

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ**  
**КАТЕДРА ПО НЕВРОЛОГИЯ**  
**УМБАЛ „АЛЕКСАНДРОВСКА“, КЛИНИКА ПО НЕРВНИ БОЛЕСТИ**

**Завеждащ Катедра: проф. д-р Юлия Петрова, дмн**  
**Научна специалност 030119 Неврология**

**Д-р Станислава Георгиева Благоева**

**Клинико-генетични проучвания на вродените миотонии,  
метаболитни и митохондриални заболявания на  
мускулите**

**Дисертация**  
**за присъждане на образователно научна степен „Доктор“**

**Научни ръководители:**  
**Проф. д-р Ивайло Людмилов Търнев, дмн**  
**Доц. д-р Теодора Кънчева Чамова, дмн**

**София, 2023 година**

## Съдържание:

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Въведение.....                                                                                  | 6  |
| 1. Литературен обзор.....                                                                       | 7  |
| 1.1 Недистрофични миотонии.....                                                                 | 7  |
| 1.1.1 Хлорни каналопатии.....                                                                   | 8  |
| 1.1.1.1 История.....                                                                            | 8  |
| 1.1.1.2 Епидемиология.....                                                                      | 9  |
| 1.1.1.3 Етиология и патогенеза.....                                                             | 10 |
| 1.1.1.4 Класификация.....                                                                       | 11 |
| 1.1.1.5 Подтипове.....                                                                          | 11 |
| 1.1.1.4.1 Автозомно-доминантна миотония на Томсен.....                                          | 12 |
| 1.1.1.4.2 Автозомно-рецесивна миотония на Бекер.....                                            | 14 |
| 1.1.1.4.3 Диагноза и диференциална диагноза на вродените миотонии, всл. хлорни каналопатии..... | 15 |
| 1.1.2 Натриеви каналопатии.....                                                                 | 17 |
| 1.1.2.1 История.....                                                                            | 17 |
| 1.1.2.2 Епидемиология.....                                                                      | 17 |
| 1.1.2.3 Етиология и патогенеза.....                                                             | 17 |
| 1.1.2.4 Класификация .....                                                                      | 20 |
| 1.1.2.4.1 Хиперкалиемична периодична парализа.....                                              | 20 |
| 1.1.2.4.2 Вродена парамиотония.....                                                             | 22 |
| 1.1.2.4.3 Натриево-канална миотония .....                                                       | 22 |
| 1.1.2.4.4 Калциева каналопатия- хипокалиемична периодична парализа.....                         | 23 |
| 1.1.2.5 Лечение на вродените миотонии.....                                                      | 26 |
| 1.2. Вродени миастении.....                                                                     | 29 |
| 1.2.1 История.....                                                                              | 29 |
| 1.2.2. Епидемиология.....                                                                       | 29 |
| 1.2.3 Етиология и патогенеза.....                                                               | 30 |

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| 1.2.4 Класификация.....                                  | 33 |
| 1.2.4.1 Мутации в CHAT гена .....                        | 37 |
| 1.2.4.2 Мутации в SNAP25B гена.....                      | 37 |
| 1.2.4.3 Мутации в COLQ гена.....                         | 38 |
| 1.2.4.4 Мутации в SCN4A гена.....                        | 38 |
| 1.2.4.5 Мутации в RAPSN гена .....                       | 39 |
| 1.2.4.6 Мутации в CHRNE гена.....                        | 39 |
| 1.2.4.7 ВМС, причинен от дефект при гликозилирането..... | 41 |
| 1.2.4.8 Мутации в MUSK гена.....                         | 42 |
| 1.2.4.9 Мутации в DOK7 гена.....                         | 42 |
| 1.2.4.11 Мутации в LRP4 гена.....                        | 42 |
| 1.2.5 Диагноза и диференциална диагноза.....             | 43 |
| 1.2.6 Терапия.....                                       | 44 |
| 1.3 Вродени миопатии.....                                | 47 |
| 1.3.1 История.....                                       | 47 |
| 1.3.2 Епидемиология.....                                 | 47 |
| 1.3.3 Етиология и патогенеза.....                        | 47 |
| 1.3.4 Класификация.....                                  | 49 |
| 1.3.4.1 Немалинова миопатия.....                         | 53 |
| 1.3.4.2 “Central core” вродена миопатия.....             | 54 |
| 1.3.4.3 Миопатия с натрупване на миозин.....             | 57 |
| 1.3.4.4. Центронуклеарна/ миотубуларна миопатия.....     | 58 |
| 1.3.4.5 Миопатия с диспропорция на влакната.....         | 63 |
| 1.3.4.6 Bethlem миопатия.....                            | 65 |
| 1.4 Кавеолинопатии .....                                 | 75 |
| 1.5 Метаболитни миопатии.....                            | 79 |
| 1.5.1 История.....                                       | 79 |
| 1.5.2 Епидемиология.....                                 | 79 |
| 1.5.3 Етиология и патогенеза.....                        | 80 |
| 1.5.4 Класификация.....                                  | 81 |

