделени в групи в зависимост от възрастта, на която е проведено ехокардиографско изследване или функционалното изследване на дишането, и провеждането на КСТ. Поради прогресивния ход на заболяването и литературните данни, че сърдечното засягане е с начало средно на 14 г., изследваните пациенти са на възраст до 10 г. при първоначалния преглед, тъй като това е и средната възраст на загуба на самостоятелната походка на момчетата, включени в регистъра.

12.1 Проследяване на фракцията на изтласкване - сравнителен анализ на фракциите на изтласкване (ФИ) при първи преглед и при проследяване след 3 г.

Проведен е непараметричен тест на Mann-Whitney за търсене на статистически значима разлика в резултатите за ФИ% между две групи пациенти – приемачи КСТ и без терапия. Тестът не доказва статистически значима разлика във ФИ% при първичния преглед между двете групи ($p=0.636$, $U=88.5$, $z=-0.485$). При проследяване след 3 г. между две групи пациенти тестът доказва статистически значима разлика в средните ФИ% ($p=0.020$, $U=96$, $z=-2.319$)

12.2 Проследяване на форсирания витален капацитет (ФВК) - Сравнителен анализ на ФВК при първи преглед (при пациенти до 10 г. възраст) и при проследяване след 2 г.

Непараметричен тест на Mann-Whitney е проведен за установяване на статистически значима разлика между резултатите за ФВК при пациенти, провеждащи КСТ и пациенти без терапия. Тестът не доказва статистически значима връзка между приема на КСТ и резултатите от ФВК ($p=0.902$, $U=158.5$, $z=-0.123$) при първичното изследване, но сравнителен анализ на резултатите за ФВК на пациентите след средно 2 г. (между 1 г. и 3 г.) установява статистически значима разлика между резултатите за ФВК при двете групи пациенти ($p=0.041$, $U=83$, $z=-2.048$).



Фигура 5. Графично представяне („bar chart“) на получените резултати при двете групи пациенти след 2 г. период с посочени медиани в отделните групи

13. Обсъждане

Представени са анализирани данни от създадения български пациентски регистър за прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен (ДМД) и Бекер (БМД) в колаборация с международната мрежа - Translational Research, Assessment and Treatment of Neuromuscular Disorders (TREAT-NMD). В него са включени 154 пациенти с дистрофинопатии. Продължава обновяването на клиничните данни за диагностицираните пациенти и включването на нови. Смятаме, че това е първото обобщаване на данни и анализ на пациентите с дистрофинопатии в България с подобен брой болни (154 пациенти), тъй като в литературата не бяха открити публикации за толкова мащабно проучване в страната ни.

Преобладаващите мутации в *DMD* гена са делеции (89%), по-малко са точковите мутации (9%) и най-малък е броят на дупликациите (2%), което е сравнимо с генотипното разпределение в световен мащаб [Bladen и съавт., 2015, Чамова 2012, Den Dunnen и съавт. 1989, Emery 2002, Nishino и съавт. 2002, Roberts и съавт. 1992]. Сред българските пациенти са установени 73 различни мутации. Близо 70% от пациентите са с поставена диагноза прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и около 30% са тип Бекер.

От анализа на данните до момента се установява, че ДМД протича с начало в ранна детска възраст, средно на около 3 г., инвалидизация в първата половина на втората декада и смърт в третата декада. По литературни данни клиничната картина при ДМД се проявява клинично преди 5 г. възраст, а при БМД – след 7 г. [Търнев и съавт. 2012, Nishino и съавт. 2002]. При пациентите с БМД, включени в регистъра, началото е в по-късна детска възраст (средно на 13 г.), с по-лека симптоматика и инвалидизация след трета-четвърта декада. Средната възраст на загуба на самостоятелна походка при пациентите с ДМД е 10 г., а при

тези с БМД – 29 г. Статистическият анализ, който проведехме не доказва връзка между приема на КСТ и възрастта на загуба на самостоятелната походка ($p > 0.05$). Свързваме това най-вече с голямата разлика в броя пациенти между двете изследвани групи, което до известна степен компроментира резултатите. В контраст на този резултат са последните данни от анализа на глобалния ДМД регистър на TREAT-NMD, който обхваща над 5000 пациенти, и показва, че медианата на възрастта на загуба на самостоятелната походка при КС лекувани пациенти е 13 г., а при тези без КСТ е равна на 10 г. ($p < 0.001$) [Koecks и съавт., 2017]. Екзитус леталис е настъпил поради респираторни и сърдечни усложнения при 12 пациенти с ДМД, на средна възраст 21 г. В световен мащаб продължителността на живот при болните с ДМД е различна, в зависимост от възможността за провеждане на изкуствена вентилация. В италианско проучване проведено сред 835 пациенти с ДМД е установена средна възраст, на която настъпва екзитус – 17.7 г. при деца без изкуствена вентилация и 27.9 г. при провеждане на такава [Nigro и съавт. 2012]. В немско проучване с 94 пациенти е установена средна продължителност 19 г. при момчета без респираторно подпомагане и 24 г. при наличие на апаратно подпомагане на дишането [Rall и съавт. 2012]. Предвид тези данни смятаме, че затрудненият достъп на пациентите в България до апаратна вентилация е свързан с липса на държавна политика в тази насока и недостатъчния брой специалисти, което от своя страна води и до смърт в по-ранна възраст в сравнение с икономически по-силни държави.

При около 30% от пациентите се установяват структурни и функционални сърдечни промени. Наблюдават се ЛК дилатация, дилатация на ляво предсърдие и в по-редки случаи ЛК хипертрофия. Функционалните сърдечни промени са свързани със систолна дисфункция и при единични случаи комбинирана систолна и диастолна дисфункция. Средната ФИ при пациентите с функционални нарушения на сърцето е 47%. Анализът показва, че нарушението на сърдечните и дихателни функции са свързани с възрастта, респективно годините на прогресия на заболяването, възможността за самостоятелно ходене и КСТ. Сърдечни нарушения при пациентите с ДМД настъпват след загуба на самостоятелната походка и възраст над 10 г. След 15 г. се увеличава броят на пациентите със структурни и функционални промени, намаля стойността на ФИ, като достига гранични стойности, което съответства на литературните данни за средна възраст на начало на кардиомиопатия при пациенти с ДМД – 14.4 г. [Connuck и съавт. 2008]. Данните от глобалния TREAT-NMD регистър за ДМД също сочат, че развитието на кардиомиопатия нарства с възрастта, като 7% от регистрираните, които имат сърдечно засягане са на/под 20 г.в., а 40% са над 20 г.в. [Koecks и съавт., 2017]. Смятаме, че КСТ има протективен ефект върху сърдечните функции дори и след загуба на самостоятелната походка, тъй като ФИ при неходещите пациенти, които приемат КСТ, е сравнима с ФИ при ходещи пациенти, докато неходещите пациенти, които не приемат КСТ, имат по-ниски резултати. Протективният ефект на КСТ върху сърдечните функции вероятно се дължи на влиянието на КС върху апоптозата на кардиомиоцитите.

След 11 г. възраст настъпва прогресивно намаление на дихателните капацитети при пациентите с ДМД, за разлика от тези с БМД, при които те са съхранени и на по-късна възраст. Неходещите пациенти в почти всички подгрупи показват по-лоши резултати при изследване на виталните капацитети в сравнение с ходещите пациенти. Регресът в стойностите на ФВК кореспондира със загубата на походка, като статистически значима разлика в стойностите на ФВК между ходещи и неходещи пациенти е установена с непараметричен тест на Mann-Whitney. Това е в съответствие с литературни данни, че стойностите на ФВК намалят с увеличаване на възрастта на пациента, и наличието на сколиоза [Kurz и съавт. 1983, Eagle и съавт. 2007, Humbertclaude и съавт. 2012, Biggar и съавт. 2001]. Изненадващо е проведеното изследване от Mayer и съавт. (2015 г.), което доказва линейна зависимост между възрастта и ФВК, но не открива връзка между стойността на ФВК и възможността за самостоятелна походка или провеждане на КСТ. От

друга страна, проведено изследване с 30 пациенти с ДМД в Истанбул през 2010 г. установява, че съхранената походка не е сигурен признак за съхранени дихателни капацитети, поради което необходимостта от провеждане на функционално изследване на дишането веднъж годишно е в сила след 6 г. възраст на детето без значение от амбулаторния статус [Ekişi и съавт. 2011]. Данните от последния анализ на глобалния ДМД TREAT-NMD регистър сочат, че използването на изкуствена вентилация нараства с увеличаване на възрастта, като само 2.9% от използващите апаратна вентилация са под 20 г.в. [Koeke и съавт., 2017]. Друг важен извод, който правят авторите на същата публикация е, че КСТ има позитивен ефект върхувентилацията ($p < 0.001$) [Koeke и съавт., 2017]. Така представените данни от различни проучвания по-скоро потвърждават необходимостта от провеждане на спирометрия при тези пациенти веднъж годишно, какъвто е и нашият подход и препоръка при проследяването на пациентите с ДМД и БМД.

Не са установени статистически значими разлики в резултатите за ФИ и ФВК при пациенти до 10 г. възраст при първия преглед, без значение дали провеждат КСТ. При проследяване след 3 г. бяха доказани статистически значими разлики в резултатите за ФИ и ФВК между двете групи пациенти – провеждащи КСТ и пациенти без терапия. Тези резултати съответстват и на данните от проведено проучване с 21 момчета с ДМД, доказващо протективния ефект на КСТ върху дихателните функции дори и при пациенти след 10 г. възраст или неходещи пациенти [Machado и съавт. 2012]. Markham и съавт. провеждат ретроспективно проучване с 37 момчета (14 от тях провеждат КСТ и 23 са без терапия) с ДМД, които изходно имат нормална сърдечна функция. За период от средно 4 г. на проследяване Markham установява, че КСТ оказва протективен ефект върху сърдечните функции [Markham и съавт. 2008]. Това проучване както и удължената преживяемост на пациентите с ДМД, която се свързва с нарастване употребата на КСТ в много западни страни, потвърждават протективния ефект на КСТ при ДМД, което не изключва и сърдечните и респираторни функции [Bushby и съавт. 2009].

Смятаме, че за постигането на по-добри резултати по отношение на респираторните функции, продължителността на самостоятелна походка и преживяемостта при тези пациенти, е необходимо развитие на държавна политика в тази насока, която да осигурява редовна рехабилитация и апаратна вентилация, както и улеснен достъп до специалисти. Поддържането на регистър за тези пациенти е важен елемент в дългосрочното проследяване на заболяването, като това в бъдеще ще позволи събиране на пост-маркетингови данни и сравнение между различните терапевтични подходи.

IV. 2. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА СПИНАЛНА МУСКУЛНА АТРОФИЯ

1. Генотипно разпределение

Общият брой на пациентите в регистъра до януари 2017 г. е 69. При 98.5% от пациентите диагнозата е потвърдена чрез молекулярно-генетично изследване за търсене на мутации в Survival Motor Neuron 1 (*SMN1*) гена. При 4.2% се открива хомозиготна делеция на екзон 7 в *SMN1* гена, а при останалите 94.3% делецията обхваща екзони 7 и 8.

2. Фенотипно разпределение

СМА тип 1 се установява при 5.7% от регистрираните. Заболяването е започнало до 6 м. след раждането, а смърт е настъпила до 1 г. и 6 м.

При двама пациенти клиничната диагноза е определена като СМА 1-2 междинен тип, тъй като те никога не са могли да седят без опора, не са проходили, но преживяемостта при тях е по-голяма, в сравнение с пациентите със СМА тип 1. Двамата пациенти са момчета на възраст 15 и 17 г. (към 01.2017 г.).

СМА тип 2 се установява при 20% от пациентите в регистъра. Един от пациентите е починал на 20 г. възраст. Останалите са на възраст между 3 и 21 г. (към 01.2017 г.).

Най-голямата група формират пациентите със СМА тип 3, които са 70% от всички регистрирани. Средната възраст, на която са загубили самостоятелната си походка е 18 г., а при трима от пациентите седенето без опора е невъзможно.

3. Възрастово, полово и фенотипно разпределение

Броят на мъжете, включени в регистъра е 40, а на жените – 29. Едно момче е със СМА тип 1, две със СМА тип 1-2 (междинна форма), седем мъже със СМА тип 2 и 30 със СМА тип 3. В регистъра са включени 3 момичета със СМА тип 1, седем със СМА тип 2 и 19 със СМА тип 3. Пациентите със СМА тип 1 са починали на възраст между 6 м. и 18 м., средната възраст е 11 м. Пациентите със СМА тип 2 са на възраст между 3 г. и 21 г., средната възраст е равна на 12 г. \pm 5 г. и медиана равна на 12 г. Пациентите в тази група седят без опора от средна възраст 9 м. до средна възраст 7 г. В последната група – СМА тип 3 – пациентите са на възраст между 4 г. и 61 г., средната им възраст е 32 г. \pm 16 г. и медиана 34 г.

4. Двигателна дейност при пациентите със СМА тип 3

Към януари 2017 г. в регистъра са включени 49 пациента с диагноза СМА тип 3. От тях 45% могат да ходят самостоятелно, други 45% не могат да ходят, но все още могат да седят без опора. Значително малък брой пациенти, равняващ се на 4% съобщават, че все още могат да ходят, ако използват опора, но само на кратки разстояния. В най-тежко

двигателно състояние са 6% от пациентите, които не могат нито да ходят, нито да седят без опора.

При 8% от болните със СМА тип 3 има данни за забавено ранно моторно развитие, като са започнали да ходят на възраст между 1 г. и 7 м. и 3 г. Възможността за седене без опора при тези 8% е настъпила след 9 м. възраст.

Повече от половината (55%) от пациентите с диагноза СМА тип 3 са загубили самостоятелна си походка на възраст между 1 г. и 4 м. и 55 г. Средната възраст е 18 г. \pm 16 г., и медиана - 12 г.

5. Хранене

Само един пациент е съобщил за хранене чрез гастростома. Това е жена със СМА тип 2, която в последствие е починала на 20 г. възраст. Останалите пациенти не съобщават за хранене чрез назогастрална сонда или гастростома.

6. Сколиоза

За сколиоза съобщават 35% от пациентите. Сколиоза не се наблюдава при пациентите със СМА тип 1, както и при пациентите със СМА тип 3, които все още ходят самостоятелно. Пациентите със сколиоза представляват 33% от групата на пациентите със СМА тип 3 и 50% от групата на пациентите със СМА тип 2. Един от пациентите със сколиоза е с междинен тип 1-2. При един пациент е проведена ортопедична корекция за стабилизиране на торакалния отдел на гръбначния стълб, извършена на 16 г. възраст. Пациентът е с поставена диагноза СМА тип 2. Носи шийна яка за поддържане на главата в изправено положение.

7. Фамилност

За фамилност съобщават 16% от пациентите в регистъра, като всички от тях са с диагноза СМА тип 3. Едно от децата със СМА тип 2 е адоптирано, поради което липсват данни за фамилност.

8. Апаратна вентилация

Двама от пациентите съобщават за използване на неинвазивна нощна апаратна вентилация. Единият пациент е починал на 10 м. възраст, а другият пациент е с междинен фенотип - СМА тип 1-2.

9. Спирометрия

При 11 пациента, които са неходещи, е изследван ФВК. Средният ФВК за тази група пациенти е 70.5%. При 12 пациента, които могат да ходят самостоятелно, с поставена диагноза СМА тип 3, средният ФВК е 89%. Проведен е непараметричен тест на Mann-Whitney за установяване статистически значима разлика между резултатите за ФВК между ходещи и неходещи пациенти, като такава не е доказана ($p=0.156$, $U=38.500$, $z=-1.419$).

10. Обсъждане

СМА е заболяване, пред което в последните години започнаха да се откриват нови терапевтични хоризонти, по-голямата част от които все още са в рамките на клинични проучвания. За да се улесни достъпът на пациентите до новите терапевтични стратегии от една страна, а от друга да се ускори намирането на подходящи пациенти за клинични изпитания, от изключителна важност е наличието на предварително подготвена база данни. Във връзка с това създаденият пациентски регистър дава възможност за бърз отговор при допитване до екипа за броя подходящи пациенти със СМА в страната, с което смятаме, че нашата база данни е от полза, както на индустрията и изследователите, така и на пациентите. Представени са обобщение и анализ на данните от националния пациентски регистър за СМА. При възрастово разпределение на пациентите по декади най-многобройна е групата между 10 и 19 г., формираща 27.3% (18/66), като подобно разпределение се наблюдава и в световен мащаб според обобщени данни на TREAT-NMD от 2014 г. [Bladen и съавт. 2014]. При разпределение по фенотип обаче числено превъзходство има групата на пациентите със СМА тип 3 – 49 души, което се различава от разпределението в повечето държави, където СМА тип 2 е най-често срещаната форма [Bladen и съавт. 2014]. Смятаме, че основната причина за това разпределение е фактът, че пациентите със СМА тип 1 и тип 2 са насочвани от личните лекари към клиниките по педиатрия и детска неврология, както и кратката преживяемост след поставяне на диагнозата. Друга причина, поради която пациентите със СМА тип 2 не достигат до нас след поставяне на диагнозата, е нежеланието им/на родителите им да проследяват състоянието си поради недостатъчни възможности за лечение. Освен България СМА тип 3 има най-голямо представителство от пациенти в националните регистри на Франция, Унгария, Полша, САЩ, Великобритания и Румъния.

Средната продължителност на живот на пациентите със СМА тип 1, участващи в регистъра, е 11 м., като по литературни данни 68% от децата загиват до 2 г. възраст, а 82% до 4 г. възраст [Zerres и съавт. 1997, Munsat и съавт. 1995]. Според проучвания от последното десетилетие, след подобряването на грижите за тези деца поради въвеждането на респираторното подпомагане и улесняване на храненето чрез назогастрални сонди, медианата на продължителността на живот достига 24 м. възраст [Oskoui и съавт. 2007], а медианата на възрастта, на която настъпва смърт или започва постоянна неинвазивна вентилация, достига 13.5 м. [Finkel и съавт. 2014]. Предвид посочените данни смятаме, че има необходимост да се подобрят грижите за децата със СМА тип 1 в България, което да доведе до увеличаване продължителността на живот при тях и съответно до подобряване на възможностите да бъдат включени в нови терапевтични програми. Предвид широкия възрастов диапазон на пациентите със СМА тип 3 в нашия регистър смятаме, че заболяването при тези болни по-скоро няма отношение към продължителността на живот. Само един пациент със СМА тип 2 е починал на 20 г. възраст, а средната възраст на останалите болни с тази форма е 12 г., а на пациентите със СМА тип 3 – 32 г. Към момента няма категорични данни за продължителността на живот при СМА тип 2. В проучване със 569 пациенти със СМА тип 2 и тип 3 Zarres и съавт. установяват, че 68% от болните със СМА тип 2 са на възраст 25 г., а тези със СМА тип 3 нямат по-различна продължителност на живот в сравнение с общата популация [Zerres и съавт. 1997].