|                                                                                                                                                                                               |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.6 Изводи от литературния обзор.....                                                                                                                                                         | 97  |
| 2. Цели и задачи.....                                                                                                                                                                         | 98  |
| 2.1 Цели на проучването.....                                                                                                                                                                  | 98  |
| 2.2 Задачи на проучването.....                                                                                                                                                                | 98  |
| 3. Клиничен контингент и методи на изследване.....                                                                                                                                            | 100 |
| 3.1 Контингент.....                                                                                                                                                                           | 100 |
| 3.2 Методи на изследване.....                                                                                                                                                                 | 101 |
| 4. Резултати и обсъждане.....                                                                                                                                                                 | 103 |
| 4.1 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 10 пациенти с поставена диагноза: Вродена миотония с автозомно рецесивен тип на унаследяване- генерализирана миотония на Бекер..... | 103 |
| 4.2 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 2 пациенти с поставена диагноза: Натриево-канална миотония.....                                                                     | 113 |
| 4.3 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при пациент с поставена диагноза: Хипокалиемична периодична парализа.....                                                               | 117 |
| 4.4 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при пациент с поставена диагноза: Парадоксална миотония.....                                                                            | 120 |
| 4.5 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 2 пациенти с поставена диагноза: Кавеолинопатия- “Rippling” миопатия.....                                                           | 122 |
| 4.6 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 2 пациенти с поставена диагноза: “Central core” миопатия.....                                                                       | 126 |
| 4.7 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 5 пациенти с поставена диагноза: Миопатия на Bethlem.....                                                                           | 130 |
| 4.8 Пациент с Вродена миопатия в резултат на мутация в CRYAB гена, водеща до развитието на алфа-В кристалинопатия.....                                                                        | 139 |
| 4.9 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 9 пациенти с поставена диагноза: Болест на Помпе.....                                                                               | 142 |
| 4.10 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 91 пациенти с поставена диагноза: Вроден миастенен синдром.....                                                                    | 152 |
| 5. Изводи.....                                                                                                                                                                                | 169 |
| 6. Приноси.....                                                                                                                                                                               | 170 |
| 7. Литература.....                                                                                                                                                                            | 171 |
| 8. Приложения.....                                                                                                                                                                            | 213 |
| 9. Научни публикации и участия във връзка с дисертационния труд.....                                                                                                                          | 216 |

### **Използвани съкращения:**

|                                                        |                                |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------|
| АД- автозомно доминантна                               | АР-автозомно рецесивна         |
| ВМ- вродена миотония                                   | ЕМГ- електромиография          |
| КФК- креатинфосфокиназа                                | ПКК- пълна кръвна картина      |
| ЕКГ- електрокардиография                               | ТТХ- тертратоксин              |
| ВМС- вроден миастенен синдром                          | МФ - флукутираща миотония      |
| МР - перманентна миотония                              | NMJ- невромускулен синапс      |
| AChR- ацетилхолиновите рецептори                       | Ach- ацетилхолин               |
| AChE- ацетилхолинестераза                              | ChAT - холин ацетилтрансфераза |
| RyR - рианодинов рецептор                              | SR- саркоплазмения ретикулум   |
| DHPR- дихидропиридинов рецептор                        | ER- ендоплазмения ретикулум    |
| GAA- кисела а-глюкозидаза                              | НМ- немалинова миопатия        |
| SCCMS- синдром на бавен канал                          | FCCMS- синдром на бърз канал   |
| EDS- Ehlers-Danlos                                     | PD- болест на Помпе            |
| ТК 2- тимидин киназа 2                                 |                                |
| АСАТ- аспартат аминотрансфераза                        |                                |
| АЛАТ- аланин аминотрансфераза                          |                                |
| ФИД- функционало изследване на дишането                |                                |
| NBS- национална програма за скрининг на новородени     |                                |
| RR-MADD- дефицит на множествена ацил-КоА дехидрогеназа |                                |
| GSD- нарушения на съхранението на гликоген             |                                |
| FAO- дефекти на окисление на мастни киселини           |                                |
| ERT- ензим заместителна терапия                        |                                |
| rhGAA- рекомбинантна човешка кисела алфа-глюкозидаза   |                                |
| WES- секвениране на целия екзом                        |                                |
| WGS- секвениране на целия геном                        |                                |
| OXPPOS- оксидативното фосфорилиране                    |                                |
| СРЕО- хроничната прогресивна външна офталмоплегия      |                                |

# **Клинико-генетични проучвания на вродените миотонии, метаболитни и митохондриални заболявания на мускулите**

## **Въведение**

Вродените миотонии, метаболитните и митохондриалните заболявания представляват редки, фенотипно и генотипно хетерогенни болести с бавно прогресиращ ход. Причиняват се от мутации в гени кодиращи скелетно-мускулни йонни канали при вродените миотонии, от мутации в гени, кодиращи структурни белтъци при вродените миопатии и от мутации в гени, кодиращи ензими, участващи в ключови биохимични пътища, свързани със съхранение, метаболизиране и използване на субстратите, необходими за генериране на мускулна енергия при метаболитните миопатии.

Заболяванията засягат структурата и функцията на напречно-набраздената мускулна тъкан и водят до развитие на симптоми като миотония и периодична парализа при каналопатиите, мускулна слабост и хипотония, с редица костни деформитети и специфични хистопатологични промени наблюдавани при мускулната биопсия, при вродените миопатии, както и скелетната, сърдечна и гладкомускулната дисфункция, засягане на централната нервна система и ендокринната система при метаболитните миопатии.

Вродените миастенни синдроми (ВМС) са група от наследствени заболявания, при които е нарушено нервно-мускулното предаване. Причиняват се от мутации в гени, които кодират протеини, участващи в невромускулния синапс и водещи до дефектно невромускулно предаване. Фенотипно ВМС се проявяват с повишена уморемост и преходна или постоянна слабост на очните, лицевите, булбарните, респираторните мускули, мускулите на крайниците и аксиалната мускулатура, с различна степен на тежест. Клинично началото на заболяването е широко вариабилно- от неонаталния период до зряла възраст.

Основна цел на настоящето изследване е уточняване на клинико-генетичната корелация при посочените невромускулни заболявания в България.

# 1. Литературен обзор

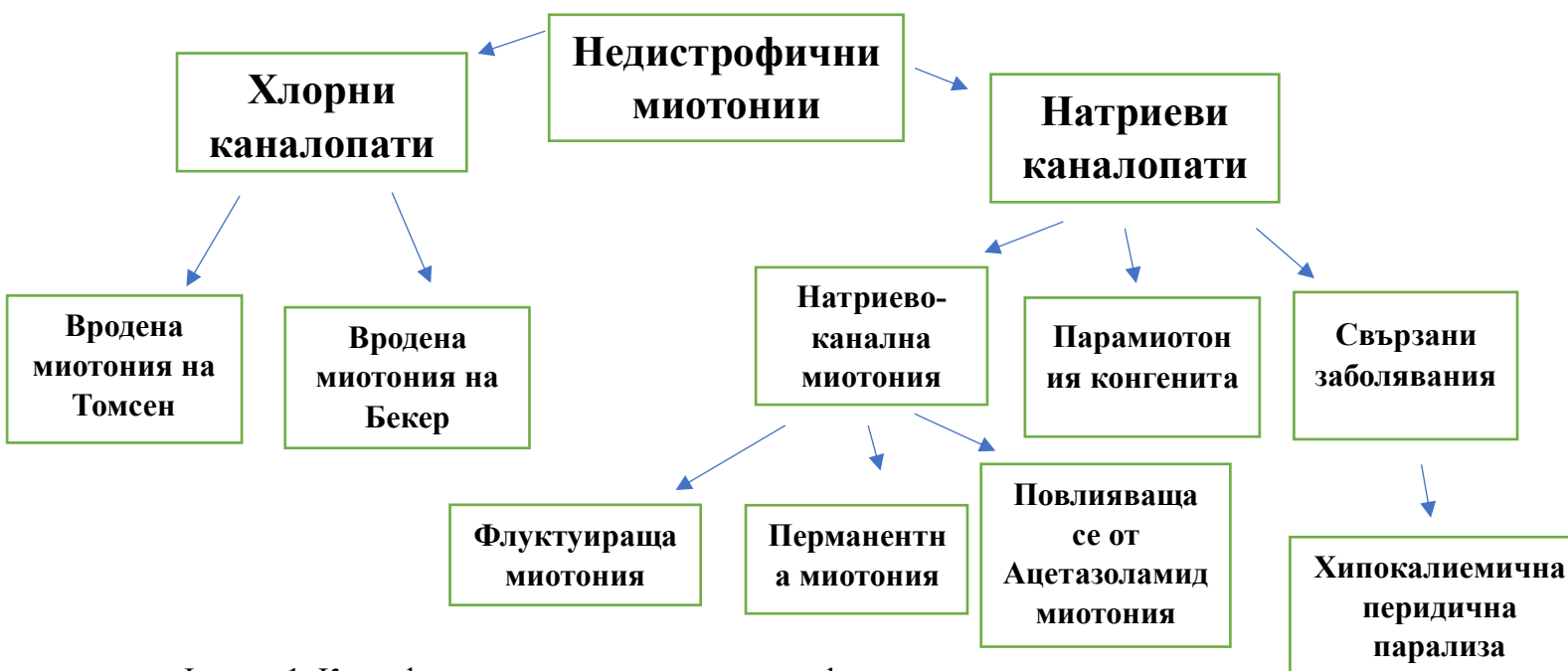
## 1.1 Недистрофични миотонии

Миотоничните заболявания класически се разделят на дистрофични и недистрофични. Недистрофичните миотонии имат обща етиология- дисфункция на йонен канал, локализиран в скелетните мускули [Juliana Gurgel-Giannetti, Adriano S Senkevics и съавт., 2012].