По отношение загубатана самостоятелната походка се наблюдават някои различия в отделни държави, например Аржентина, Унгария, Украйна и Сърбия показват статистически значима по-ранна загуба на възможността за ходене в сравнение с Германия/Австрия, Швейцария и Великобритания ($p=0.0141$) [Bladen и съавт. 2014]. Средната възраст за загуба на походката в Украйна е 9 години, а за Великобритания е 19 години [Bladen и съавт. 2014]. Силно впечатление прави това, че в икономически силни

държави като Великобритания и Швейцария продължителността на възможна самостоятелна походка на тези пациенти е значително по-голяма, за разлика от икономически по-слаби държави като Украйна и Сърбия, където тази продължителност е около два пъти по-малка. Ситуацията в България не е по-различна, тъй като средната възраст, на която е загубена самостоятелната походка е 18 г. \pm 16 г., при неправилно разпределение на случаите, затова по-информативна би била медианата, която е равна на 12 г.

В Чехия, Унгария, Турция, Румъния и Сърбия пациентите, използващи НГС, са значително по-малко в сравнение със САЩ и западноевропейски държави [Bladen и съавт. 2014]. В България картината е сходна с тази в останалите страни от Източна и Централна Европа, като в нашия регистър само един пациент със СМА тип 2 съобщава за хранене чрез гастростома. В глобалния регистър на TREAT-NMD 9% от пациентите използват НГС, като най-голям процент са тези със СМА тип 1 – 83%, СМА тип 2 -13% и СМА тип 3 – 4% [Bladen и съавт. 2014]. Причините за тези разлики между отделните държави най-вероятно отново са свързани с недостатъчно развита система за грижи при хронично болни и иваидизирани хора.

Прогресираща сколиоза е едно от основните усложнения при повечето пациенти със СМА тип 2 и около половината от пациентите със СМА тип 3, като около 50% от децата преди 10 г. възраст (най-вече неходещите) развиват гръбначно изкривяване с ъгъл над 50 градуса, което налага оперативна намеса [Chandran и съавт. 2011]. В Унгария, Мексико и Украйна няма нито един регистриран пациент, който да е провел операция по повод сколиоза [Bladen и съавт. 2014]. В нашия регистър има само един пациент със СМА тип 2, който е провел операция за стабилизиране на гръбначен стълб. Вероятните причини за непроведането на стабилизация на гръбначния стълб в тези страни и в България са икономически, липса или ограничен достъп до специалисти, както и сложността на провеждането на операции при тези пациенти поради рисковете при използване на някои анестетици. ФВК е изследван при 23 пациенти, от които 12 със запазена самостоятелна походка и 11 загубили способността за самостоятелно ходене. Въпреки, че статистически значима разлика между резултатите за ФВК в двете групи не се установява ($p > 0.05$), вероятно свързано с малкия брой изследвани, се забелязва отчетлива разлика между средните стойности – среден ФВК при ходещите пациенти е 89% и 70.5% при неходещите пациенти. В подкрепа на тези резултати е и проспективното проучване със 77 пациенти със СМА, при което е изследван ФВК в зависимост от нивото на двигателна способност. Установява се, че ходещите пациенти имат нормални или близки до нормата ФВК, докато при пациентите, които не могат да седят без опора, показват най-ниски резултати [Samaha и съавт. 1994]. Едва 4.3% от пациентите в регистъра са провеждали апаратна вентилация. В световен мащаб изкуствена вентилация използват 615 пациенти от 5068 болни (12%), регистрирани в глобалния регистър на TREAT-NMD, от които 29% използват инвазивна вентилация и 71% неинвазивна вентилация [Bladen и съавт. 2014]. Между 30 и 50% от пациентите със СМА тип 1 във Великобритания, САЩ, Франция, Германия, Австрия и Италия използват неинвазивна вентилация. В някои от страните, участващи в глобалния TREAT-NMD регистър на пациенти със СМА няма включени болни със СМА тип 1, които да използват инвазивна вентилация: България, Македония, Сърбия и Румъния [Bladen и съавт. 2014]. Причините за това свързваме с недостатъчно финансиране на този тип грижи за пациентите със СМА.

Обобщаването на всички тези данни в пациентски регистри е стъпка към подобряване грижите за пациентите, улесняване провеждането на клинични проучвания и изготвянето на програма за лечение с новорегистрирани медикаменти, но липсата на държавна политика в тази насока ограничава възможностите за по-добър и продължителен живот при болните със СМА.

IV. 3. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА МИОТОНИЧНА ДИСТРОФИЯ ТИП 1 (БОЛЕСТ НА ЩАЙНЕРТ) И ТИП 2 (ПРОКСИМАЛНА МИОТОНИЧНА МИОПАТИЯ)

1. Генотипно разпределение

При 80 пациенти диагнозата е потвърдена чрез молекулярно-генетично изследване за търсене на увеличен брой тринуклеотидни CTG или тетрануклеотидни CCTG повтори в съответно *DMPK* гена или *ZNF9* гена. По-голям е броят на пациентите с МД тип 1 – 75, а пациентите с диагноза МД тип 2 са 5. При 5 пациенти е поставена клинична диагноза миотонична дистрофия, но при проведените генетични изследвания не са установени увеличен брой тринуклеотидни и тетрануклеотидни повтори. При 3 пациенти има клинични данни за миотонична дистрофия, но не е проведено генетично изследване.

2. Възрастово и полово разпределение

2.1 Възраст и пол на пациентите в регистъра

Мъжете са на възраст между 12 г. и 66 г., средната им възраст е 42.6 г. \pm 14.8 г. Жените са на възраст между 18 г. и 74 г., средната им възраст е 47.9 г. \pm 14.8 г. Пациентите с МД1 са на възраст между 12 г. и 74 г., средна възраст 45 г. \pm 15 г. Пациентите с МД2 са на възраст между 58 и 60 г., средната възраст е 59.5 г. \pm 0.9 г.

2.2 Възраст на начало на заболяването

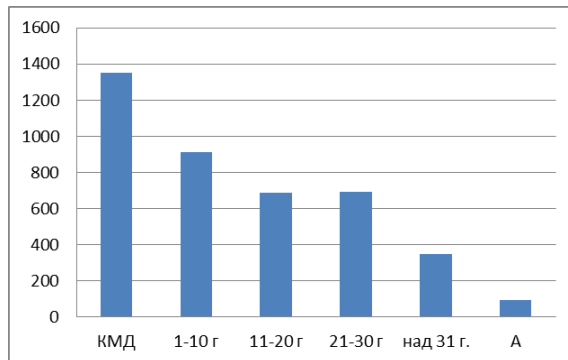
Възрастта на начало на заболяването при пациентите с МД1 е между 2 г. и 58 г., средната възраст е 26.6 г. \pm 13.6 г. За жените средната възраст на начало е 25.8 г., а за мъжете тя е 27.7 г. При четирима пациенти с конгенитална форма на миотонична дистрофия (КМД) началото на заболяването е от раждането. В регистъра са включени и трима пациенти (двама с МД тип 1 и един с МД тип 2), при които са установени мутации в съответните гени, но самите те не проявяват симптоми на заболяването. Установяват се следните форми на заболяването според възрастта на изява: конгенитална форма с начало на изява след раждането – при 4 пациенти, детска форма с възраст на начало до 10 г. при 9 от пациентите, ювенилна форма с начало на изява до 20 г. възраст – при 17 пациенти, и класическа форма с начало на изява в зряла възраст – 50 пациенти.

Средната възраст на начало при пациентите с диагноза МД тип 2 е 46 г. \pm 5.8 г. Един от пациентите с тази диагноза е асимптомен носител на тетрануклеотиден повтор CCTG в *ZNF9* гена.

Предвид средната възраст на начало пациентите с МД тип 1 условно са разделени на две групи, с начало на изява под или на 30 г. и над 31 г. възраст. Забелязва се, че при жените е по-голям броят на тези с начало на изява на заболяването преди 30 г. възраст (75% от жените), докато при мъжете броят на тези с изява преди 30 г. и след 31 г. е почти

равен (съответно 59% и 41%). Не е установена статистически значима връзка между възрастта на начало и пола на пациентите чрез “Independent Samples T-Test” ($p=0.938$).

Наблюдава се връзка между броят на CTG повторите и началото на заболяването. При по-голям брой повтори, възрастта на начало е по-ранна. Тестът на Pearson за корелация между две променливи доказва умерена негативна корелация между възрастта на начало на заболяването и големината на тринуклеотидната експазия ($p=0.03$ и коефициент на Pearson, показващ силата на корелация $r = 0.396$).

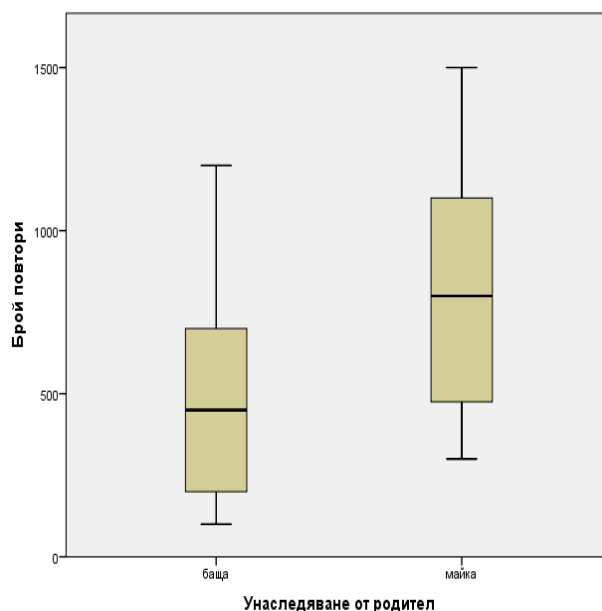


Фигура 6. Среден брой на CTG повторите при пациентите с МД тип 1, разпределени в групи в зависимост от възрастта на начало
КМД – конгенитална миотонична дистрофия; А – асимптомно носителство

3. Фамилност

За фамилност по отношение на заболяването съобщават 68/80 (85%) пациенти от 36 родословия. При всички 8 семейства, за които има данни за броя на повторите при всички засегнати лица, се наблюдава антиципация по отношение броя на тринуклеотидните повтори. Увеличението в броя на повторите в следващите поколения варира между 150 и 1000, средното увеличение е с над 417 повтора.

При пациентите, унаследили заболяването по майчина линия, началото на заболяването е на средна възраст 21 г., а при пациентите, унаследили заболяването по бащина линия, тази възраст е 27 г. Средният брой повтори при унаследяване от бащата е 450, а при унаследяване от майката – 800.



Фигура 7. Сравнителен анализ на броя тринуклеотидни повтори, унаследени от бащата (ляво) или от майката (дясно)

При унаследяване на заболяването по майчина линия има 3 случая на КМД, а при унаследяване от бащата – 1 случай на КМД. Броят на повторите при пациентите с КМД, унаследили заболяването по майчина линия, е между 1000 и 1500, за разлика от пациентът с КМД, унаследил заболяването по бащина линия, при

който се установяват между 250 и 800 повтора.

Връзката между пола на родителя, предаващ заболяването и броя на повторите е подложена на статистически анализ, който доказва наличие на статистически значима разлика между броя на унаследените повтори от бащата или от майката ($p=0.010$, $U=92.5$, $z=-2.565$).

4. Двигателна дейност

4.1 Първоначални симптоми

При 62/75 пациенти (83%) първите прояви на заболяването са свързани със схващане на мускулите (акционни миотонични феномени) обикновено от дисталните мускулни групи, придружени или не от мускулна слабост за дисталните мускулни групи на горни и/или долни крайници. От тези пациенти при 7/62 (11%) началото е от дисталните отдели на долни крайници, при 19/62 (31%) началото е от дисталните отдели на горни крайници, при останалите 15/62 (24%) първоначалните оплаквания са започнали едновременно от горни и долни крайници. При 21/62 (34%) от пациентите началната изява на заболяването е свързана само със схващане на мускулите на ръцете дистално без прояви на мускулна слабост. По групи мъже/жени няма голяма разлика в разпределението, като се наблюдава все пак известен превес на слабостта в ръцете в групата на жените, а на слабостта в четирите крайника – в групата на мъжете. Не се установява статистически значима връзка между пола и началните симптоми ($p=0.499$).

При четирима пациенти заболяването дебютира с оплаквания от схващане на дисталните мускули в горни крайници, съпроводени и със схващане на дъвквателната мускулатура.

Четирима пациенти имат конгенитална форма на миотонична дистрофия, като при тях началото на заболяването е още в кърмаческа възраст. Тези пациенти са имали генерализирана мускулна хипотония след раждането, отслабен сукателен рефлекс, мускулна слабост в ранна детска възраст, изоставане в ранното моторно и невропсихично развитие, а в по-късна възраст миотонични прояви в ръцете и по-изразена слабост в долни крайници, както и чести респираторни инфекции.

При четирима пациенти с диагноза МД тип 2 първоначалните прояви на заболяването са от мускулна слабост в проксималните отдели на долните крайници. Само един от пациентите с МД тип 1 има нехарактерно начало на заболяването с мускулна слабост в проксималните мускули на долни крайници, която в последствие е обхванала и дисталните.

4.2 Походка

Самостоятелната походка е възможна при 61/80 пациенти, като от тях 3 пациенти с вродена форма на миотонична дистрофия тип 1 (2 мъже и 1 жена) са на възраст 22, 24 и 41 г.; 5 пациенти (2 мъже и 3 жени) са с диагноза МД тип 2 и са на възраст между 44 и 60 г.; и 53 пациенти (26 мъже и 27 жени) с диагноза МД тип 1, които са на възраст между 12 г. и 74 г., средната им възраст е $43.9 \text{ г.} \pm 9 \text{ г.}$ При пациентите с МД тип 1 заболяването датира между 0 и 39 г., средно $17 \text{ г.} \pm 9.6 \text{ г.}$ Походката при пациентите с МД тип 1 и КМД е миопатна, степажна.

При 11/80 (3 мъже и 8 жени) пациенти походката е възможна с помощно средство за едностранна подкрепа. Средната продължителността на заболяването при тези пациенти е 23.3 г. \pm 10.8 г. Походката при тези пациенти е миопатна, степенна с едностранна подкрепа. При 3/80 (1 мъж и 2 жени) пациенти с диагноза МД тип 1 придвижването е възможно само с помощта на инвалидна количка след средна продължителност на заболяването 12.6 г.

5. Акционни миотонични феномени

По-голямата част от пациентите 69/80 (83%) съобщават за схващане на мускулите след силната им контракция (акционни миотонични феномени), като това често е и един от първите симптоми на заболяването. При 22/69 се наблюдава миотония, ограничаваща ежедневно функциониране на болния.

6. Сърдечно засягане

6.1 Сърдечна функция

Регистърът разполага с данни за сърдечната структура и функция при 70/80 пациенти. При 10 от пациентите след проведена ехокардиография се установяват функционални нарушения, свързани със систолната и или диастолната функция. При 5 от пациентите със сърдечни функционални нарушения възрастта на начало е под 30 г. и броят на повторите при тях е над 800. С начало след 31 г. възраст са 5 пациенти, като броят на повторите при тях е под 300. Един от пациентите е с МД тип 2. Поради малкия брой пациенти с данни за функционални сърдечни нарушения не би могла да се търси статистически значима корелация между възрастта на начало, броя повторите и наличието или отсъствието на нарушена функция. При 4 пациенти (2 с начало до 30 г. възраст и 2 с начало след 31 г. възраст) ФИ е под нормата (норма \geq 50%). Средната ФИ при тези пациенти е 45% \pm 3.5%.

6.2 Сърдечна структура

При 7 пациенти се установява лека левокамерна хипертрофия и при един пациент левокамерна дилатация. Само при един от пациентите началото е преди 30 г. възраст, като при него се установяват 600 СТГ повторения в *DMPK* гена. Останалите 6 пациенти са с начало на заболяването след 31 г. възраст, като средният брой на повторите при тях е под 400.

6.3 Клапни промени

При 24/80 пациенти се наблюдават клапни промени, водещи до малка митрална или комбинация от малка митрална и трикуспидална регургитация, поради пролапс на клапните платна. Двама от пациентите са с диагноза МД тип 2. Хи-квадрат тест е проведен за търсене на статистически значима връзка между големината на експанзията и наличието на клапна недостатъчност, като такава не се доказва ($p=0.510$).

6.4 Ритъмно-проводни нарушения

При 42 пациенти е проведено Холтер-ЕКГ мониториране и при 12/42 са установени ритъмно-проводни нарушения. Сред установените нарушения са надкамерни и камерни

екстрасистолни аритмии, AV блок I-II степен, пристъпно предсърдно мъждене, ляв бедрен блок и ляв преден хемиблок. Постоянен пейсмейкър е поставен при 2 пациенти с AV блок и предсърдно мъждене. Дихателни функции

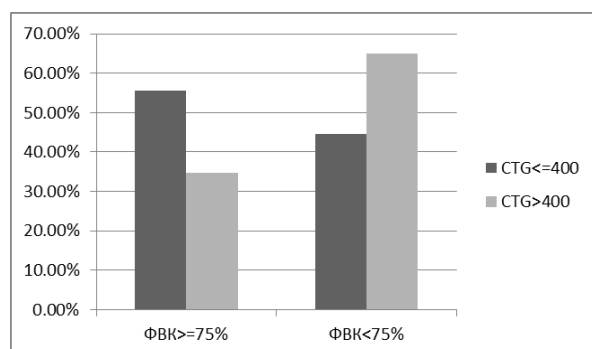
При 56 пациенти е проведено функционално изследване на дишането за отчитане на вентилаторните капацитети. При 39/56 (70%) пациенти се установяват стойности под нормата (норма > 75%) за ФВК. Средният ФВК при тези пациенти е $54.4\% \pm 12.2\%$. В зависимост от продължителността на заболяването средните стойности за ФВК са: 49.6% при прогресия до 10 г. (n=9), 55% при прогресия между 11 и 20 г. (n=14), 64.6% при прогресия между 21-30 г. (n=5), 52.3% при прогресия над 31 г. (n=9).