Недистрофичните миотонии са група редки, моногенни, мускулни заболявания, обуславящи се от свръхвъзбудимост на сарколемната мембрана, причинена от мутации, водещи до увеличена експресия на *SCN4A* гена, отговорен за функционирането на волтаж-зависимите натриеви канали на скелетните мускули, или от мутации, водещи до намалена експресия на *CLCN1* гена, отговорен за функционирането на хлорните йонни канали [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

Към групата на хлорните каналопatii се отнасят автозомно- доминантната (АД) - болест на Томсен и автозомно-рецесивната (АР) – генерализирана миотония на Бекер [David J Coote, Mark R Davis и съавт., 2018].

Към групата на натриевите каналопatii се отнасят: натриево-каналната вродена миотония, вродената парамиотония, засилваща се от калий миотония и хиперкалиемична периодична парализа [Ibrahim Sahin, Haktan B Erdem и съавт., 2018].



Фигура 1. Класификационна схема на недистрофични миотонии и тясно свързани разстройства [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

Някои заболявания като: вродена миопатия с фетална хипокинезия, някои от случаите на вроден миастенен синдром и хипокалиемична периодична парализа са причинени също от мутации в *SCN4A* гена, но при тях е налице намалена експресия, а не увеличена, в резултат на което при тях липсва миотония [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

## **1.1.1 Хлорни каналопатии**

### **1.1.1.1 История**

Терминът вродена миотония (ВМ) е въведен за първи път през 1876 г. от АсМус Юлиус Томас Томсен (1815-1896), който формулира първото окончателно описание на миотония конгенита- заболяване, диагностицирано при самия него и при пет поколения от фамилия му [Johnson, J., 1968]. Този изследовател описва случаите на двама свои братя и две сестри с вродена миотония, при напълно здрави родители, но с установена родствена връзка- били братовчеди [E Kuhn, W Fiehn, D Seiler, и съавт. 1979].

През 1886 г. Ерб публикува първата монография на тема вродена миотония [E Kuhn, W Fiehn, D Seiler и съавт., 1979].

Вейнарови за първи път обсъжда наличието на рецесивна форма на миотония конгенита през 1930 г. [E Kuhn, W Fiehn, D Seiler и съавт., 1979].

През 1959 г., Петер Бекер, немски невролог с основен принос в класифицирането на мускулните дистрофии, описва мускулна дистрофия тип Бекер и автозомно-рецесивна миотония на Бекер. Той осъществява мащабно проучване, доказващо наличието на рецесивна форма на миотония конгенита [Lawrence A Zeidman, Daniel Kondziella, 2014]. За тази си цел анкетира всички практикуващи невролози и интернисти във всички катедри по неврология и вътрешни болести в Западна Германия и в частност Западен Берлин. По този път той достига до кохорта от 224 пациенти с предполагаема вродена миотония. Бекер разглежда 197 от тези случаи и потвърждава диагнозата вродена миотония тип Бекер при 142 от тях. Само при 27 (19%) от тези 142 пациенти се откриват засегнати роднини в две или повече последователни поколения. В 65 от тях няма други засегнати от заболяването родственици. При част от изследваните пациенти е наблюдавана спорадична поява на миотония, а при друга наличие на миотония, засягаща братя и сестри при здрави родители. Този факт благоприятства направеното предположение за съществуването на автозомно-рецесивна форма на вродена миотония в допълнение към

автозомно- доминантната форма. Този постулат е допълнително подкрепен от случаи с доказано кръвно родство между родителите. По-голяма честота на деца с вродена миотония  $5\% >$  се открива при близкородствените бракове, отколкото в общата популация, които възлизат на  $0,1\% - 0,5\%$  от общото население. При десет от изследваните от Петер Бекер пациенти била установена родствена връзка между родителите- при пет от тях родителите били първи братовчеди, при трима пациенти - втори братовчеди, а при двама пациенти те били трети братовчеди. Бекер съобщава за две семейства, в които бащата и майката на засегнатите братя и сестри не показват симптоми или признаци на миотония, но при електромиографското изследване са открити миотонични разряди [E Kuhn, W Fiehn, D Seiler, и съавт. 1979].

Първите мутации в *CLCN1* гена доказващи наличието на автозомно-рецесивна и автозомно-доминантна вродена миотония са установени през 1992 и 1993г. [Christoph Lossin, Alfred L George Jr., 2008].

**В България:** С. Тинчева и съавтори през 2016 г. докладват първите случаи на вродена миотония тип Бекер, установени в резултат на молекулярно-генетично изследване на 6 семейства, насочени за секвениране на *CLCN1* гена. Едно от семействата е с българо-турски произход. Открити са три мутации- нонсенс (p.Arg894\*), сплайсинг (c.1471+1G>A), миссенс (p.Val273Met; p.Tyr524Cys), причиняващи заболяването. Открити са два ендемични региона- един в югозападната част на България и втори в северозападната част. Проведен е скрининг на 154 жители на югозападния регион, показващ значителна честота на носителство на мутация p.Tyr524Cys, което представлява около  $0,65\%$  или  $1/154$  жители. Изненадващо генетичното изследване на новородени от Югозападна България показва още по-висок статус на носителство от около  $2,6\%$  ( $3/116$ ). В двата ендемични региона за вродена миотония в България са скринирани по 100 новородени. Скринингът за хетерозиготност е извършен чрез PCR амплификация на сухи кръвни петна. Установено е, че c.1471+1G>A е най-честият тип мутация, причиняваща вродена миотония на Бекер за българското население [Savina Tincheva, Bilyana Georgieva и съавт., 2016].

### 1.1.1.2 Епидемиология

Честотата на заболяването е 1 на 100 000 души в световен мащаб. По-висока честота от 7,3 или 9,0 на 100 000 се наблюдава в Северна Финландия и съответно в

Северна Норвегия. Вариантите на *CLCN1* генетични мутации са обогатени в Северна Финландия, поради ефектите на прародителя и географската изолация. В Северна Норвегия се наблюдава по-голяма степен на генетична хетерогенност [David J Coote, Mark R Davis и съавт., 2018].

Данни за честотата на вродените миотонии за национален мащаб са докладвани в Обединеното кралство (0,75/100 000) [Horga A, Raja Rayan DL и съавт., 2013] и Холандия (1,7/100 000) [Stunnenberg BC, Raaphorst J и съавт., 2018]. Съобщава се, че разпространението е по-високо в някои региони, вероятно отново поради ефектите на прародителя и географски изолираните популации [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

### 1.1.1.3 Етиология и патогенеза

Човешкият ClC-1 представлява основният хлорен канал в напречно-набраздената мускулатура. Кодиран е от 23 екзона на *CLCN1* гена, локализиран върху хромозома 7q35 и представлява трансмембранен протеин, състоящ се от 988 аминокиселини (тегло около 120 kDa), обикновено разделени на аминокиселини (N)-терминална трансмембранна част (до около 590 аминокиселини) и карбоксилна (C)-терминална цитоплазматична част [Chung-Jiuan Jeng, Ssu-Ju Fu и съавт., 2020]. Протеинът функционира като хомодимер – всеки мономер съдържа 18  $\alpha$ -спирали, 16 от които трансмембранни. C-терминалният край е локализиран в цитоплазматичната страна на мембраната и е сравнително дълъг – съдържа два идентични цистатионин синтазни домена, също важни за ролята на канала. Загуба на функцията на протеина ClC-1 причинява свръхвъзбуждане на клетъчната мембрана – водеща до възникване на миотоничен феномен [Stephen C Cannon, 2018].

Акционните потенциали на скелетните мускули се генерират чрез активиране на волтаж-зависими натриеви канали, което в следствие води до деполяризиране на сарколемната мембрана. Реполаризацията на сарколемната и потенциалът на покой се определят от съвместната активност на калиеви и хлорни канали. За разлика от невроните, където йонната проводимост в покой се осъществява посредством калиеви канали, в скелетната мускулатура тази функция се осъществява от хлорните канали [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020]. Причинно-следствената връзката между намалената проводимост на хлорните канали и свръхвъзбудимостта на мускулните влакна е установена за първи път от Lipicky и Bryant през 1966 г. [Lipicky RJ, Bryant SH и съавт., 1966].

В условията на намалена хлорна проводимост и повишената концентрацията на  $K^+$  в напречно-набраздените тубули, всяка мускулна контракция води до абнормно продължителна деполяризация на сарколемата. Всяка последваща деполяризация води до генериране на самоподдържащи се разряди (вижда се като електрическа миотония при електромиография [ЕМГ]), които предотвратяват отпускането на мускулатурата след доброволна контракция [Burge JA, Hanna MG, 2012]. Въпреки това, този модел не обяснява защо миотонията спира след няколко секунди, нито обяснява основата на феномена на загаряването, при който е налице отслабване на миотонията или пълното и изчезване след продължително повтаряне на едно и също упражнение. Предложен е допълнителен модел, при който повишаването на  $K^+$  причинява първоначална деполяризация на сарколемата и впоследствие активира персистиращ вътрешен натриев поток (NaPIC), който води до по-нататъшна деполяризация и генериране на миотоничен потенциал на действие [Hawash AA, Voss AA и съавт., 2017]. Молекулярно-генетичното потвърждение на хипотезата за намалена хлорна проводимост се доказва през 1992 г., когато се установяват първите мутации в *CLCN1* гена, които се идентифицират при пациенти с доминантна и рецесивна вродена миотония [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

#### **1.1.1.4 Класификация**

Хлорните каналопатии, обусловени от мутации, водещи до намалена експресия на *CLCN1* гена, се разделят на автозомно- доминантна - болест на Томсен и автозомно-рецесивна – миотония на Бекер в зависимост от типа на унаследяване [David J Coote, Mark R Davis и съавт., 2018].

#### **1.1.1.5 Подтипове**

Вродената миотония е рядко заболяване и показва висока степен на генетично обусловена хетерогенност. Установени са редица мутации в *CLCN1* гена, причиняващи развитието на вродена миотония: нонсенс, делеции, дупликации. До този момент са идентифицирани над 200 патогенни варианта в *CLCN1* гена [David J Coote, Mark R Davis и съавт., 2018].