Чрез дисперсионен анализ „one way ANOVA” тест е изследвана зависимостта на ФВК от годините на прогресия, като пациентите са разделени в четири групи (прогресия от 0 до 10 г., от 11 до 20 г., от 21 до 30 г., от 31 до 40 г.). „One way ANOVA” тестът показва статистически значима разлика между резултатите за ФВК в отделните групи ($p=0.023$). Последващ анализ между групите (Tukey post hoc анализ) установява статистически значима разлика в стойностите на ФВК единствено между групите с 21-30 г. прогресия и 31-40 г. прогресия на заболяването ($p= 0.037$).

Таблица 2. Разпределение на пациентите по групи според продължителността на заболяването и съответните средни стойности на ФВК

Групи	Брой (n)	ФВК%-средна стойност	Стандартно отклонение
0-10 г.	13	59.62	17.770
11-20 г.	24	69.50	21.603
21-30 г.	10	75.40	12.929
31-40г.	9	52.33	10.840
Общо	56	65.50	19.232

При разпределение на пациентите според големината на експанзията и вентилаторните показатели, се наблюдава по-голям относителен дял на пациентите с данни за ФВК в границите на нормата в групата пациенти с СТГ експанзия под 400 повтора. В групата пациенти с СТГ експанзия над 400 повтора се наблюдава обратното разпределение – относителният дял на пациентите с ФВК под нормата е по-голям. Въпреки така наблюдаваното разпределение не се установява статистически значима връзка между броя на повторите и ФВК при статистически анализ проведен с “Independent Samples t-Test” ($p>0.05$, 0.259). Същото изследване е проведено и при разпределение на пациентите в групи с под и над 800 повтора, като отново не се установи статистически значима връзка между броя на повторите и ФВК ($p>0.05$).



Фигура 8. Разпределение на пациентите в зависимост от броя СТГ повтори и ФВК

7. Дисфагия

За дисфагия съобщават 17/80 (21%) пациенти. Проведеният статистически анализ на данните с теста на Mann-Whitney не показва статистически значима връзка между броя на повторите и наличието или отсъствието на дисфагия като симптом на заболяването ($p=0.572$, $z= - 0.565$, $U=215$).

8. Невроофтالمологично изследване

Данни за проведеното невроофтالمологично изследване има за 66 пациенти. При 15/66 (23%) пациенти не се откриват отклонения от нормата. При 45/66 (68%) се установяват лещени опакитати и характерните катаракти тип „Christmas tree” и “Iridescent dust”. Операция за отстраняване на лещата по повод катаракта е проведена при 11 пациенти, като операцията е проведена на възраст между 30 и 60 г., средна възраст 46.5 г. \pm 10.6 г. При 23/66 (35%) се установява птоза, като само при един пациент тя е едностранна. При 5/66 (8%) се установяват инсуфициенция (лекостепенна или манифестна) на mm.orbiculares oculi с незатваряне на клепачите двустранно, при 3/66 (5%) се наблюдава ограничение в очните движения хоризонтално или вертикално. При 3 пациенти се установяват пигментни промени в ретината, като само при един е налице атипичен пигментен ретинит.

9. Невропсихологично изследване

При 47 пациенти е проведено изследване за общокогнитивна оценка - Mini-Mental State Examination (MMSE) в невропсихологичния кабинет на Клиниката по Нервни болести.

Съхранено общокогнитивно функциониране с резултат между 27 и 30 т. включително е установено при 33/47 пациенти. Общокогнитивно функциониране в диапазона на леко когнитивно нарушение включва пациентите с MMSE = 26 – 21 т. Средният брой точки при тези пациенти е 24 т. \pm 1.8 т. Статистически анализ с теста на Spearman не установява корелация между броя на повторите и броя точки от MMSE ($p=0.175$).

10. Дизморфични белези

При 20/57 са установени дизморфични белези, включващи висок свод на небцето, дефектно съзъбие и долихоцефалия. Средният брой CTG повторения при пациентите с дизморфизъм е ~700, а средната възраст на начало е 21.8 г., докато при пациентите без дизморфични белези – 539 повторения и средна възраст на начало 28 г. Изследвана е зависимостта между броя на повторите и наличието или липсата на дизморфични белези чрез “Independent Samples t-Test”, който не показва връзка между двете променливи ($p=0.058$).

11. Миотонична дистрофия тип 2 – клинична характеристика

Клинико-генетично са изследвани 5 пациенти с МД2 – двама мъже и три жени. Началото на заболяването е между 40 и 54 г., средно на 46 г. \pm 5.8 г. Един от пациентите е асимптомен носител на тетрануклеотидна експанзия. Той има сестра с разгърната клинична картина на заболяването. При четиримата симптомни пациенти началото на

заболяването е със схващане и слабост в проксималните отдели на долни крайници, като един от пациентите съобщава и за схващане и слабост в дисталните отдели на горни крайници. Самостоятелната походка е възможна и при четиримата пациенти, като при клиничния преглед се установява намалена мускулна сила в проксималните отдели на четирите крайника и флексорите на шията. При трима от пациентите се наблюдават акционни и перкуссионни миотонични феномени.

По отношение на сърдечния статус се установи диастолна дисфункция при един пациент, пролапс на митрална клапа с наличие на малка митрална регургитация също при един пациент. Пристъпно предсърдно мъждене е диагностицирано на 50 г. възраст при един от пациентите, без да налага поставяне на изкуствен водач на ритъма (пейсмейкър) към момента. При проследяване на пациентите ехокардиографски за период от 3 г. не се установява съществена динамика по отношение структурното и функционално състояние на сърцето. Установените стойности за ФИ са в границите на нормата и варират между 59 и 69%, средно $64.5\% \pm 4\%$ (при последното изследване, проведено при 3 г., 5 г., 15 г. и 20 г. прогресия на заболяването при различните пациенти). Не се установява значителна разлика във ФИ при пациентите, въпреки голямата разлика в продължителостта на прогресия на болестта.

При първоначалното включване в регистъра пациентите са провели спирометрия с данни за ФВК в границите на нормата и при четиримата пациенти. Прогресията на заболяването към този момент е между 3 и 15 г., ФВК е между 75% и 101%, среден ФВК=86.5%. При проведено проследяване на пациентите след 5 г. се установяват по-ниски стойности на ФВК – между 64 и 70%, среден ФВК=68%. Поради малкия брой на пациентите не би могла да се установи статистически значима връзка между продължителността на заболяването и ФВК.

Невроофтальмологично изследване е проведено при четиримата пациенти, като при всички се установява катаракта. Наблюдават се множество цветни опакитати, с праховидни размери и някои единични по-едри белезникави опакитати, разположени в кортекса на лещата. При двама пациенти е проведена операция на катарактите, съответно на възраст 50 г. и 54 г.

12. Обсъждане

Представени са обобщение и анализ на данни от създадения български пациентски регистър за миотонична дистрофия тип 1 и тип 2, който работи в колаборация с международната мрежа TREAT-NMD. До момента в него са включени 80 пациента с генетично верифицирани диагнози – 75 с МД1 и 5 с МД2.

Възрастта на начало на заболяването варира в широки граници, като при пациентите с МД2 се наблюдава отчетливо по-късно начало в сравнение със средната възраст на начало на пациентите с МД1. Средната възраст на начало за МД1 е 26.6 г., а при МД2 тя е 46 г., което съответства с публикуваните данни, че началото е обикновено през второто и третото десетилетие [Harper PS, 2001, Udd и съавт., 2012]. Сред българските пациенти се установяват всички форми на начало, описани в литературата до този момент – конгенитална, в ранна детска възраст, ювенилна и класическа [Amato и съавт., 2008, Udd и съавт., 2012], като някои автори причисляват детската форма към ювенилната. Само 5% от МД1-засегнатите в нашето проучване са с конгенитална форма. Проучване, насочено към новородени с прояви на МД във Великобритания, предполага, че около 15% от диагностицираните с МД на Острова са с КМД [Harper PS, 1975]. Малкия брой на пациентите с конгенитална форма в регистъра си обясняваме с факта, че след диагностицирането им от педиатри или детски невролози, те/родителите им рядко търсят

медицинска помощ за проследяване на състоянието, поради липсата на патогенетично лечение.

Анализът показва съотношение мъже:жени=1:1.3, каквото е описано и от други проучвания [Harper PS, 2001]. Полът на болния не е определящ за възрастта на начало ($p=0.938$), въпреки привидно по-големия брой на жените с начало преди 30 г. възраст. Такава зависимост е отхвърлена и в проучване, включващо 295 пациенти с МД тип 1 [Mathieu и съавт., 1992], което ни дава основание да мислим, че наистина такава връзка не съществува и причината за отсъствието на статистически значимост не се дължи на малкия брой пациенти, включени в нашия анализ.

Установи се умерена негативна корелация между възрастта на начало на заболяването и големината на тринуклеотидната експанзия ($p=0.03$ и коефициент на Pearson, показващ силата на корелацията $r=0.396$) при пациентите с МД1. Според проучване на Morales и съавт. от 2012 г. дължината на прогениторния алел е основен модификатор за възрастта на изява, без да има праг на броя на повторите, който да оказва влияние върху възрастта на начало. Hamshere и съавт. от 1999 г., смята, че при експанзия на CTG над 1.2 kb, абсолютният брой на повторите не би могъл да бъде индикатор за очакваната възраст на начало. Тези проучвания ни дават основание да мислим, че възрастта на дебют е в силна корелация с големината на експанзията, но все пак точната възраст на начало, независимо от абсолютния брой на повторите, вероятно се определя и от намесата на външни фактори и/или влиянието и на други гени.

При 85% от изследваните от нас пациенти има фамилност по отношение на заболяването и автозомно доминантен ход на унаследяване, като броят на пациентите с унаследяване от майката или от бащата е почти равен. Няколко проучвания доказват антиципацията по отношение на броя повтори в следващите поколения [Lavedan и съавт., 1993, Redman и съавт., 1993, Harley и съавт., 1993, Brunner и съавт., 1993]. В допълнение Brunner и съавт., установяват, че степента на експанзията е отчетливо по-висока при унаследяване от бащата. За разлика от това проучване при нашите пациенти се доказва статистически значима връзка между пола на родителя, предаващ заболяването, и големината на експанзията, като последната е по-голяма при унаследяване от майката ($p=0.010$). Полът на предаващия заболяването родител не определя възрастта на начало ($p=0.138$), което е потвърдено и в проучвания от други автори [Mathieu и съавт., 1992].

Най-чести и най-постоянни симптоми при пациентите с МД1 са мускулна слабост в дисталните отдели на горни крайници и миотонични феномени [Turner C, Hilton-Jones D 2014], които са най-разпространени и сред пациентите от нашия регистър. Няма разлика в дебютната клинична изява, наблюдавана при мъжете и жените ($p=0.499$), като такива данни не са открити и при литературната справка. По-рядко в началото се наблюдава слабост и схващания в долни крайници (11% от мъжете и 11 от жените) или комбинирано засягане на горни и долни крайници (26% от мъжете и 22% от жените). Въпреки, че само четирима пациенти съобщават за схващане на дъвкателната мускулатура, проучване на Zanoteli и съавт. в тази насока представя магнитнорезонансни данни за често засягане на масетерите и птеригоидните мускули [Zanoteli и съавт. 2002]. При МД2 слабостта обхваща проксималните отдели на крайниците. Прогресията и на двата типа МД е бавна, като 11 пациенти съобщават за постоянно използване на едностранна подкрепа за придвижване, а 3 са загубили възможността за самостоятелна походка и използват инвалиден стол за придвижване. Средната продължителност на заболяването при тези 3 пациенти до загуба на самостоятелна походка е 12.6 г.

Сърдечното засягане се изразява предимно с проводни нарушения, които често стават причина за ранен летален изход при МД1 [Bassez и съавт., 2004, Mögner и съавт., 2010, Lau и съавт., 2005]. При около 30% от изследваните пациенти в нашето проучване се

установяват надкамерни и камерни екстрасистолни аритмии, AV блок I-II степен, пристъпно предсърдно мъждене, ляв бедрен блок и ляв преден хемиблок. Проведените ехокардиографии сочат, че около 11% от изследваните страдат от левокамерна систолна дисфункция, което е сравнимо с резултатите от голямо проучване с 406 пациенти, установяващо ЛК систолна дисфункция при 10% [Bhakta и съавт., 2010]. Проучване на Wahbi и съавт. от 2009 г. описва по-голяма честота на левокамерна дисфункция при МД2 спрямо МД1 [Wahbi и съавт., 2009]. Поради лимитирания брой пациенти с МД2 в нашия регистър, не можем да направим сравнение на сърдечното засягане при двата типа.

Дихателна недостатъчност е основна характеристика на заболяването и основна причина за смърт при пациентите с МД1, но патологичните ѝ механизми все още не са напълно изяснени [Шопова и съавт., 2014]. Причините за респираторната слабост са свързани с ангажиране на дистрофични и миотонични промени в респираторните мускули [Vogaard и съавт., 1992, Jammes и съавт., 1985, Serisier и съавт., 1982, Zifko и съавт., 1996] и на аномалии в нервната система, генерираща и контролираща дихателния процес [Kilburn и съавт., 1959, Ono и съавт., 1996, Takasugi и съавт., 1995]. При нашата кохорта от пациенти се установява респираторно засягане при 70% от изследваните, като е забелязана известна зависимост между броя на повторите и ФВК, която обаче за момента не показва статистическа значимост, както и не са намерени подобни данни в литературата.

Очното засягане се изразява най-вече в птоза на клепачите и катаракти, блефарит и в редки случаи външна офталмопареза [Miler и съавт., 2006]. Катарактите при МД обикновено са по типа на т.нар „иридесцентен прах“ и „коледно дърво“. При част от пациентите като субклиничен белег се описва намаляване на сакадираните очни движения, което според някои автори се обяснява с дистрофичните промени в екстраокуларните мускули [Oohira и съавт., 1983, Burian and Burns, 1966]. Описани са и пигментни нарушения на ретината [Raitta and Karli, 1982, Betten и съавт. 1971]. При 66 пациенти от регистъра е проведено невроофтальмологично изследване, което установи отклонения от нормата при 15/66 (23%), включващи характерни промени в очната леща (лещени опакитати и катаракти тип „Christmas tree“ и „Iridescent dust“), птоза, инсуфициенция на м.леватор палпебре и м.орбикуларис окули, както и понякога нарушена окуломоторика с инсуфициенция на функцията на екстраокуларните мускули, както и пигментни промени при трима пациенти.

Проведена е оценка на общото когнитивно функциониране чрез Mini-Mental State Examination (MMSE) при 47 пациенти, като последващият статистически анализ не установи връзка между броя повтори и резултата от теста ($p=0.175$). Леко когнитивно нарушение е диагностицирано при 14 пациенти. Когнитивен дефицит е характерен за конгениталната и ранна детска форма на заболяването, но по-ниско IQ се среща предимно при болните с класическа форма [Jean и съавт. 2014].

Малкият брой пациенти с МД2 не позволява провеждане на задълбочени статистически анализи, но въпреки това ясно личи по-късната възраст на начало на пациентите в сравнение с МД1. Прави впечатление интрафамилната хетерогенност при брат и сестра, като сестрата е с разгърната клинична картина на заболяването, а братът е асимптомен. Не се установяват разлики по отношение на сърдечното засягане в сравнение с МД1, както и по отношение на дихателните капацитети. Невроофтальмологичното изследване при болните с МД2 показва 100% засягане с единствено наличие на катаракти без други очни промени.

Системното засягане при пациентите с МД налага тяхното комплексно проследяване и лечение от страна на всяка една система, която би могла да бъде въввлечена. Необходим е стриктен контрол на потенциалните животозастрашаващи усложнения, засягащи сърцето и респираторните функции. Продължителността на живот може да се повлияе положително

чрез провеждане на неинвазивна или инвазивна изкуствена вентилация, когато виталните капацитети достигнат критични стойности. От изключителна важност е регулярното провеждане на 24 ч. Холтер-ЕКГ мониторинг дори при асимптомни пациенти [Pelargonio и съавт., 2002] с цел навременното поставяне на изкуствен водач на ритъма, поради риск от ранна смърт при тези пациенти. Ежедневната рехабилитация подобрява качеството на живот.

IV. 4. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА ВРОДЕНИ МИАСТЕННИ СИНДРОМИ

1. Генотипно разпределение

В 95% от случаите диагнозата е генетично потвърдена чрез ДНК секвениране или single-strand chain polymorphism (SSCP). В тези случаи заболяването е причинено от мутация 1267delG в екзон 12 в гена, кодиращ ϵ -субединицата на ацетилхолиновия рецептор (AChR).

2. Фенотипно разпределение

Пациентите (91) са разпределени в три групи в зависимост от тежестта на клиничната картина: лека, умерена и тежка. При леката форма са включени пациенти с едностранна или двустранна птоза на клепачите и офталмопареза с или без лека булбарна слабост и лека слабост в проксимални мускули на крайниците. Към групата на умерена тежест са пациентите със слабост в проксималните мускули и булбарна слабост. Към тежката форма са причислени тези болни, които имат изразена слабост в проксималните мускули на крайниците, водеща до промяна в походката или загуба на самостоятелната походка и булбарна слабост.

Общият брой на пациентите с леко протичане на заболяването е 44 (24 са мъже и 20 са жени). Със средна степен на тежест на клиничната картина са 26 болни (16 мъже и 10 жени). Симптоми, отговарящи на тежката форма на болестта, са проявили 21 души (8 мъже и 13 жени).

3. Разпределение по фенотип и възраст

Разпределението на пациентите по възраст и пол според фенотипната изява е представено на таблиците.

Таблица 3. Разпределение по пол в различните клинични групи

Тежест на клиничната картина		Мъже	Жени	Общо
лека	брой	24	20	44
	%	50.0%	46.5%	48.4%
умерена	брой	16	10	26
	%	33.3%	23.3%	28.6%
тежка	брой	8	13	21
	%	16.7%	30.2%	23.1%
общо	брой	48	43	91
	%	100.0%	100.0%	100.0%

Таблица 4. Разпределение по възраст в различните клинични групи

Тежест на клиничната картина	Брой	Възраст			
		Средна	Стандартно отклонение	Минимална	Максимална
Лека	44	23.7	12.3	2.0	52.0
Умерена	26	20.2	14.2	1.9	59.0
Тежка	21	38.8	16.7	10.0	64.0
Общо	91	26.2	15.5	1.9	64.0

4. Оценка тежестта на клинично протичане и статистически анализ на данните

За да бъде оценена тежестта на протичане на заболяването, в съображение влязоха следните характеристики:

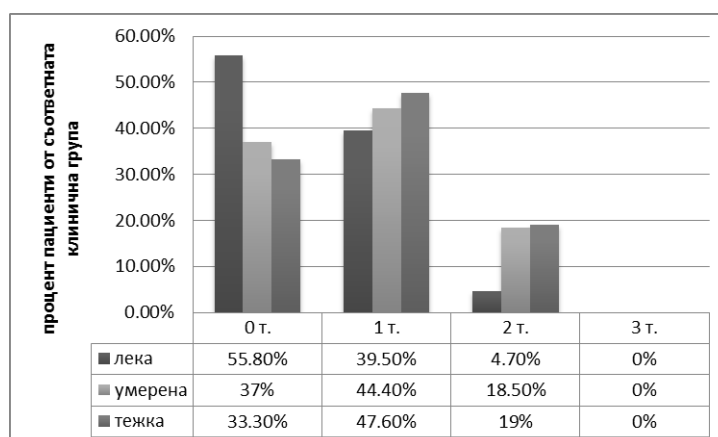
- Булбарна слабост – трудности при хранене и/или при преглъщане;
- Респираторни функции – оценка на форсиран витален капацитет (ФВК) след провеждане на спирометрия;
- Офталмопареза;
- Мускулна слабост в аксиални и/или проксимални мускулни групи на крайниците;

За да се оцени булбарната слабост, респ. трудностите при хранене и/или преглъщане, бяха използвани скали, които са представени в приложението към дисертационния труд.

4.1 Оценка на булбарната слабост

4.1.1 Оценка на булбарната слабост според посочените скали

Скалите за оценка на булбарната слабост са представени в Приложение 1. Пациентите с лека клинична изява на болестта имат между 0 и 5 т., средната сума е 1.3 т. В групата на среднотежкото клинично протичане максималната сума от точки е 6, средната сума е 2 т. Пациентите от третата група с тежка клинична картина на заболяването имат между 0 и 7 т., средната сума е 2.3 т.



Фигура 9. Процентно разпределение на пациентите от трите клинични групи според трудностите в преглъщането, които те изпитват при хранене

4.1.1.1 Статистически анализ на резултатите в зависимост от пола

Непараметричен тест на Mann-Whitney е проведен за търсене на статистически значима разлика в оценката на преглъщането и храненето (спрямо посочената скала) между пациентите в зависимост от пола, като такава не е установена ($p=0.98$).

4.1.1.2 Статистически анализ на резултатите в зависимост от приема на антихолинестеразна терапия

Статистически значима разлика в резултатите (получени от скалите) между провеждащи и непровеждащи антихолинестеразна терапия, не е установена ($p=0.852$, $U=991$, $Z = -0.187$).

4.1.1.3 Статистически анализ на резултатите в зависимост от разпределението по клинични групи

Проведен е тест на Kruskal-Wallis за установяване на статистически значима разлика в резултатите за оценка на булбарната слабост в трите клинични групи – с лека, с умерена и с тежка клинична изява. Проведеният непараметричен тест не доказва статистически значима разлика в оценката на бубарната слабост чрез посочените скали ($p=0.53$). Въпреки, че на този етап такава разлика не е статистически значима, то при анализ на медианите и средните оценки от скалите по групи, се забелязва отчетливо покачване на оценката за булбарна слабост от лека към тежка степен на клинична изява.

4.1.2 Оценка на булбарната слабост с тест „бързо преглъщане на вода“

Непараметричен тест на Kruskal-Wallis е проведен за изследване статистическата значимост на разликата във времето, необходимо за изпиване на 120 мл вода, в трите групи. Тестът показва статистически значима разлика в разпределението на резултатите между трите групи ($p=0.004$, $\chi^2 = 10.964$).

Таблица 5. Средно време (в сек.) за изпълнение на теста, медиана на времето, минимално и максимално време за изпълнение на теста в трите клинични групи – лека, умерена и тежка

Тест "Бързо преглъщане на вода"

Клинична изява	Средна стойност (сек.)	Брой	Стандартно отклонение	Медиана	Мин.стойност (сек.)	Макс.стойност (сек.)
лека	9.09	37	3.277	9.00	3	17
умерена	13.17	23	5.507	11.00	6	22
тежка	15.74	19	9.729	12.00	6	39
общо	11.88	79	6.569	10.00	3	39

Сравнителен анализ по двойки доказва статистически значима разлика в резултатите между първата (лека) и втората (умерена) група ($p=0.019$), и първата (лека) и третата (тежка) група ($p=0.019$).

4.2 Оценка на диплопията и птозата и статистически анализ на резултатите според клиничната група

Хи-квадрат тест е приложен за търсене на статистически значима разлика в степента на диплопията в трите групи пациенти, като такава не се доказва ($p=0.308$). За сравняване на резултатите за оценка на степента на птозата също е приложен хи-квадрат тест, който не доказва статистически значима разлика между групите ($p=0.532$).

4.3 Оценка на аксиалната слабост

4.3.1 Оценка на аксиална слабост при изправяне от легнало положение

Оценката на аксиалната слабост е изследвана на базата на двукратно отчитане времето, необходимо за изправяне от легнало положение на пода. Първият опит се провежда в началото на физикалното изследване, а вторият след провеждането на набор от упражнения, които също са част от тестовете за оценка на мускулната уморямост. Целта е изследването да се проведе преди и след мускулно натоварване. Проведен е непараметричен тест на Kruskal-Wallis, който доказва статистически значима разлика във времето за изправяне от легнало положение на пода (първи опит) между трите клинични групи ($p=0.031$). Като допълнителен анализ за сравнение по двойки показва, че такава разлика има между първата (лека) и третата (тежка) група ($p=0.026$). Проведен е непараметричен тест на Kruskal-Wallis, който доказва статистически значима разлика във времето за изправяне от легнало положение на пода (втори опит) между трите клинични групи ($p=0.000$). Като допълнителен анализ за сравнение по двойки показва, че такава разлика има между първата (лека) и третата (тежка) група ($p=0.000$).

4.3.2 Оценка на аксиалната слабост при флексия на главата

Непараметричен тест на Kruskal-Wallis е проведен и доказва статистически значима разлика в средното време за задържане на главата в съответната позиция между трите клинични групи ($p=0.025$). Като допълнителен анализ за сравнение по двойки показва, че такава статистически значима разлика съществува между втората (умерена) и третата (тежка) група ($p=0.022$) и липсва за други двойки групи.

4.3.3 Оценка на проксималната слабост в горни крайници

Непараметричен тест на Kruskal-Wallis е проведен и доказва статистически значима разлика в средното време за задържане на ръката в съответната позиция между трите клинични групи ($p=0.000$). Анализ за сравнение по двойки показва, че такава статистически значима разлика има между втората (умерена) и третата (тежка) група ($p=0.000$) и първата (лека) и третата (тежка) двойки групи.

4.4 Оценка на проксималната слабост в долни крайници

4.4.1 Оценка на проксималната слабост в долни крайници при флексия в тазобедрената става на 45 градуса

Непараметричен тест на Kruskal-Wallis е проведен и доказва статистически значима разлика в средното време за задържане на долния крайник в съответната позиция между трите клинични групи ($p=0.000$). Като допълнителен анализ за сравнение по двойки показва, че такава статистически значима разлика има между втората (умерена) и третата (тежка) група ($p=0.000$) и първата (лека) и третата (тежка) двойки групи.

4.4.2 Оценка на проксималната слабост в долни крайници чрез отчитане брой клякания за 1 мин.

One-way ANOVA тест. доказва статистически значима разлика в броя клякания между групите ($p=0.002$). Допълнителен анализ за сравняване по двойки между трите групи показва, че статистически значима разлика съществува между третата (тежка) група и втората (умерена) ($p=0.012$) и между третата и първата (лека) групи ($p=0.001$).

4.4.3 Оценка на проксималната мускулна слабост в долни крайници чрез отчитане брой изправяния от седнало положение за 1 мин.

Друга задача за изследване уморяемостта на проксималните мускули на долни крайници е отчитане брой седания на стол и изправяне за 1 мин. One-way ANOVA тест. доказва статистически значима разлика ($p=0.034$) в тези резултати между групите. Допълнителен post hoc анализ е проведен за търсене на разлика между отделните двойки групи, като такава е установена между първата (лека) и третата (тежка) групи ($p=0.027$).

4.5 Оценка на дисталната мускулна слабост в горни крайници

4.5.1 Оценка на дисталната мускулна слабост в горни крайници според пола и според терапията

Динамомиометрия е проведена за оценка силата на захвата. Мерните единици, в които е оценена, са килограми. Тест на Mann-Whitney е проведен за установяване наличие на статистическа значима разлика в резултатите между половете, както и между пациентите, приемащи Калимин и тези, които не провеждат антихолинестеразна терапия. Тестът доказва статистически значима разлика в силата на захвата между мъже и жени ($p=0.011$), но такава разлика не се установява при оценка на резултатите между пациентите в зависимост от приема на Калимин ($p=0.42$).

4.5.2 Оценка на дисталната мускулна слабост в горни крайници между отделните клинични групи

One-way ANOVA тест доказва статистически значима разлика в силата на захвата (измерена в килограми) между трите групи ($p=0.021$). При изследване по двойки разлика е установена между първата (лека) и третата (тежка) групи ($p=0.020$).

4.6 Оценка на дишането чрез спирометрия

Функционално изследване на дишането (спирометрия) е проведено в седнало и легнало положение. Резултатите за ФВК в седнало положение са между 36% и 151% за всички пациенти, средният ФВК е равен на $71.95\% \pm 19.7\%$. Резултатите за ФВК в седнало и легнало положение при 14 пациенти показват разлика от над 10%, което говори за диафрагмална слабост. Двадесет процента ($n=9$) от тези 14 пациенти имат лека клинична изява на болестта, 11% ($n=3$) са с умерена клинична изява, а при 9% ($n=2$) се наблюдава тежка степен на вродена миастения.

Таблица 6. ФВК в различните групи

Клинична изява	ФВК средна ст. (седнала позиция)	ФВК медиана (седнала позиция)	ФВК средна ст. (легнала позиция)	ФВК медиана (легнала позиция)
лека	85.40%	80.50%	77.50%	76%
умерена	78%	80%	75.40%	78.20%
тежка	62.80%	64%	59.50%	60%

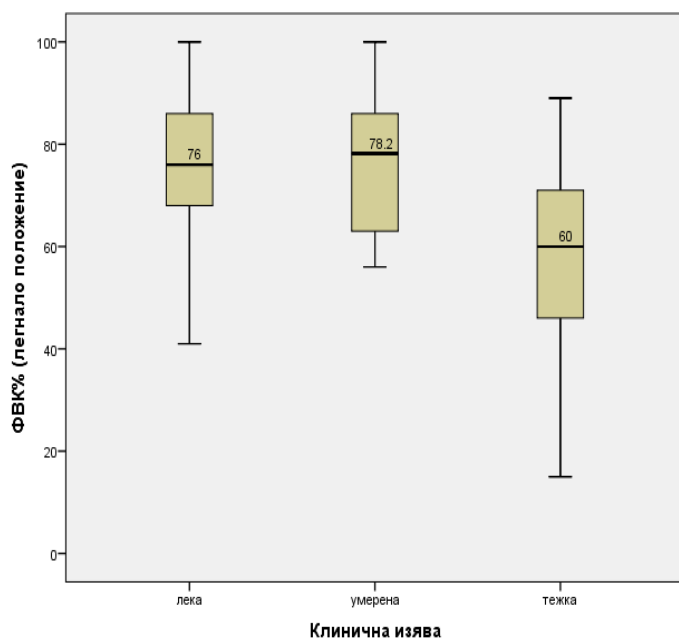
Само един от всички 91 пациенти е използвал трахеостома за 1 месец. Пациентът е с тежка степен на клинична изява на болестта. Причината за временното трахеостомиране е респираторна криза по време на инфекция на долни дихателни пътища. Нито един от останалите пациенти не е имал респираторна криза и не е използвал инвазивна или неинвазивна вентилация за подпомагане на дишането.

4.6.1 Оценка на дишането според пола и приема на терапия

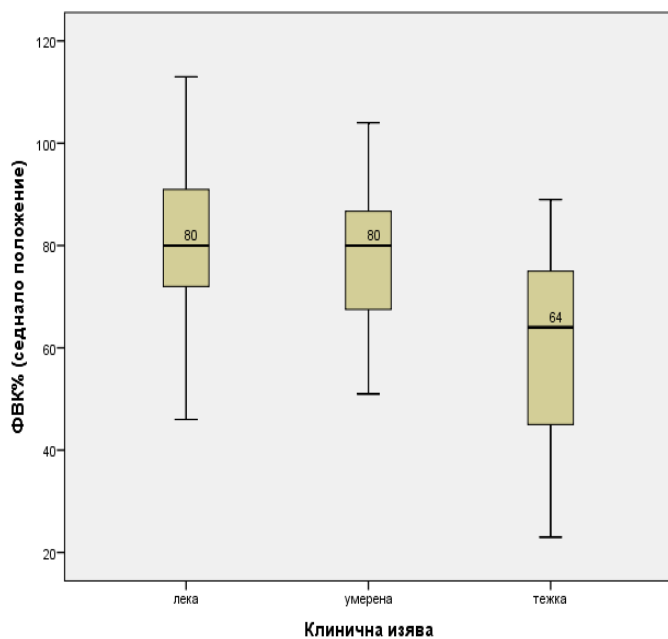
Статистически значима разлика в резултатите за ФВК между половете не е установена ($p=0.113$), както и между пациентите, провеждащи и непровеждащи антихолинергична терапия ($p=0.96$).

4.6.2 Оценка на дишането по клинични групи

One-way ANOVA тест доказва разлика във ФВК между групите при спирометрия в седнало положение ($p=0.000$). Допълнителен post hoc анализ за разлика между двойките групи доказва статистически значима разлика в резултатите за ФВК между първата (лека) и третата (тежка) групи ($p=0.000$) и между втората (умерена) и третата (тежка) групи ($p=0.005$). One-way ANOVA тест доказва разлика във ФВК между групите при спирометрия в легнало положение ($p=0.000$). Допълнителен post hoc анализ между двойките групи показва статистически значима разлика в резултатите за ФВК между първата (лека) и третата (тежка) групи ($p=0.000$) и между втората (умерена) и третата (тежка) групи ($p=0.003$).



Фигура 10. Графика, представяща резултатите за ФВК в седнало положение при трите групи с посочени медианите на ФВК във всяка група по отделно



Фигура 11. Графика, представяща резултатите за ФВК в легнало положение при трите групи с посочени медианите на ФВК във всяка група по отделно

4.6.3 Оценка на разликата в резултатите за ФВК в седнало и легнало положение

За търсене на статистически значима разлика в резултатите за ФВК в седнало и в легнало положение е проведен Independent Samples T Test., като такава не е установена в първата (лека) група ($p=0.861$), във втората (умерена) група ($p=0.715$) и в третата група ($p=0.545$).

5. Обсъждане

Създаден е български регистър на пациенти с вродена миастения, наброяващ към 01. 2017 г. 91 пациенти, като обновяването и включването на нови пациенти продължава. При включването в регистъра се изпълняват набор от задачи, целящи провеждането на сравнителна характеристика на фенотипа за доказване на вариабилността на клиничната изява при тези пациенти. Всички лица в регистъра са от ромски произход и са хомозиготни носители на една и съща мутация - 1267delG в гена, кодиращ ϵ -субединицата на ацетилхолиновия рецептор. Фактът, че тази мутация е открита у роми от цяла Европа, както и групи в Индия и Пакистан, дава основание да се смята от редица автори, както и от нас, че ромската популация в Европа има общ индийски произход и горепосочената мутация е с ефект на родоначалника [Morag и съавт., 2004, Abicht и съавт., 1999, Гергелчева и съавт., 2007].

Проведеният набор от изследвания сред 91 пациенти от регистъра целят да установят тежестта на следните симптоми в отделни клинични групи: птоза, диплопия, булбарна слабост, проксимална и дистална мускулна слабост, аксиална слабост и респираторна слабост (чрез оценка на ФВК). Резултатите от проведените тестове сочат, че съществува значителна клинична вариабилност при наличие на генотипна и етническа хомогенност. Burke и съавт. провеждат проучване за установяване на генотип-фенотип корелации при 82 пациенти с мутация в *CHRNE* гена, като също установяват вариабилност в тежестта на протичане [Burke и съавт. 2004]. Проведените статистически анализи не доказват връзка на тази вариабилност в клиниката с пола или приема на антихолинестеразна терапия. Подобни са и данните представени на 126-то международно обучение по ВМС, проведено през 2004 г. в Наарден, Холандия, където са докладвани данни за 17 пациенти със ВМС, като 6 от тях са с мутация в *CHRNE* гена. Данните за тях сочат, че има подобрене на симптомите след прием на антихолинестеразни медикаменти, но липсва елиминиране на симптомите напълно [Beeson и съавт. 2005]. Вероятно разликата в тежестта на симптоматиката се дължи на гени, модифициращи фенотипната изява на мутацията, и/или на екзогенни фактори от околната среда.

Пациентите, включени в регистъра първоначално са разделени според симптоматиката си на три групи: лека, умерена и тежка степен на клинична изява. В следствие са проведени редица тестове резултатите, от които са подложени на задълбочен статистически анализ за търсене на статистически значима разлика между отделните клинични групи.

Булбарна слабост е установена при пациентите и от трите клинични групи, като не всички резултати от тестовете, с които тя е изследвана, показват статистически значима разлика. Въпреки това анализ на медианите и средните стойности от приложените скали по групи сочи отчетливо покачване на оценката за булбарна слабост от лека към тежка степен на клинична изява. Тестът с „бързо преглъщане на вода“ обаче показва статистически значима разлика в резултатите между лека и умерена клинична група ($p=0.019$) и лека и тежка клинична група ($p=0.019$). Това дава основание да се мисли, че булбарната слабост е сравнително постоянен симптом при всички пациенти, но тежестта е различна в зависимост от степента на заболяването, като е значително по-изразена при пациентите с умерена и тежка клинична изява. Вероятната причина за откриването на статистически значима разлика само при този тест е, че той е по-обективен от скалите, тъй като се извършва в момента на изследването, а оценката по скали зависи от субективните отговори на пациента.

Птозата и диплопията са клинични белези, които присъстват във всяка клинична група и степента им на изразеност не е свързана с тежестта на клиничната картина. Това е

доказано чрез хи-квадрат тест по отделно за птоза ($p=0.302$) и диплопия ($p=0.532$). Смятаме, че тези два симптома, свързани с уморяемостта на екстраокуларните мускули, са постоянен белег на заболяването и не само присъстват при пациентите от всички клинични групи, но и са налице при всички възрасти. Това дава основание да се мисли, че те, за разлика от други симптоми на болестта, не търпят подобрение след пубертета [Гергелчева и съавт., 2007].