Основният белег при вродените миотонии е наличието на затруднена мускулна релаксация, наблюдавана след силно мускулно съкращение- акционен миотоничен феномен (мио- от гръцки: мускул; тонус от латински: напрежение). Миотония може да се наблюдава и след перкусия (за първи път описано от Erb)- перкусионен миотоничен феномен [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020]. В някои случаи миотонията не се

наблюдава в началото на движението, а след двукратно повторение на едно и също действие (забавена миотония) [Christoph Lossin, Alfred L. George Jr., 2008]. Фенотипният спектър на вродените миотонии варира от лека миотония, очевидна само при клиничен преглед до тежка и инвалидизираща миотония с преходна слабост и миопатия [Juliana Gurgel-Giannetti, Adriano S. Senkevics и съавт., 2012]. Мускулната хипертрофия, водеща до атлетичен хабитус е характерна черта предимно за генерализираната миотония на Бекер, възникваща вероятно поради неволевата продължителна контракция на скелетните мускули. Мускулна атрофия, преходна или в някои случаи постоянна мускулна слабост са често срещани симптоми [Juliana Gurgel-Giannetti, Adriano S. Senkevics и съавт., 2012]. При някои от пациентите са налице контрактури и миотония на дъвкателната мускулатура. Част от пациентите развиват прогресивна сколиоза, изискваща хирургическа корекция [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020]. За разлика от миотоничната дистрофия тип 1 и 2, които са мултисистемни заболявания с прогресивно мускулно увреждане, при недистрофичните вродени миотонии липсва прогресивно мускулно увреждане и пациентите обикновено са с нормална продължителност на живота. Ключови симптоми, докладвани от пациентите при недистрофичните миотонии са: мускулна скованост или крампи, слабост, умора и болка. Възприятието за качеството на живот е особено повлияно от наличието на болка и умора и се равнява на възприятието за качеството на живот при пациентите, страдащи от захарен диабет и е по-лошо в сравнение със здравата популация, което оправдава фармакологично лечение [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

#### **1.1.1.4.1 Автозомно-доминантна миотония на Томсен**

Болестта на Томсен е причинена най-често от хетерозиготни миссенс мутации. Известни изключения са нонсенс мутации като R894X и E193X или мутации със смяна в рамката на четене [George, A. L., Jr. Sloan-Brown и съавт., 1994]. Сред докладваните мутации, свързани с болестта на Томсен в Северна Америка, G230E е най-често срещана [George, A. L., Jr. Crackower и съавт., 1993]. Исторически интересна е миссенс мутацията P480L, тъй като се среща в разширеното родословие на Юлиус Томас Томсен, който първоначално описва синдрома [Steinmeyer, K., Lorenz C. и съавт., 1994]. По-голямата част от вариантите на болестта на Томсен са резултат от миссенс мутации, основно локализирани в екзон 8, който кодира област на взаимодействие между CIC-1 мономерите. Повечето мутации,

причиняващи миотония, са уникални за отделните семейства или представляват изолирани случаи [Christoph Lossin , Alfred L George Jr., 2008].

Вродената миотония на Томсен се характеризира с мускулна скованост, засягаща всички набраздени мускулни групи, включително външните очни мускули, мускулите на лицето и езика. Има малко данни за автозомно-доминантната миотония на Томсен, тъй като автозомно-рецесивната миотония на Бекер е около 10 пъти по-често срещана. Генотип– фенотипните корелации варират, като са установени и междинните форми между фенотиповете на Томсен и Бекер [Adina-Ioana Derevenciu, Angela Abicht и съавт., 2016].

Обикновено започва в ранна детска възраст и клинично се характеризира с миотония, забавена релаксация на скелетната мускулатура, настъпваща след силна мускулна контракция и след продължителен период на почивка (например при ставане от стол/легло или в началото при ходене или бягане) и се подобрява при многократно съкращаване на скелетните мускули, така нареченият „феномен на загряване“ (warm up феномен). Обратно- при вродена парамииотония (натриева каналопатия) симптомите обикновено се влошават с всяка последваща контракция на скелетните мускули. Миотония, повлияваща се от ниска температура на околната среда, от нивото на серумния калий и съпроводена от миалгия често се среща при натриевите каналопатии и по-рядко при хлорните каналопатии. Тези клинични характеристики могат да бъдат полезни при насочване за потвърдителни генетични изследвания. Миотония на клепачите може да присъства както при хлорните, така и при натриевите каналопатии [ David J Coote , Mark R Davis и съавт., 2018]. Първият симптом на вродена миотония на Томсен може да бъде забавено отпускане на клепачите след силното им затваряне, след кихане или по време на плач [Wakeman, B., Babu D и съавт., 2008]. При кърмачето може да е налице необичайно развита мускулатура на крайниците, но явната мускулна хипертрофия в ранна детска възраст е рядка. Често болестта на Томсен не се разпознава до късно детство, когато детето изглежда трмаво и има затруднения с движенията след почивка. Мускулите са сковани, особено на краката, при изправяне от седнало положение и по време на изкачване на стълби. Болестта на Томсен може да варира по тежест от лека до умерена, като тежките случаи са редки. Продължителността на живота е нормална и засегнатите индивиди могат да водят задоволителен начин на живот. Няма прогресия на симптомите във времето. Наблюдават се изразени интрафамилни различия по отношение на възрастта на поява на заболяването, на засегнатите мускулни групи и тежестта на заболяването. При някои пациенти липсват клинични оплаквания, а са налице единствено

електромиографски данни за миотонични феномени- така наречената латентна миотония [Christoph Lossin , Alfred L George Jr, 2008].