Тестовите за изследване уморяемостта на проксималните и дисталните мускули на крайниците и аксиалната мускулатура също показват вариабилност по отношение възможността и времето за изпълнение на тестовите при различните пациенти. Изпълнението на задачи от пациентите варира от изпълнение за време в границите на нормата до пълна невъзможност за справяне със задачата. Статистическият анализ на резултатите доказва значима разлика между пациентите в трите групи, което дава основание да се твърди, че двигателната мускулатура не се засяга в еднаква степен, въпреки наличието на една и съща мутация при всички тествани болни.

При заболяването е възможно засягане и на дихателната мускулатура – интеркостални мускули и диафрагма. Проведените спирометрии в седнало и легнало положение ни дадоха възможност индиректно да оценим силата на тези мускули. И тук проведените статистически анализи доказват значима разлика в резултатите между отделните групи пациенти, както в седнало, така и в легнало положение ($p<0.05$), като най-ниски са резултатите за ФВК в третата (тежка) група. Резултатите за ФВК в седнало и легнало положение при 14 пациенти показват разлика от над 10%, което говори за диафрагмална слабост. Интересен е фактът, че диафрагмална слабост се наблюдава при пациенти и от трите клинични групи, а не само от третата (тежка), както би се очаквало, което отново потвърждава тезата за значителна вариабилност в протичането на заболяването и евентуално участие на модифициращи гени.

Въпреки широката вариабилност, която се забелязва в клиничния ход на заболяването - ВМС тип I, в нито една възраст не се установява развитие на тежка дихателна недостатъчност, налагаща компенсирането ѝ с оротрахеална интубация и апаратна вентилация, каквато се среща при мутации в *DOK7* и *CHAT* гените [Ohno и съавт., 2001]. Въпреки, че сред нашата кохорта от пациенти няма данни за развитие на дихателна недостатъчност (с изключение на един пациент в хода на пневмония), наблюдението по отношение на респираторните функции не бива да се подценява, тъй като в литературата има данни за преобладаване на внезапните апноични кризи, отколкото постепенното развитие на дихателна недостатъчност [Robb и съавт., 2010].

Данните от проучването ни сочат значима фенотипна хетерогенност с формиране на лека, умерена и тежка степен на клинична изява при наличие на генотипна хомогенност. Очната симптоматика е постоянен белег на заболяването и е налице при всички пациенти в регистъра. Булбарната, аксиалната и проксималната мускулна слабост са значително по-изявени при пациентите с умерена и тежка степен на заболяването. Респираторните функции са запазени и в трите групи, като е отчетена слабост на диафрагмата, която е налице при пациенти и от трите групи. Необходими са допълнителни проучвания за търсене на фактори на средата и на гени, модифициращи фенотипа при наличие на една и съща мутация.

IV. 5. БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТСКИ РЕГИСТЪР ЗА GNE МИОПАТИЯ (ДИСТАЛНА МИОПАТИЯ ТИП НОНАКА)

1. Генотипно разпределение

При всички 44 пациенти диагнозата е потвърдена чрез молекулярно-генетично изследване на GNE гена. При 95.5% се открива хомозиготна мутация Ile587Thr/Ile587Thr в GNE гена. При двама пациенти е установена мутация е в хетерозиготно състояние - I587T/R246W при единия, и I587T/M60V.

2. Възрастово и полово разпределение

Всички пациенти в регистъра са от ромски произход. Броят на мъжете включени в регистъра е 29, а на жените – 15. Средната възраст на популацията е 40.7 г. \pm 12 г., и медиана, равна на 40 г. Мъжете са на възраст между 14 г. и 61 г., средната им възраст е 39 г. \pm 12 г. и медиана 40 г. Жените са на възраст между 23 г. и 60 г., средната им възраст е равна на 44 г. \pm 12 г., медиана равна на 42 г.

Възрастта на начало на заболяването при пациентите е между 10 г. и 42 г., средната възраст е 23.7 г \pm 6 г. и медиана 23 г. За жените средната възраст на начало е 24.5 г., а за мъжете тя е 23.4 г.

Пациентите са разделени в групи в зависимост от броя на години на прогресия на заболяването. От момента на поява на първите симптоми до настоящият момент са минали между 3 г. и 36 г. на прогресия на болестта, средната продължителност на прогресия е 16 г. \pm 9 г., медиана 16 г.

3. Начални симптоми

Най-често съобщаваният първи симптом е слабост („увисване“) на ходилото. Среца се при 68.2% (30/44) от пациентите, от които 48.2% имат едностранна слабост на ходилото, а 51.7% - двустранна. Следващият по честота симптом е трудност при ходене – 9.1% (4/44), като трудностите се изразяват основно в затруднено стъпване на пети и затруднено изкачване по наклон. Същият брой пациенти съобщават за миалгия, която при всички обхваща бедрената мускулатура и започва едностранно. Третият по честота симптом е слабост в ръцете, за която съобщават 6.8% (3/44). Един пациент съобщава за изява на заболяването с болки в едното коляно и при един пациент началото е със слабост в долни крайници и мускулни спазми. При един от пациентите със слабост на ходилото (описвана от пациентите като „увисване“ на ходилото) паралелно са се появили и болки в лумбалния гръбнак.

4. Допълнителни симптоми

Пациентите съобщават за поява на допълнителни симптоми с прогресията на заболяването. Сред най-разпространените симптоми са слабостта в долни крайници, която

засяга основно дисталните мускулни групи – затруднено стъпване на пети и/или пръсти (39/44), трудното изкачване на стълби (38/44), трудностите при ходене (36/44), слабост в ръцете, която също обхваща дисталните отдели на горните крайници (34/44), чести падания (29/44) и трудности при извършване на движения с крайниците (26/44). По-малко от половината пациенти съобщават за уморяемост (18/44), миалгия (8/44), ставни болки предимно в коленете (4/44), мускулни крампи (3/44). Най-честият начален симптом при пациентите е слабостта на ходилото, който се среща като последващ симптом при 13 пациента, като той се явява като допълнителен симптом не по-късно от 1 г. от началото на заболяването при всички 13 пациента. Самостоятелната си походка са загубили 11 от пациентите в регистъра. Невъзможността за самостоятелно ходене е настъпила между 4 г. и 17 г. от началото на заболяването, средно 9 г.

5. Фамилност

Фамилност по отношение на заболяването се среща при 72.7 % (32/44) от пациентите. По-голямата част от тях са с АР унаследяване на заболяването. При трима засегнатите родственици са баща, леля, чичо, племенници.

6. Погрешни диагнози

При 26 пациента е поставена погрешна диагноза в миналото. Най-често поставяната погрешна диагноза е болест на Шарко-Мари-Тут.

7. Помощни средства за придвижване

Почти половината от пациентите в регистъра – 48.8% могат да ходят самостоятелно без необходимост от подкрепа. Останалата част – 51.2% използват инвалидна количка или едностранна подкрепа (бастун, патерица). Средната продължителност на прогресията на заболяването при започване на използване на помощно средство за придвижване е 15 г. Двама пациенти са започнали да използват едностранна подкрепа съответно 3 и 12 г. след началото на заболяването. При 20 пациента ходенето дори с опора е невъзможно, поради което те използват инвалидна количка за придвижване. Продължителността на заболяването от първоначалните симптоми до използването на инвалидна количка е между 3 г. и 19 г., средната продължителност е 12 г. ± 5.2 г., медианата е 12 г.

8. Ниво на двигателна активност, проследено за период от една година

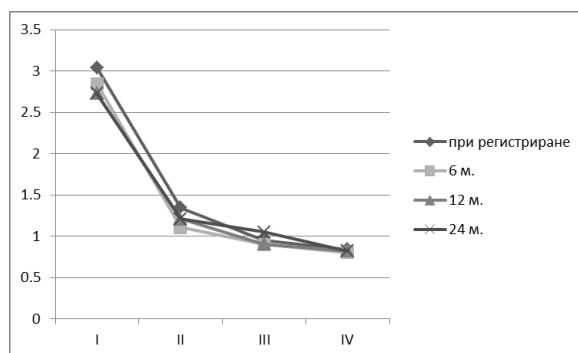
Нивото на двигателна активност е изследвано чрез оценяване на няколко действия, като за унифицирането на резултатите е използвана точкова система. Скалата за оценка на физикалната активност е представена в приложението. Пациентите са оценени по тази скала трикратно – при регистрирането, след 6 месеца и след 12 месеца. Действията, които се оценяват са: обръщане в леглото, сядане от легнало положение, изправяне от седнало положение, ходене, качване по стълби, навеждане до пода и изправяне, бягане, скачане, седене без опора, свиване на ръката в юмрук, писане, придвижване на ръката към устата, дъвчене.

За обобщаването на резултатите пациентите са разделни в четири групи според годините на прогресия на заболяването. Един пациент не е включен в анализа, поради скорошно включване в регистъра и липса на трикратно оценяване.

Таблица 7. Разпределение на пациентите в групи в зависимост от давността на заболяването

Група	години на прогресия	общ брой	мъже	жени
I	1-10 г.	14	12	2
II	11-20 г.	14	7	7
III	21-30 г.	11	9	2
IV	>30 г.	4	1	3

На фигурата е показана обобщена схема на динамиката в изпълняването на тези дейности в четирите групи за трите етапа на проследяване.



Фигура 12. Обобщена схема на оценката на дейностите при четирите групи за четирите етапа на проследяване

Проведен е непараметричен тест на Kruskal-Wallis за търсене на статистически значима разлика в оценката на изпълнението на двигателните умения по посочената скала между четирите групи пациенти (при регистриране). Тестът доказва статистически значима разлика в разпределението на резултатите между групите ($p < 0.05$) при всички двигателни задачи, освен при „дъвчене и преглъщане“, където p -стойността е равна на 0.102.

Проведен е непараметричен тест на Mann-Whitney за търсене на статистически значима разлика в изпълнението на двигателните умения между първото изследване при регистрацията и изследването след 12м. във всяка група поотделно. Такава разлика не се установява в първата, втората, третата и четвъртата група за период на проследяване 12 м. ($p > 0.05$ за всички 14 двигателни задачи).

9. Ехокардиография

Ехокардиографско изследване е проведено при 22 пациенти. При четирима пациенти се установява фракция на изтласкване под нормата (норма $> 50\%$). Лекостепенна левокамерна хипертрофия се установява при трима пациенти, като и при тримата функцията е съхранена. При четирима пациенти се установява в различна степен разширена лява камера и ниска фракция на изтласкване – стойности между 24% и 47%, средна фракция на изтласкване $37\% \pm 10\%$. При половината от изследваните пациенти (11/22) се установяват нормални сърдечни структури и функция.

10. Спирометрия

Спирометрия е проведена при 19 пациенти. От тях при 10 души се установява форсиран витален капацитет под нормата (норма > 75%). Средният витален капацитет при тези пациенти е $66.7\% \pm 9.8\%$. При останалите 9 пациента средният форсиран витален капацитет е $91.3\% \pm 9.1\%$.

11. Креатинфосфокиназа

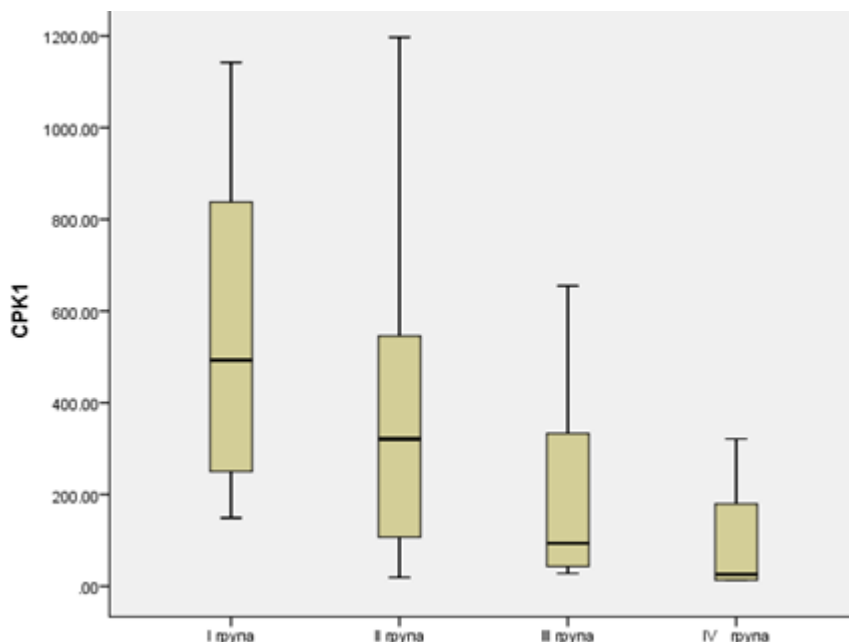
Серумното ниво на креатинфосфокиназата (СРК) е изследвано при регистрирането (СРК1), след 6 месеца (СРК2) и след 12 месеца (СРК3). В таблицата са представени минималните, максималните и средните стойности на СРК в различните групи.

Таблица 8. Резултати от изследването на СРК в рамките на една година при пациентите от различните групи

групи	СРК1 min	СРК1 max	СРК1 средна ст.	СРК2 min	СРК2 max	СРК2 средна ст.	СРК3 min	СРК3 max	СРК3 средна ст.
I	149	2492	852	154	2454	823	203	1585	842
II	19	1197	390	24	1214	280	21	1607	444
III	28	655	210	24	626	217	26	661	174
IV	13	321	22	16	266	22	16	246	28

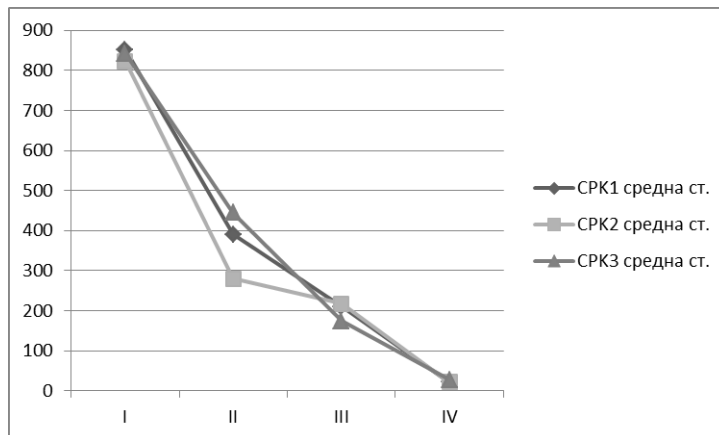
Тест на Kruskal-Wallis доказва наличието на статистически значима разлика за СРК1 между четирите групи ($p=0.014, N=10.674$).

One-way-ANOVA тест не установи статистически значима разлика между серумните нива на СРК за трите периода на проследяване – при регистриране, след 6 м. и след 12 м., представени респективно като СРК1, СРК2, СРК3 при пациентите от първа група ($p=0.258$). Не се установява статистически значима разлика между СРК1, СРК2 и СРК3 и във втората група пациенти ($p=0.292$) и в третата група пациенти ($p=0.923$).



Фигура 13. Графика, представяща разпределението на СРК в четирите групи

Статистически значима разлика между серумните нива на СРК при пациентите от четвъртата група не е проведен поради малкия брой индивиди. Въпреки това от фигурата е видно, че няма особена динамика в стойностите на СРК в тази група при проследяване.



Фигура 14. Разпределение на СРК в групите. По ординатната ос са разположени стойностите за серумните нива СРК

12. Обсъждане

Създаден е български пациентски регистър за дистална миопатия тип Нонака или още известна като GNE миопатия. Това е втори анализ на данните от пациентски регистър за GNE миопатия в световен мащаб, като от литературната справка е намерен публикуван анализ единствено на японския национален регистър – Remudy. Смятаме, че нашият регистър и данните от него ще допринесат за оценяване естествения ход на заболяването, както и улесняване намирането и включването на пациенти в клинични изпитания.

До месец 01.2017 г. в регистъра са включени 44 пациенти с генетично верифицирана диагноза, като при 95.5% се открива хомозиготна мутация Ile587Thr/Ile587Thr в GNE гена, а при двама пациенти е установена мутация в хетерозиготно състояние – I587T/R246W при единия, и I587T/M60V при втория. Хомозиготна мутация Ile587Thr/Ile587Thr е открита в семейства от Италия, САЩ и Индия. [Eisenberg и съавт. 2003, Grandis и съавт. 2010, Khadilkar и съавт. 2015]. Заболяването се среща с най-голяма честота сред ирански евреи [Argov и съавт. 1984] и японци, при които са описани мутации с ефект на прародителя, съответно p.Met712Thr в хомозиготно състояние и p.Val572Leu в хомозиготно състояние [Huizing и съавт. 2009], но най-често срещаната мутация сред ромските българи Ile587Thr/Ile587Thr, също е с ефект на прародителя. Средната възраст на начало на заболяването при нашите пациенти е 23.7 г. ± 6 г., което не се различава от данните в литературата за начало на заболяването предимно в ранна зряла възраст, като не се изключва и начало в късно юношество [Nishino и съавт. 2015, Eisenberg и съавт. 2003, Nonaka и съавт. 1998, Sim и съавт. 2013]. Средната възраст на начало при 121 пациенти от японския национален регистър е 27.7г ± 9.6г., като най-често срещаните мутации са p. V572L, p. C13S, и p. M712T [Mori-Yoshimura и съавт. 2014]. От публикуваните до момента данни за пациенти извън България най-ранната възраст на начало е 12 г. [Nishino и съавт. 2015, Eisenberg и съавт. 2003, Nonaka и съавт. 1998] за разлика от това най-младият пациент в нашия регистър е на 10 г. при поява на първите симптоми. Двойните хетерозиготи в българския регистър са с възраст на начало на 14 г. и на 17 г., което се различава от данните в литературата за японската популация, където болните, носещи хомозиготна мутация имат по-ранно начало за разлика от двойните хетерозиготи [Mori-Yoshimura и съавт. 2012], като до момента тези данни не са потвърдени сред други популации. Поради малкия брой пациенти в регистъра, носещи две различни мутации, на

този етап не бихме могли да търсим статистически значима разлика по отношение на възрастта на изява на болестта.