#### **1.1.1.4.2 Автозомно-рецесивна миотония на Бекер**

При вродената миотония на Бекер се открива почти пълния спектър от различните видове мутации, причиняващи развитието на заболяването. Най-често установяваните мутации са миссенс F413C и 14-bp делеция, водеща до изместване в рамката на четене [Christoph Lossin, Alfred L George Jr., 2008].

Генерализираната миотония тип Бекер се проявява на възраст между 4 и 12 години и има тенденция да бъде с по-тежка клинична изява от доминиращия тип [Monika Nojszewska, Anna Lusakowska и съавт., 2019]. Възможно е появата на оплакванията макар и рядко да започне от раждането, от ранна детска възраст или след 12-годишна възраст. В някои редки случаи, началото на симптоми настъпва след 40-годишна възраст. Миотонията обикновено засяга мускулите на крайниците, но често засяга езика и дъвкателната мускулатура. По правило първоначално се открива в долните крайници [E Kuhn, W Fiehn и съавт. 1979]. Заболяването се характеризира с умерена до тежка миотония, умерена мускулна хипертрофия, отслабени сухожилни рефлексии, преходна слабост, придружаваща миотонията, или дори постоянна слабост и атрофия на мускулите на предмишницата и на шията [Monika Nojszewska, Anna Lusakowska и съавт., 2019]. Мускулна хипертрофия на бедрата, прасците, раменете и глутеуса се наблюдава често при пациенти от мъжки пол. (При жените рядко се среща мускулна хипертрофия.) Необичайна твърдост на мускулатурата и ограничената дорзифлексия на китката са доста чести признаци на автозомно-рецесивната форма на вродена миотония, възникващи съответно в 54% и 84% от изследваните случаи [E Kuhn, W Fiehn и съавт., 1979]. Преходна слабост се проявява внезапно и засяга мускулите, участващи в съответната задача, довеждащо до изпускане на предмет или дори до нарушен постурален контрол. Въпреки че миотонията обикновено не е свързана с болка, е възможно наличието на болезнени мускулни крампи или миалгия, особено по време на почивка след интензивни упражнения [Christoph Lossin, Alfred L George Jr., 2008].

### **1.1.1.4.3 Диагноза и диференциална диагноза на вродените миотонии, всл. хлорни каналопатии**

Диагностицирането на вродена миотония изиска първоначално да се разпознаят характерните клинични симптоми. Фамилната анамнеза за миотония е полезна за разграничаване на болестта на Томсен от миотония тип Бекер в някои случаи, но не винаги. Истински автозомно-доминантният модел на унаследяване изключва диагнозата миотония тип Бекер, но липсата на миотония при родителите е с по-малка информативна стойност, тъй като заболяването може да се дължи на възникнала *de novo* мутация [Christoph Lossin, Alfred L George Jr., 2008].

За установяване на наличие или отсъствие на перкусионен миотоничен феномен се осъществява удар върху тенара или бедрото, което води до формиране на ясно забележима вдлъбнатина (перкусионна миотония). Липсата на тази характерна реакция обаче не изключва диагнозата, поради значителни вариации във фенотипното представяне (ден за ден, между индивиди, засегнати мускули и т.н.) [Christoph Lossin, Alfred L George Jr., 2008].

Обективни доказателства за миотония могат да бъдат установени с иглена електромиография. Миотонията се характеризира с повишена инсерционна активност и продължителни високочестотни разряди. Звуковата обратна връзка на миотонията по време на електромиографията е безпогрешна, наподобяваща звука, произведен от перка на пикиращи бомбардировачи. Продължителността на повтарящите се разряди корелира добре със забавената мускулна релаксация и представлява електрофизиологичният отличителен белег на заболяването [Manousakis G, Al-Lozi M и съавт., 2012].

При мускулни биопсии може да се видят не само леки, неспецифичени отклонения или никаква патология, но в някои случаи се установява липса на тип 2В влакна, което е докладвано при хлорните каналопатии [Monika Nojszewska, Anna Lusakowska и съавт., 2019].

Креатинфосфокиназата (КФК) при недистрофичните миотонии обикновено може да варира от нормална до умерено повишена ( $1-3 \times$  над нормата), но много високите стойности налагат провеждане на изследвания в насока откриване на други причини за мускулно увреждане [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

Диференциална диагноза: миотонията е находка при много заболявания, което води до диагностични затруднения. Наблюдава се при вродената парамитония, при влошаваща се от калий миотония (таблица 1), при миотонична дистрофия тип 1 – Болест

на Щайнерт и тип 2 - проксимална миотонична миопатия [ David J Coote , Mark R Davis и съавт., 2018].