Заболяването има автозомно рецесивен ход на унаследяване, като при нашите пациенти фамилност се описва при 73%, което значително се различава от регистрираната фамилност в японския регистър, където тя е 32% [Mori-Yoshimura и съавт. 2014]. Тази разлика, както и наблюдаването от нас псевдо-доминантното унаследяване при тези пациенти, свързваме с вероятно високо носителство на генетичния дефект в групата и ендогамия в същата.

Мускулното засягане при нашите пациенти не се различава от описаните до момента в литературата данни за хода на заболяването [Mori-Yoshimura и съавт. 2014, Argov и съавт. 1984, Nonaka и съавт. 1985, Argov и съавт. 1984], като най-рано и тежко се въвлеча предния тибиален мускул, а квадрицепсите са съхранени. Като известно ограничение в нашето изследване отчитаме факта, че за засягането на съответните мускули съдим по възможността за извършване на съответстващото му движение, оценка на мускулната сила чрез мануално мускулно тестване, както и визуална инспекция на мускула. По точна представа за въвлечането на различни мускули би могла да се получи чрез магнитно-резонансна томография.

Най-разпространеният първи симптом – слабост (увисване) на ходилото, според Nishino и съавт., се среща при 68.2% (30/44) от пациентите в българския регистър, за разлика от японската популация, където най-често сещаната първоначална изява е трудност при ходене, описана при 54%, докато увисването на ходилото се регистрира като начална изява при 23% [Mori-Yoshimura и съавт. 2014]. Трудности при ходене като дебютен симптом се установява при 9.1% от българските пациенти. Втори по честота на срещане симптом в японския регистър е тремор, какъвто не се описва сред нашите пациенти. Засягането на горни крайници като първи симптом се среща рядко и в двете популации – при 7% от българите и при 4% от японците. Други атипични първоначални белези на заболяването, като лицева слабост, мускулно засягане тип пояс-крайник или липса на въвлечане на дисталните мускулни групи на долни крайници [Tomimitsu и съавт. 2004, Argov и съавт. 1997, Park и съавт. 2012], не се откриват сред включените в регистъра български роми до този момент.

Прогресивният ход на заболяването води до загуба на самостоятелна походка и необходимост от използване на инвалиден стол за придвижване. Продължителността на заболяването от първоначалните симптоми до използването на инвалидна количка е между 3 г. и 19 г., средната продължителност е 12 г. \pm 5.2 г. и медиана 12 г. за пациентите в българския регистър, за разлика от японската популация, където тази средна продължителност е 15.2 г. [Mori-Yoshimura и съавт. 2014]. По данни на Argov и съавт. При много пациенти и по-специално при такива от еврейски произход ходенето е възможно (поне на равен терен) за период от 15-20 г. от началната изява [Argov и съавт. 2003]. Поради големите различия в продължителността на запазената самостоятелна походка, както за нашите пациенти (между 3 г. и 19 г.), така и от публикуваните данни в световен мащаб, смятаме, че не би могло да се отрече наличието на гени модификатори или фактори на околната среда, които влияят върху хода на заболяването, като тази теория се споделя и от други автори – Nishino и съавт. 2015, Chamova и съавт. 2015.

Респираторните функции при пациентите са относително съхранени, дори и при пациенти в напреднал стадий на заболяването и ранно начало. Това е в противоречие с проучване на Mori-Yoshimura и съавт. От 2013 г., доказващо повишен риск от респираторна дисфункция при пациенти с хомозиготна мутация, ранно начало и ниски стойности на креатинкиназа в по-късните стадии. Най-вероятното обяснение за тази разлика в респираторните функции е свързано с различия във фенотипа при различните мутации –

Ile587Thr/Ile587Thr при българските роми и Met712Thr в хомозиготно състояние и Val572Leu в хомозиготно състояние сред японците [Huizing и съавт. 2009].

В предишни проучвания не се доказва наличие на сърдечно увреждане при GNE миопатия [Nishino и съавт. 2015, Mori-Yoshimura и съавт. 2014, Morag и съавт. 2004], въпреки че има единични патохистологични и електрофизиологични данни за сърдечно засягане [Chai и съавт. 2011]. Нашето проучване показва структурни и функционални промени при половината от изследваните пациенти (11/22). Тези резултати не могат задължително да се свържат с основното заболяване, тъй като промените при различните индивиди са доста хетерогенни и не при всички водят до клинична изява, както и не са взети предвид основните рискови фактори, водещи до сърдечносъдови заболявания като артериална хипертония, тютюнопушене, наднормено тегло и др. При част от нашите пациенти.

Нашият анализ доказва статистически значима разлика в серумните нива на СРК между индивидите в зависимост от продължителността на заболяването ($p=0.014$), но такава разлика не се установява в по-кратки срокове на проследяване (между 6 и 12 месеца), което показва, че увреждането на мускулите, респ. прогресията на заболяването е бавна и в рамките на 6 м. до 1 г. не настъпва значима динамика в загубата на мускулна маса. Този резултат би могъл да служи като биохимично доказателство за бавната прогресия на болестта. Серумните нива на СРК са сходни с тези, публикувани от други автори [Mori-Yoshimura и съавт. 2014, Argov и съавт. 2003, Huizing и съавт. 2009]. Не се регистрираха значими разлики в стойностите на СРК при проследяването на пациентите с дългогодишна прогресия на заболяването, което свързваме с напредналия стадий на болестта и изразените атрофични и хипотрофични промени в мускулите. В подкрепа на бавната прогресия са и резултатите от проведените физикални тестове, които показват голяма разлика в успеваемостта при изпълнението на задачите по посочената точкова система (от 0т. До 4т.) между отделните групи пациенти, респективно продължителността на заболяването, и минимални разлики в резултатите при проследяване след 6 м. И 12 м.

В заключение можем да кажем, че пациентският регистър за GNE миопатия в България служи за разширяване познанията ни за болестта, по-доброто проследяване и контрол на болестта и не на последно място улеснява намирането на подходящи пациенти за провеждане на клинични проучвания. Последните от своя страна стават все по-атрактивни, имайки предвид, че това и е една от първите наследствени миопатии, за които се разработват метаболитна и генна терапии [Nishino и съавт. 2015]. Българският GNE регистър е включен в международна програма за мониторинг на болестта по инициатива на TREAT-NMD и Ultragenyx Pharmaceutical Inc [<http://www.treat-nmd.eu/gne/patient-registries/international-registry/>].

IV. 6. НАСЛЕДСТВЕНИ ПЕРИФЕРНИ НЕВРОПАТИИ: ЕТНИЧЕСКО РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ И ГЕНЕТИЧЕН СПЕКТЪР

Изследването включва всички пациенти с диагноза НПН от Експертния център по генетични неврологични и метаболитни заболявания към Клиниката по нервни болести при УМБАЛ „Александровска“. Пациентите са диагностицирани в периода между 1996 г. и 2016 г. Общо 835 засегнати са генетично верифицирани и включени в проучването, докато при други 383 пациенти от Центъра, до момента не е установена мутация в известните гени. Разпределението на пациентите с генетично потвърдена диагноза от различните етноси е следното: 542 българи, 262 роми и 31 турци.

1. Генетичен спектър на установените НПН в Експертния център

Диагностицирахме пациенти с 16 различни форми на НПН:

1) АД демиелинизиращи НПН, причинени от мутации в гените:

- *PMP22* (peripheral myelin protein 22) – водят до CMT1A/HCMH1A и наследствена невропатия с парализа при притискане (ННПП);
- *MPZ* (myelin protein zero) – водят до CMT1B/HCMH1B;

2) AP демиелинизиращи невропатии, дължащи се на мутации в гените:

- *NDRG1*(N-Myc Downstream Regulated 1) – водят до CMT4D/HCMH4 D/HCMH тип Лом;
- *CTDP1* (carboxy-terminal domain phosphatase 1) – водят до синдром на конгенитална катаракта, лицев дисморфизъм и невропатия (ККЛДН/CCFDN);
- *HK1* (Hexokinase-1) водят до CMT4G/HCMH4G/HCMH тип Русе;
- *SH3TC2* (N-terminal Src homology 3 (SH3) domains and 10 tetratricopeptide repeat) водят до CMT4C/HCMH4C,
- *GDAP1* (Ganglioside Induced Differentiation Associated Protein 1) водят до CMT4A/HCMH4A;

3) АД аксонални полиневропатии, свързани с мутации в:

- *MFN2* (mitofusin 2) гена водят до CMT2A/HCMH2A;

4) AP аксонални полиневропатии с невромиотония при дефект в *HINT1* (Histidine Triad Nucleotide Binding Protein 1) гена;

5) X-свързана полиневропатия (CMTX1/HCMHX1), възникваща при мутация в *GJB1* (Gap Junction Protein Beta 1);

6) Доминантна интермедиерна форма на Шарко-Мари-Тут (DI-CMTC/ДИ-НСМНС), дължаща се на мутации в *YARS* (Tyrosyl-tRNA) гена;

7) Наследствени моторни невропатии, свързани с мутации в:

- *GARS* (glycyl-tRNA) водят до CMT2D/dHMN V/дНМН V;
- *HSP22* (heat shock protein 22) водят до CMT2L/НСМН2L;
- *BSC12* (Seipin Lipid Droplet Biogenesis Associated) водят до CMT5/dHMN V/дНМН5;
- *IGHMBP2* (Immunoglobulin Mu Binding Protein 2) водят до CMT2S/НСМН2S или dHMN VI/дНМН VI).

2. Разпределение на НПН сред основните етноси

2.1. Българи

При българите са установени 13 различни форми на НПН – CMT1A, ННПП, CMT1B, CMT4D, CMT4C, CMT4A, CMT2A, AP невропатия в невромиотония, CMTX1, DI-CMTC, CMT2L, CMT2D, CMT2S и dHMN V (дНМН V).

Най-често срещаната мутация, водеща до НПН при българите, засяга *PMP22* гена. Открихме 283 пациенти (52.2% от българските пациенти с НПН) от 25 области на страната. CMT1A се доказва при 84% (n=228) от пациентите с дупликация в *PMP22* гена. При останалите 55 пациенти заболяването се дължи на делеции (n=44) или точкови мутации (n=11) в същия ген. Следващата по разпространеност форма сред българите е доминантна интермедиерна CMT тип C, която е диагностицирана при 64 болни от 9 фамилии, представляващи 11.8% от НПН при българите. След DI-CMTC по брой се нарежда НПН, причинена от мутации в *MPZ* гена (CMT1B), която носят 10.1% (n=55) от засегнатите българи от общо 9 области на страната. X-доминантна демиелинизираща невропатия (CMTX1) се установява при 6.8% (n=37) от българите в нашата група, които населяват 9 области.

Сред наследствените невропатии с аксонална увреда CMT2A и AP аксонална невропатия с невромиотония са сред най-често срещаните в нашата група пациенти, съответно 4.8% (n=26) и 3.1% (n=17). Тридесет и двама засегнати от единствено семейство са диагностицирани с *GARS*-асоциирана аксонална невропатия (CMT2D), представляващи 6% от генетично потвърдените пациенти от български етнос.

Доказани са шест редки форми на НПН сред българи – CMT4D (n=7), CMT2L (n=8), CMT4C (n=7), CMT2S (n=1), CMT4A (n=3) и dHMN V (n=2), като общо те представляват 5.2% от НПН в тази етническа група. Пациентите със CMT2L произхождат от едно семейство. CMT4D е открита при 7 българомохамедани от 3 несвързани семейства.

Пациентите от български етнос са от общо 25 области на страната, като най-голям е броят на пациентите от София (град). Имайки предвид разпределението на населението в България, а именно, че София е най-населеният град, не е изненадващо, че най-много пациенти с НПН (n=80) са от София. Впечатление прави обаче големият брой пациенти от Монтанска област (n=77), Врачанска област (n=45) и Благоевградска област (n=50) при много по-малко население в сравнение със столицата (таблица 9).

Таблица 9. Население на България и областите Монтана, Враца, Благоевград, Бургас и София (град) през 1992 г., 2001 г., 2011 г., 2015 г. и 2016 г. Данни на Национален Статистически Институт

	България	София	Монтана	Враца	Благоевград	Бургас
година	брой	брой	брой	брой	брой	брой
1992	8 487 317	1 114 900	*	*	*	*
2001	7 932 984	1 091 772	176 963	219 830	336 988	421 049
2011	7 364 570	1 202 761	145 984	184 662	322 025	414 947
2015	7 153 784	1 286 383	137 188	172 007	312 831	413 884
2016	7 101 859	1 307 376	134 669	168727	310 321	412 684

*не са намерени данни

Най-често срещаната форма на НПН в София е СМТ1А (n=42), следвана от СМТ1В, която е установена при около три пъти по-малко (n=13) на брой пациенти в населеното място. Впечатление правят данните за брой пациенти с НПН от областите Монтана (n=42) и Враца (n=15), където най-разпространената форма е доминантната интермедиерна наследствена сетивна и моторна невропатия, дължаща се на мутация в *YARS* гена. Семейство от Бургас допринася за големия брой пациенти от тази област, като формата, която се среща с най-голяма честота е СМТ2D при мутация в *GARS* гена.

2.2. Ромска етническа общност

Осем форми на НПН са установени в 22 области сред ромската група, представена в Експертния център - СМТ1А (n=3), СМТ1В (n=1), ННПП (n=3), СМТ4D (НСМН тип Лом) (n=128); Синдром на вродена катаракта лицев дизморфизъм и невропатия (ККЛДН) (n=85), СМТ4G (НСМН тип Русе) (n=31), СМТХ1 (n=5). АР аксонална невропатия с невромиотония (n=6). АР невропатии са най-честите сред тази етническа група и представляват 95.4% от случаите с НПН сред ромите, обхванати от проучването. Почти половината от засегнатите в групата – 49.6% (n=128) носят мутация в *NDRG1* гена, следвани от 85 пациенти (31.4%) с НПН, причинена от мутация в *CTDP1* гена. Друга относително честа мутация сред ромите е доказана при 31 пациенти (12%) и засяга *HK1* гена. Мутации в гените *PMP22* (2.4%), *HINT1* (2.3%), *GJB1* (2%) и *MPZ* (0.4%) също са доказани сред ромската популация в Експертния център.

Областите с най-голям брой пациенти от ромски произход с установени НПН са Плевен (n=32), Бургас (n=20), Монтана (n=20) и Русе (n=32), като в Плевенска (n=21) и Монтанска (n=17) области най-разпространената форма е СМТ4D (НСМН тип Лом). Голям брой пациенти (n=32) от ромски етнос населяват област Русе, като най-честите форми на НПН при тях са СМТ4D (n=13) и СМТ4G (n=10). Най-голям брой пациенти (n=15) с ККЛДН са диагностицирани в Бургаска област.

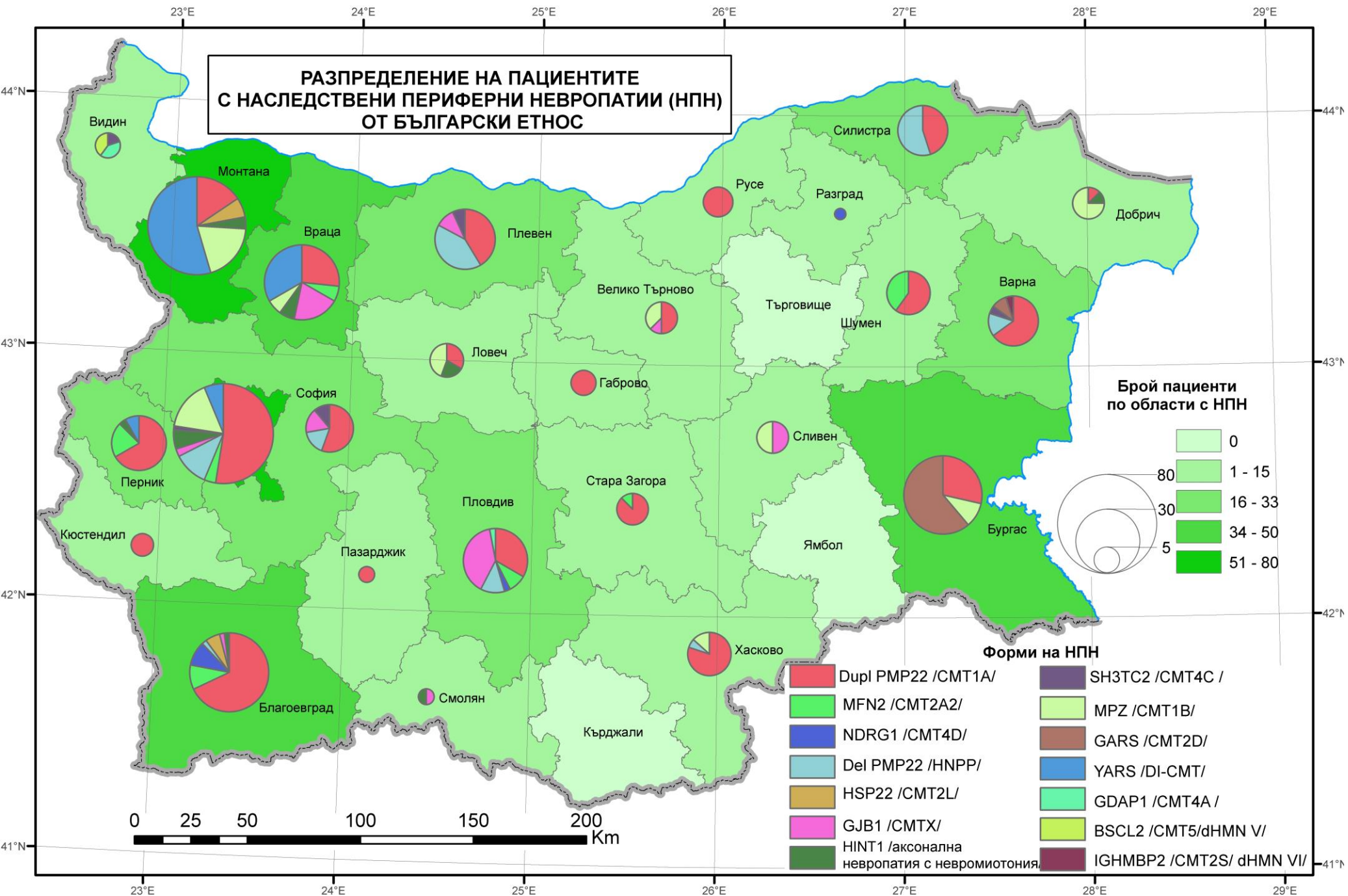
2.3. Турска етническа общност

Тридесет и един пациенти от турски етнос от 7 области на България са генетично верифицирани с НПН. Най-честата форма сред тях е СМТХ1, доказана при 15 пациенти (48.4%), следвана от СМТ1А – 8 (26%). Установени са ограничен брой пациенти, носещи мутации в *MPZ* (n=3), *BSCL2* (n=3), и *HINT1* (n=2) гени.

Областите с най-голям брой пациенти са Шумен (n=10) и Разград (n=8), което се дължи на концентране на тюрското население в няколко области на страната – Шумен, Разград, Търговище, Силистра и Кърджали. Най-често срещаната форма на НПН в област Шумен сред пациентите от тюрски етнос е СМТ1А, докато в област Разград се наблюдава превес на СМТХ.

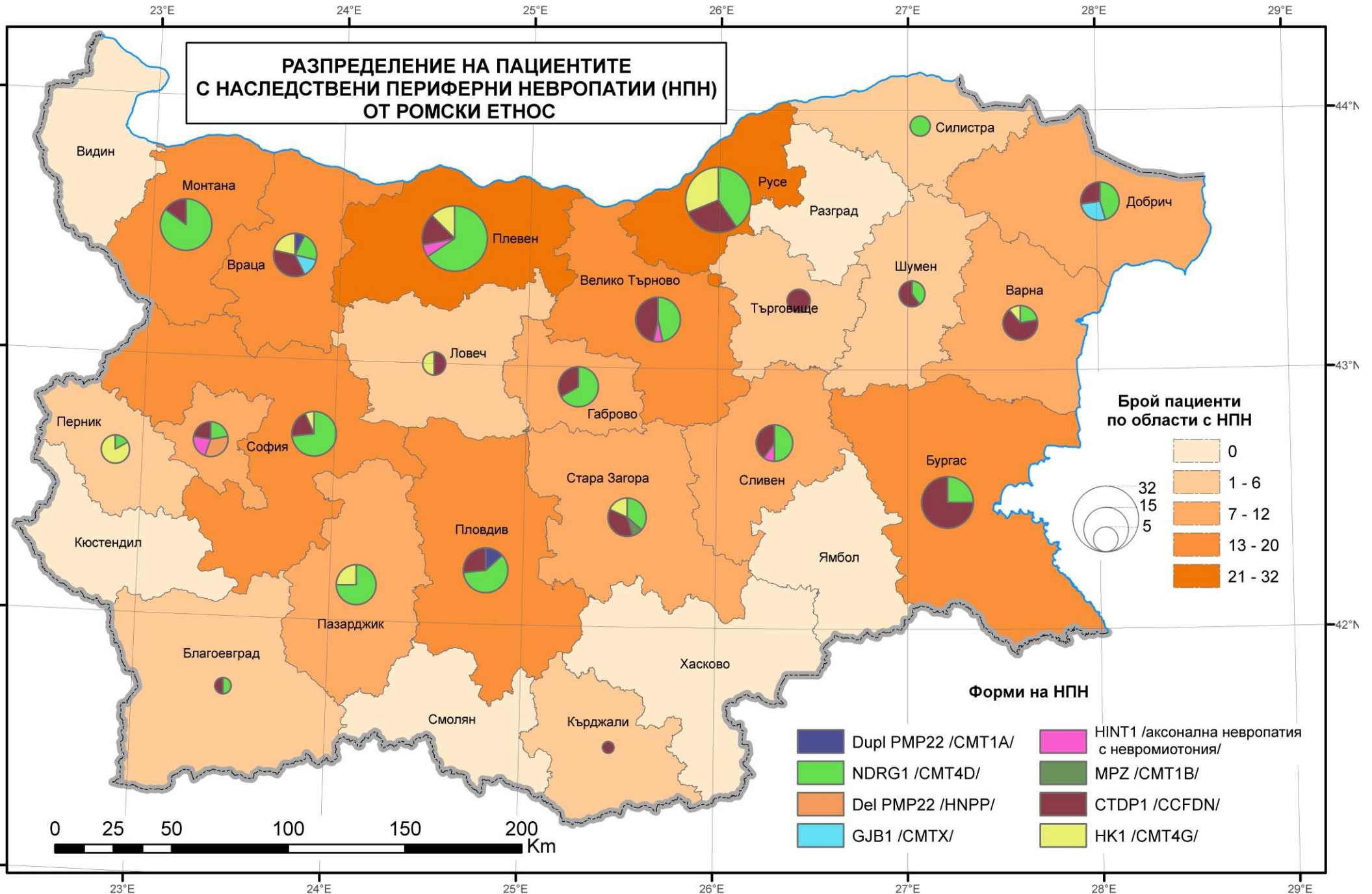
3. Визуализация на данните чрез медико-географски карти

За по-доброто разбиране на така представените данни са изработени медико-географски карти, показващи разпределението на различните генетични форми на НПН по административни области в България за трите основни етнически общности. На следващите фигури е онгаледено разпределението на НПН сред българи (фиг.15), роми (фиг.16), турци (фиг.17). С помощта на цветово насищане е представен броят на засегнатите в отделните области, а чрез кръгови диаграми е представен броят на отделните генетични форми за всяка област. Големината на кръга на диаграмите също отговаря на броя на засегнатите индивиди в съответната област.

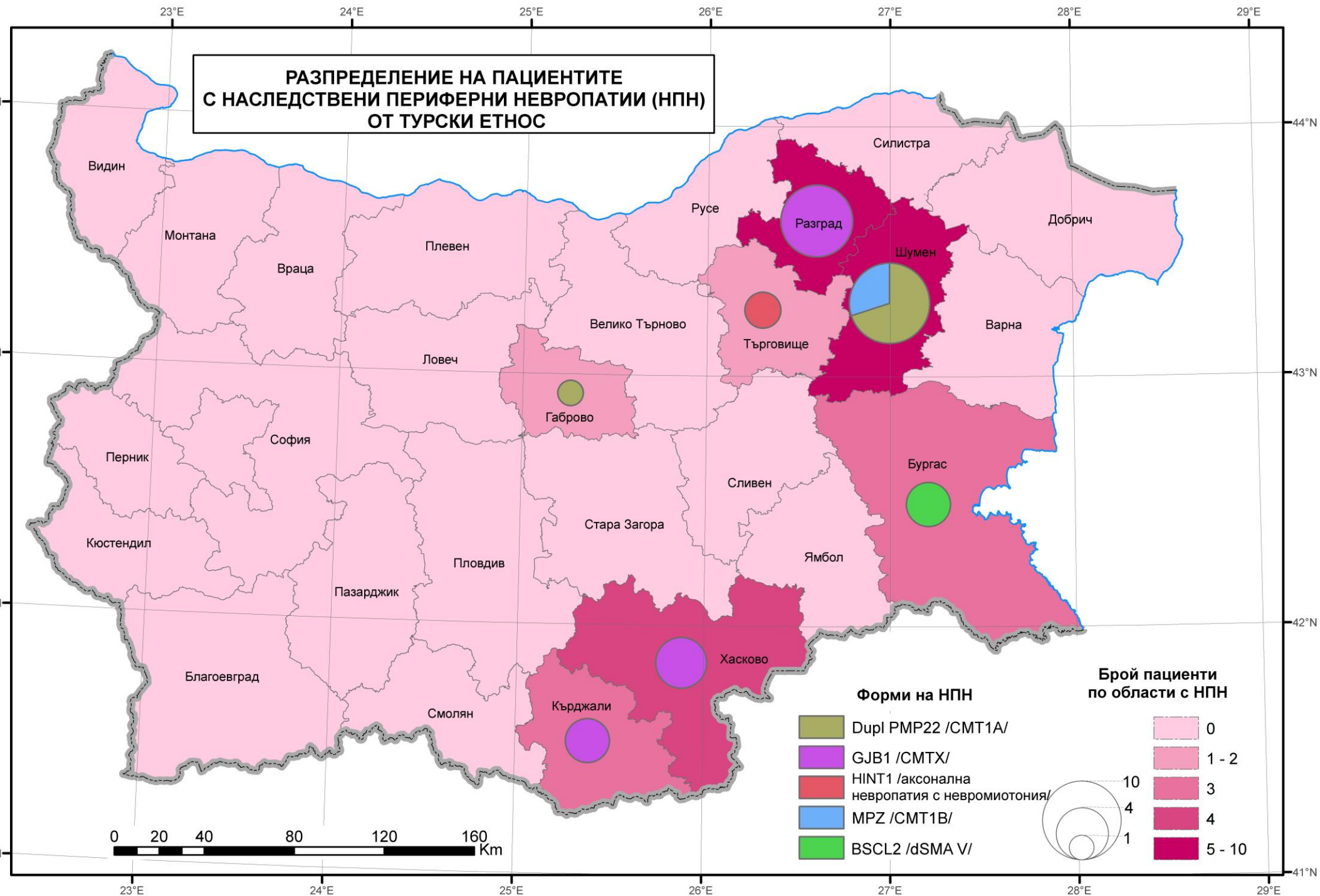


Фигура 15. Разпределение на генетичните форми на НПН в България сред българската етническа общност

**РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА ПАЦИЕНТИТЕ
С НАСЛЕДСТВЕНИ ПЕРИФЕРНИ НЕВРОПАТИИ (НПН)
ОТ РОМСКИ ЕТНОС**



Фигура 16. Разпределение на генетичните форми на НПН в България сред ромската етническа общност



Фигура 17. Разпределение на генетичните форми на НПН в България сред турската етническа общност

4. Обсъждане

Известно е, че броят на засегнатите от НПН варира в широки граници в различните държави, както и в отделни региони на една и съща страна, като е вариабилен и броят на пациентите с различни форми на заболяването [Barreto и съавт. 2016, Mladenovic и съавт. 2011]. В нашата кохорта са установени различни типове на унаследяване на мутантните гени: АД при 55% от всички генетично доказани случаи, АР при 33% и Х-свързано при 6%. При останалите 6% от случаите няма анамнестични данни за фамилност, поради което те бяха приети за спорадични.

Молекулярно-генетична диагноза е постигната при 68.5% от всички 1218 пациенти, които са тествани в Експертния център. Генетичната диагноза остава недоказана при останалите 31.5%, което е сравнимо с докладваните в литературата 20-40% в световен мащаб [England и съавт. 2009, Kochanski и съавт. 2005, Nicolaou и съавт. 2010]. Установена е значителна генетична хетерогенност. Сред 835 пациенти от трите основни етноса в страната са доказани 16 форми на НПН, дължащи се на мутации в следните гени: *PMP22*, *MFN2*, *MPZ*, *HSP22*, *BSCL2*, *HINT1*, *GJB1*, *HK1*, *NDRG1*, *CTDP1*, *SH3TC2*, *YARS*, *GARS*, *IGHMBP2*, *GDAP1*.

Генетично разнообразие на НПН сред различните етноси: След анализиране на данните от нашето проучване установихме, че АР невропатии са редки сред българските пациенти и доста по-често срещани при ромите (95.4%, n=250), докато АД НПН са най-разпространени в българската етническа група (86.3%, n=463).

СМТ1А и DI-СМТС трябва да се имат предвид на първо място при пациенти с български етнос и фамилност, сочеща АД унаследяване. Електроневрографско изследване на следващ етап и фенотипната картина са необходими за различаване на тези форми. Разпространението на АР форми и Х-свързаните форми сред българските пациенти е почти равно: 5.6% (n=37) от генетично доказаните случаи са Х-свързани форми и 5.5% (n=35) са АР НПН. Сред пациентите от български етнос и АР унаследяване на заболяването най-вероятните форми, имайки предвид разпространението сред етносите, са АР аксонална невропатия с невромиотония и СМТ4С, а българомохамеданите трябва да бъдат тествани за мутации в *NDRG1* гена.

Разнообразието от форми на НПН сред ромите също е значимо. Седем форми на СМТ и аксонална невропатия с невромиотония, дължащи се на мутации в 8 различни гена, са установени сред ромската група в нашето изследване. Въпреки, че сред общата популация АР невропатии са редки, то сред ромите в Испания, Словакия и Чехия са относително чести [Claramunt и съавт. 2007, Kalaydjieva и съавт. 1998, Sevilla и съавт. 2013, Gabrikova и съавт. 2013, Lassuthova и съавт. 2014, Šafka Brožková и съавт. 2016]. СМТ4С се описва като една от най-честите АР НПН в Англия и страни от Северна Африка [Azzedine и съавт. 2006, Houlden и съавт. 2009, Carmen и съавт. 2012]. Етническата идентичност би могла да бъде един от критериите, когато се определя типа HCMH [Guergueltcheva и съавт. 2005]. Сред ромите, обхванати от нашето проучване, най-разпространена е HCMH тип 4D (тип Лом). Заболяването е описано за първи път в гр. Лом, където е диагностицирано голямо родословие с много засегнати индивиди [Kalaydjieva и съавт. 1998]. Втората по честота форма на HCMH в тази група е ККЛДН. Синдромът е описан като чест и сред деца от ромски произход в Чехия [Lassuthova и съавт. 2014]. HCMH тип 4G (тип Русе) е третата по честота НПН сред ромите, обхванати в проучването. За разлика от описаното разпределение на НПН сред българските роми, в изследване на чешки учени HCMH тип Русе е два пъти по-честа сред чешките роми отколкото HCMH тип Лом [Šafka Brožková и съавт. 2016].

X-доминантна невропатия на този етап изглежда най-честата форма (48.4% от случаите) сред турската етническа общност, обхваната в Експертния център. Ако X-свързано унаследяване не се подозира от проведеното клинично-генеалогично проучване, то мутация в *PMP22* гена е най-вероятна, като *de novo* мутация или АД унаследяване. Въпреки така представеното заключение, смятаме, че нашето изследване търпи някои ограничения предвид малкия брой пациенти от турски етнос, които са обхванати, и също така липсата на данни в литературата за висока честота на мутациите в *GJB1* гена в Турция. Смятаме, че работата в тази насока трябва да продължи, да се обхване по-голяма група от пациенти с посочената етническа принадлежност, за да се каже с по-голяма сигурност кои са най-често срещаните форми в тази популация. Въпреки това, обща мутация в *GJB1* гена не може да бъде напълно изключена, поради малкия брой на турската общност в страната, която наброява 588 318 (8.8%) души по данни на Националния Статистически Институт от 2011 г. [Electronic database of the National Statistics Institute in Bulgaria, 2011].

Генетичен спектър на формите на НПН: Разпределението на различните форми на СМТ в нашето проучване е следното: СМТ1 – 43% (n=309), СМТ4 – 24% (n=176), СМТ2 – 9% (n=67), DI-СМТ – 9% (n=64), СМТХ – 8% (n=57), ННПП – 6% (n=47) и СМТ5/ dHMN V – 1% (n=5). Съотношението СМТ1/СМТ2 показва различни стойности в различните държави. Най-голям дисбаланс по отношение броя засегнати със СМТ1 и СМТ2 е описан в Исландия, където това съотношение е 5:1, докато в Норвегия разпределението е най-хомогенно и е 1:1 [Braathen и съавт. 2011, Gudmundsson и съавт. 2013, Barreto и съавт. 2016]. Въпреки, че СМТ2 се унаследява АД, тя засяга два до три пъти по-малко случаи в нашето проучване в сравнение със СМТ4, която се унаследява по АР път. Най-вероятната причина за това според нас е фактът, че в редица балкански страни около 10 % от населението принадлежи към ромската общност, а в България живеят около 800,000 роми [Tournev и съавт. 2016, Marushiakova и съавт. 1997], както и наблюдаваната ендегамия в тази етническа група.

СМТ1А е най-често срещаната НПН в нашата кохорта от пациенти, като допринася за 30.1% от всички случаи на НПН и за 34.5% от случаите на болест на Шарко-Мари-Тут. Тези данни не са изненадващи, имайки предвид, че СМТ1А и СМТ1В са най-честите форми на болестта на Шарко-Мари-Тут [Saporta и съавт., 2011, Mathis и съавт., 2015]. Епидемиологични проучвания в тази област сочат, че между 19.6% и 64.7% от случаите с HCMN се дължат именно на *PMP22* дупликация [Braathen и съавт. 2011, Karadima и съавт. 2011]. Тази мутация е не само най-често срещаната сред нашата клинична популация, но и е доказана при пациенти и от трите етнически общности, заедно с мутации в *MPZ*, *GJB1* и *HINT1* гени.

Неочаквано YARS-невропатия се нарежда сред петте най-разпространени НПН в България, въпреки, че тази форма на HCMN не е описана в литературата като често срещана в световен мащаб. Няколко други редки форми на HCMN също са открити сред нашата кохорта от пациенти. Те се дължат на мутации в *GDAP1* (n=3), *BSCL2* (n=2), *IGHMBP2* (n=1), *NDRG1* (n=7) и *HSP22* (n=8), които са доказани при пациенти от български етнос (мутации в *BSCL2* са установени и при трима пациенти от турски етнос).

Нашето проучване доказва, че съществува значителна генетична хетерогенност по отношение на НПН в България. Липсват достатъчно данни в литературата за разпределението на различните генетични форми на НПН в глобален мащаб [Morocutti и съавт. 2002]. Резултатите от това проучване допринасят за познанията в областта на генетичния спектър на НПН в света. Освен това те послужиха за изработването на епидемиологични карти на НПН в България, които представляват визуализиране на анализирани в проучването данни и биха могли да дадат насока на клиницистите, в

зависимост от етническата принадлежност и местоживеенето на пациента, коя е най-вероятната форма на НПН. Медико-географски карти са изработени с помощта на географски информационни системи, което дава възможност да бъдат бързо и лесно актуализирани при промяна на данните. Освен това картите могат да бъдат използвани за извършване на пространствен анализ на информацията. Събирането на данни продължава, както в световен мащаб, така и в Експертния център, с цел обхващане на максимален брой засегнати индивиди от популацията.

V ИЗВОДИ

Прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер

1. Делеции в *DMD* гена са най-честата причина за заболяването, по-малко са точковите мутации и най-малък е броят на дупликациите.
2. ДМД протича с начало в ранна детска възраст, инвалидизация до около 10 г. възраст и смърт в третата декада, за разлика от БМД, при която началото е в по-късна детска възраст, с по-лека симптоматика и инвалидизация след трета-четвърта декада. Средната възраст на начало на заболяването е 2 г. и 11 м. за ДМД и 13 г. за БМД. Средната възраст за загуба на самостоятелна походка при пациентите с ДМД е 10 г., а при тези с БМД – 29 г. Средната възраст, на която екзитират пациентите с ДМД е 21 г.
3. Структурни и функционални сърдечни промени, намаление на дихателните капацитети и сколиоза при пациентите с ДМД настъпват след загуба на самостоятелната походка и възраст над 10 г. Респираторните функции при пациенти с БМД са съхранени и на по-късна възраст. КСТ има протективен ефект върху сърдечните и респираторните функции при ходещите и неходещите пациенти. Малкият брой на пациентите, използващи апаратна вентилация или провели оперативна корекция на сколиозата се обяснява с ограничен достъп до апаратура и специалисти.

Спинална мускулна атрофия

1. СМА тип 3 се характеризира с начало на заболяването в различни възрасти, забавено ранно моторно развитие при част от пациентите, широк възрастов диапазон за загуба на самостоятелната походка и липса на влияние върху продължителността на живот.
2. Загубата на самостоятелната походка води до развитие на сколиоза и упадък на респираторните функции. Средният ФВК при неходещите пациенти е по-нисък (и под нормата) от ФВК при ходещи пациенти. Апаратна вентилация и оперативна корекция на сколиозата са проведени при единични случаи, поради ограничен достъп до апаратура и специалисти.

Миотонична дистрофия тип 1 и тип 2

1. Началото на заболяването обхваща широк възрастов диапазон при пациентите с МД1 за разлика от тези с МД2.
2. Потвърдиха се данни от литературата, свързани с фенотипната характеристика на заболяването:
 - засяга в еднаква степен и двата пола

- съществува умерена негативна корелация между възрастта на начало на заболяването и големината на тринуклеотидната експанзия при МД1 ($p=0.03$).
 - началните симптоми при МД1 обикновено са в дисталните отдели на горни крайници и се изразяват в схващане със/без слабост в тях, като не се установява разлика между мъжете и жените.
 - корелация между пола на родителя, предаващ заболяването и големината на експанзията, като последната е по-голяма при унаследяване от майката ($p=0.010$).
3. На този етап не се доказва връзка между големината на експанзията и респираторните функции.

Дистална миопатия тип Нонака (GNE миопатия)

1. Заболяването се среща само при пациенти от ромски етнос в българската популация, като се наблюдава относителна генотипна хомогенност. Унаследяването е АР, като се среща и псевдодоминантно унаследяване, свързано с ендогамия в групата. Възрастта на начало обхваща широк възрастов диапазон.
2. Слабостта на ходилото е най-характерният и постоянен белег на заболяването. Прогресията на мускулната слабост е бавна. Първите 10 г. от началото на заболяването се отличават със задоволителна двигателна активност, като основно са затруднени бягането, скачането и изкачването на стълби. След средно 15 г. от началото на заболяването настъпва необходимост от използване на помощно средство за придвижване.
3. Намалението на дихателните капацитети дори и в по-късните стадии на заболяването не води до рестриктивен тип вентилаторна недостатъчност.

Вродени миастенни синдроми

1. Вродена миастения тип Ia се среща само при пациенти от ромски произход в българската популация, като протичането на заболяването е силно вариабилно, въпреки генотипната хомогенност. Определяме три степени на клинична изява на заболяването, а именно: лека, умерена и тежка. Липсва връзка на тази вариабилност с пола или приема на антихолинестеразна терапия. Вероятно различната тежест на клиничната картина зависи от експресията на модифициращи гени.
2. ВМС тип Ia не е свързана с тежко нарушение в дихателните функции, налагащо апаратна вентилация.

Наследствени периферни невропатии

1. Наблюдава се генетична хетерогенност по отношение формите на НПН в страната. Съществува разнообразие от типове на унаследяване на НПН сред изследваните пациентите, като се наблюдават АД (55%), АР (33%), Х-свързано (6%), както и de novo мутации (6%).
2. Наблюдава се значително различие в типовете на унаследяване на НПН в различните етнически групи. АР невропатии са редки сред българските пациенти и

доста по-често срещани при ромите (95.4%), докато АД НПН са най-разпространени в българската етническа група (86.3%). Най-често срещаните невропатии сред българската етническа група са СМТ1А, DI-СМТС и СМТ1В, а сред ромската етническа група са СМТ4D, ККЛДН и СМТ4G. Х-доминантна невропатия на този етап от пручването изглежда най-честата форма сред турската етническа група, обхваната в проучването. Няколко форми (СМТ1А, СМТ1В и аксонална невропатия с невромиотония при мутация в HINT1 гена)се срещат при пациенти и от трите етнически групи.

VI ПРИНОСИ

Научно-теоритични

- Обобщен и анализиран е генетичният и фенотипният спектър на пациенти със следните заболявания: прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер, миотонична дистрофия тип 1 и тип 2, GNE миопатия и вродени миастенни синдроми. Описана и анализирана е фенотипната изява при пациенти със спинална мускулна атрофия (с генетично доказана делеция на екзони 7 и 8 в *SMN1* гена). Описан е генетичният спектър на НПН при пациенти от цялата страна. Анализирана е клиничната вариабилност при протичане на ВМС тип IA при наличие на един и същ генетичен дефект.
- Проведено е лонгитудинално проследяване на прогресията на заболяването при пациенти с ДМД/БМД и GNE миопатия. Проведен е сравнителен анализ в прогресията на заболяването между пациенти с ДМД, провеждащи стероидна терапия и пациенти без терапия.
- Проведено е дескриптивно генетично епидемиологично проучване за НПН сред трите основни етнически групи в България. Установени са специфики в разпространението на различните генетични форми на НПН при отделни етнически и религиозни малцинства. За първи път чрез молекулярно-генетичен анализ е установена НСМН тип Лом при седем пациенти от религиозно малцинство – българомохамедани, която до този момент е описана само при пациенти от ромски етнос. Описано и анализирано е разпространението по области в страната на различните генетични форми на НПН при трите етнически групи..

Научно-приложни

- За първи път в страната се създадоха електронни пациентски регистри в колаборация с международни мрежи за следните наследствени неврологични заболявания: прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер, спинална мускулна атрофия, миотонична дистрофия тип 1 и тип 2, GNE миопатия, вродени миастенни синдроми. Регистрите продължават да обновяват данните за стари пациенти и продължават да включват нови пациенти.
- Изготвените регистри станаха основа за започване на клинични изпитания с участието на български пациенти с определени генотипове.
- Разработени са медико-географски карти на НПН в България, представящи разпространението на различните генетични форми на НПН в страната и сред трите основни етноса.

ЛИТЕРАТУРА

Използвани са 347 литературни източника и 12 електронни. Използваните източници са представени в дисертационния труд.

ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С НАУЧНИЯ ТРУД

Публикации в списания

Кастрева К, Чамова Т, Търнев И. Световни и български регистри на наследствените невромускулни заболявания. Българска неврология, 2016, 17 (2), 128-132.

Кастрева К, Чамова Т, Господинова М, Переновска П, Бичев С, Тодорова А, Търнев И. Български национален регистър на пациентите с прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер. Неврология и психиатрия, 2017, 7, 22-26.

Кастрева К, Търнев И. Световни регистри за фенотипизиране на наследствени невропатии. Неврология и психиатрия, 2017, 7, 18-21.

Търнев И, Чамова Т, Сарафов С, Господинова М, Синигерска И, Киров А, Гергелчева В, Тодоров Т, Капрелян А, Ангелова Л, Грудкова М, Генев К, Димитрова Х, Стайков И, **Кастрева** К, Каменов О, Богданова Д, Иванов И, Литвиненко И, Переновска П, Божинова В, Тодорова А. Селективни скринингови програми за ранна диагностика и ранно започване на лечение на пациенти с редки генетични заболявания – опитът в България. Редки болести и лекарства сираци, 2015, 1, 17-22.

Кастрева К, Чамова Т, Търнев И. Български пациентски регистър за спинална мускулна атрофия като част от международния СМА регистър – анализ на клинични данни. Българска неврология, 2018 [под печат]

Кастрева К, Чамова Т, Търнев И. Сравнителен анализ на фенотипната изява на пациентите от българския и японския национален регистър за GNE миопатия. Неврология и психиатрия, 2018 [под печат]

Kastreva K, Tournev I. Clinical data analysis of the Bulgarian patient registry for myotonic dystrophy type 1 and type 2 – part of the Global TREAT-NMD registry. Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences, 2018 [in print]

Chamova T, Bichev S, Todorov T, Gospodinova M, Taneva A, **Kastreva** K, Zlatareva D, Krupev M, Hadjiivanov R, Guergueltcheva V, Grozdanova L, Tzoneva D, Huebner A, v. der Hagen M, Schoser B, Lochmuller H, Todorova A, Tournev I. Limb Girdle Muscular Dystrophy 2G in a religious minority of Bulgarian Muslims homozygous for the c.75G>A, p.Trp25X mutation. Neuromuscular Disorders, 2018 [under review]

Wood L, Bassez G, Bleyenheuft C, Campbell C, Cossette L, Moreno A, Dawkins H; Manera JAD, Dogan C, Sherif R, Fossati B, Graham C, Hilbert J, **Kastreva** K, Kimura E, Korngut L, Kostera-Pruszczyk A, Lindberg C, Lindvall B, Luebbe E, Lusakowska A, Mazanec R, Meola G, Orlando L, Takahashi M, Peric S, Puymirat J, Rakocevic-Stojanovic V, Rodrigues M, Roxburgh R, Schoser B, Segovia S, Shatillo A, Thiele S, Tournev I, van Engelen B, Vohanka S, Lochmüller H. Eight years after an International Workshop on Myotonic Dystrophy Patient Registries: case study of a global collaboration for a rare disease. Orphanet Journal of Rare Diseases, 2018 [under review]

Презентации

Kastreva K, Bichev S, Sarafov S, Chamova T, Cherninkova S, Litvinenko I, Guergeltcheva V, Ishpekova B, Kalaydjieva L, Jordanova A, Tournev I. Last update on genetic epidemiology of hereditary peripheral neuropathies (HPN) in Bulgaria. 3rd Congress of the European Academy of Neurology, Amsterdam, Netherlands: 24.06-27.06.2017.

Kastreva K, Chamova T, Ishpekova B, Guergeltcheva V, Bichev S, Litvinenko I, Angelova L, Bojinova V, Kalaydjieva L, Jordanova A, Tournev I. Charcot-Marie-Tooth: ethnic differences, genetic and clinical spectrum in Bulgaria. 8th National conference for rare diseases, Plovdiv, Bulgaria: 8.09 – 10.09.2017.

Постери

Кастрева К, Чамова Т, Гергелчева В, Ивайло Т. Глобален регистър на TREAT-NMD мрежата за наследствени неврологични заболявания. XIV Национален Конгрес по Неврология, Златни пясъци, Варна, България: 7.05 – 10.05.2015.

Kastreva K, Chamova T, Guergeltcheva V, Mihaylova V, Cherninkova S, Tournev I. Variability in the clinical course of congenital myasthenic syndrome type I a. 2nd Congress of the European Academy of Neurology, Copenhagen, Denmark: 28.05-31.05.2016.

Кастрева К, Гергелчева В, Ишпекова Б, Божинова В, Чамова Т, Литвиненко И, Чернинкова С, Калайджиева Л, Йорданова А, Търнев И. Наследствени периферни невропатии в България. XV Национален Конгрес по Неврология, Златни пясъци, Варна, България: 2.06 – 5.06.2016.

Kastreva K, Chamova T, Tournev I. Bulgarian patient registry for Duchenne (DMD) and Becker (BMD) muscular dystrophy. 21st International WMS Congress, Granada , Spain: 4.10 – 8.10.2016

Кастрева К, Чамова Т, Търнев И. Клинично проследяване на български пациенти с прогресивна мускулна дистрофия тип Дюшен и тип Бекер. Национална конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие, София, България: 20-22.10.2016.

Чамова Т, Литвиненко И, Божинова В, Аткинсон Д, Де Врит Е, **Кастрева К**, Бичев С, Гергелчева В, Калайджиева Л, йорданова А, Търнев И. Наследствена сетивна и моторна полиневропатия тип Лом (НСМН4D) при българо-мохамедани. Национална конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие, София, България: 20-22.10.2016.

Kastreva K, Chamova T, Bichev S, Litvinenko I, Ivanov I, Pacheva I, Mihaylova V, Cherninkova S, Bojinova V, Guergeltcheva V, Lochmuller H, Tournev I. Clinical variability of congenital myasthenic syndrome type Ia due to mutation 1267delG in 100 cases. 8th National conference for rare diseases, Plovdiv, Bulgaria: 8.09 – 10.09.2017.

SUMMARY

Patient registries are a collection of standardized data about a group of patients who share a condition or experience. They use observational study methods to collect uniform information (clinical and other) to evaluate specified outcomes for a population defined by a particular disease and that serves a predetermined scientific, clinical, or policy purpose. Due to the small number of patients with hereditary neuromuscular diseases researches in this field are difficult. For this reason patient registries are becoming more and more popular worldwide.

The aim of our study is to establish Bulgarian patient registries for several neuromuscular diseases in collaboration with international networks. For hereditary peripheral neuropathies (HPN) we set another purpose in addition – to determine the genetic spectrum of these neuropathies in Bulgaria and to evaluate the distribution of different forms in the three major ethnic groups in the country.

Materials and methods: Clinical and demographic data are collected as well as informed consent from patients to be enrolled in the registries. To obtain clinical information were performed physical and neurological examinations, neurophysiological, echocardiography, spirometry, neuroophthalmological examination, neuropsychological examinations, laboratory, clinical genealogical and genetic testing. Information about patients with HPN was obtained from the Expert Neuromuscular Center in the Medical University-Sofia, which is a referral center for HPN in Bulgaria and the National Genetic Laboratory. Patients and their families were another important source of information concerning other affected individuals, residing elsewhere. Field work studies in the whole country were another data source. A neurological screening of CMT forms, using the method "door to door", was performed in 2500 towns and villages in the country. The field work studies covered a period of 20 years (1996-2016). An ethnographical and linguistic examination was performed in every place for identification of the different ethnic groups and subgroups.

Results: In total 446 patients are enrolled in the registries (until October 2016) with the following disorders: Duchenne/Becker muscular dystrophy (n=154), spinal muscular atrophy (n=69), myotonic dystrophies type 1 and type 2 (n=88), congenital myasthenic syndromes (n=91), GNE myopathy (n=44). Another 835 affected with HPN were included in a study determining the distribution of the disease in Bulgaria according to the genetic form and ethnical identity.

Duchenne/Becker muscular dystrophy (DMD/BMD): Seventy-one different mutations were detected in the patients with DMD/BMD with predominance of deletions in the DMD gene followed by point mutations and duplications. Mean age of onset for DMD is 2 years and 11 months, and 13 years for BMD. Mean age at which patients lose ambulation is 10 years for DMD and 29 years for BMD. Cardiac involvement was observed in one third of the patients which includes structural and functional damage. Mean ejection fraction of patients with cardiac involvement is 47%. The cardiac muscle is involved after loss of ambulation and progression of the disease more than 10 years in patients with DMD. A decline in respiratory functions is observed after 11 years in boys with DMD, and they are spared in patients with BMD. Spinal scoliosis occurs in all non-ambulant patients.

Spinal muscular atrophy (SMA): The largest group of patients in the registry accounts for 70% and are diagnosed with SMA type 3. Their mean age is 32 +/- 16 years and mean age of loss of ambulation is 19 years old. The reason for the wide age spectrum in this group is that SMA type 3 does not affect lifespan and onset is in a wide age range. Delayed motor milestones are reported in 8% of the patients with SMA type 3. In comparison, mean age of patients with SMA type 2 is 12 +/- 5 years and walking ability was never reached. SMA type 1 was diagnosed in 5.7% of the patients in the registry. The reason for the small number of patients of this type is that death occurs in early childhood and these patients is seen by pediatricians. Cardiac involvement is

absent. Respiratory muscles are affected and decline in vital capacities occurs in non-ambulant patients.

Myotonic dystrophy (MD): Predominantly patients in the registry are diagnosed with MD1 (n=75), only 5 are diagnosed with MD2 and the rest 8 patients doesn't have a genetically confirmation of the disease. (diagnosis is confirmed only clinically). Gender distribution is almost equal with a slight predominance of females (males:females=1:1.3). Mean age of onset for MD1 is 26.6 years old and for MD2 –45 years. Negative correlation is established between age of onset and number of trinucleotide repeats (p=0.03). Although a correlation between gender and age of onset was not determined, we observed that the number of women with onset before 30 years is bigger than the women with onset after 31 years, while in men such distribution was not detected. Statistically significant relation was observed between parental sex and the number of repeats (p=0.01), where the number of repeats is larger when the disease is inherited from the mother. Spirometry shows vital capacities below normal range when patients carry more than 400 CTG repeats, but statistically significant correlation in our cohort is not proved (r>0.05).

GNE myopathy: The disease in Bulgaria is diagnosed only in Roma patients with autosomal recessive pattern of inheritance in 70% of them. Pseudodominant inheritance is reported in several patients, which is explained with high rate of endogamy in the Roma community. Age of onset has a wide range where mean age of onset is 23 years. Foot drop is the most common initial symptom of the disease (70%). Progression of the disease is slow and loss of ambulation occurs 15 years after onset. Cardiac involvement is uncommon. Low vital capacities are detected in more than half of the patients, but even in the advanced stages of the disease respiratory insufficiency does not occur.

Congenital myasthenic syndromes (CMS):CMS type Ia is caused by a founder mutation 1267delG in Roma patients in Bulgaria. Although a genetic homogeneity is observed, course of disease is variable. Clinical features vary between opthalmoparesis, eyelid ptosis, bulbar weakness, limbs weakness and loss of ambulation. Clinical course is described as mild, moderate and sever depending on the combination of symptoms and their severity. Respiratory insufficiency is not common among patients in our survey.

HPN: Wide genetic spectrum was established in our study with 16 different forms of HPN in Bulgaria, caused by mutations in 15 different genes. Variety of inheritance patterns is observed. Autosomal dominant forms are the most common and account for 55% of the cases, autosomal recessive neuropathies are diagnosed in 33% of the patients and X-linked forms - in 6%. The remaining 6% of patients did not declare any members of the family with the condition and they were considered as sporadic forms. AR neuropathies are rare among Bulgarian patients and are more common in the Roma ethnic group (95.3%, n=246), while AD neuropathies are mostly spread among Bulgarians (88.9%, n=463). X-dominant neuropathy seems to be the most frequent (48.4% of the cases) HPN in the Turk ethnic group. The most common forms of neuropathies among Bulgarians are CMT1A, DI-CMTC and CMT1B, while in Roma patients CMT4D, CCFDN and CMT4G are more frequent. CMT1A, CMT1B and axonal neuropathy with neuromyothony due to HINT 1 gene mutations are detected in patients of all three ethnic groups.