Болестта на Томсен и другите недистрофични миотонии се различават от миотоничната дистрофия, поради липсата на системни характеристики и постоянна мускулна слабост. При болест на Щайнерт се наблюдават допълнителни системни оплаквания, включващи: челно оплешивяване, птоза, темпорална атрофия, сърдечни аритмии, дихателна слабост, ранна катаракта, стомашно-чревна или когнитивна дисфункция и прогресивна мускулна слабост [Heatwole CR, Statland JM и съавт., 2013].

Въпреки това, в някои случаи, особено при миотонична дистрофия тип 2, други системни характеристики може да отсъстват, а слабостта на скелетните мускули може да е дискретна или да отсъства. Специфични фенотипни характеристики на болестта на Томсен са лесни за тестване и установяване, но се изисква мутационен анализ, за да се достигне до окончателната диагноза. Болестта на Томсен обикновено се свързва с лек фенотип и следователно има относително минимален ефект върху начина на живот [ David J Coote , Mark R Davis и съавт., 2018].

Таблица 1. Диференциална диагноза между натриеви и хлорни каналопатии [Bas C. Stunnenberg , Samantha LoRusso и съавт., 2020].

| <b>Натриеви каналопатии</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <b>Хлорни каналопатии</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. По-ниска средна възраст при поява на симптомите (средно 5 години);</li> <li>2. Влошаване на сковаността след повтаряща се мускулна контракция;</li> <li>3. Наличие на болка;</li> <li>4. Наличие на скованост на лицето;</li> <li>5. Епизодична слабост;</li> <li>6. Влошаване на симптомите при ниски температури;</li> <li>7. Миотония на клепачите;</li> <li>8. Електрофизиологични находки-</li> <li>9. голяма продължителност (&gt;2 s), висока</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. По-висока средна възраст при начало на заболяването (средна 10 години);</li> <li>2. Намаляване на миотонията след</li> <li>3. повтаряща се мускулна контракции;</li> <li>4. Липса на болка;</li> <li>5. Наличие на скованост на краката;</li> <li>6. Преходна слабост в началото на</li> <li>7. движението;</li> <li>8. Перкусионна миотония;</li> <li>9. Кратка продължителност (&lt;1 s), ниска</li> <li>10. амплитуда (&lt;0,4 mV) на миотоничните</li> <li>11. потенциали със звук "пикиращ бомбардировач"</li> </ol> |

|                                                                                                                            |                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 10. амплитуда ( $>4$ mV) на миотоничните потенциали;<br>11. Интервал между отделните<br>12. миотонични потенциали $<30$ ms | 12. 8.Интервал между отделните<br>13. миотонични потенциали $>30$ ms |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|

## 1.1.2 Натриеви каналопатии

### 1.1.2.1 История

Периодичните парализи са известни в медицинската общност от почти 300 години. За първи път е описана хипокалиемичната периодична парализа от Мъсгрейв през 1727 г., след това от Каваре през 1853 г. [Sternberg D, Tabti N и съавт., 2006]. Първата мутация, причиняваща заболяването, е открита през 1994 г. в генът *CACNA1S* от Jurkat-Rott и съавт. [Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F и съавт., 1994]. Хиперкалиемичната периодична парализа е описана за първи път през 1951 г. от Tyler и съавт. [Tyler FH, Stephens FE и съавт., 1951]. Първоначално е наричана епизодична адинамия [Gamstorp I, 1953]. Терминът хиперкалиемична периодична парализа е въведен от Lehmann-Horn през 1993 г. [Lehmann-Horn F, Rudel R и съавт., 1993]. Мутираният ген, отговорен за хиперкалиемичната периодична парализа, е открит за първи път от Фонтейн и др. през 1990 г. [Fontaine B, Khurana TS и съавт., 1990].

Първият оригинален доклад за вродена парамииотония е публикуван от von Eulenburg през 1886 г. През 1991 г. мутираният ген, отговорен за вродената парамииотония, е картографиран към хромозома 17q34 [Ptacek LJ, George AL Jr и съавт., 1991]. Една година по-късно генетичният дефект, стоящ в основата на парамииотонията, е открит от Ptacek и др. [Ptacek LJ, George AL Jr и съавт., 1992].

### 1.1.2.2 Епидемиология

Общата честота на периодичните парализи се оценяват на 1:200 000–1:100 000 новородени [J Finsterer, 2008].

### 1.1.2.3 Етиология и патогенеза

Натриевият канал в скелетните мускули представлява хетеродимер на NaV1.4  $\alpha$  субединица [Trimmer JS, Cooperman SS и съавт., 1989] кодирана от *SCN4A* гена, разположен

в хромозома 17q23.1-25.3.6 [Isom LL, De Jongh KS и съавт., 1992] и  $\beta 1$  субединица, кодирана от *SCN1B* гена, разположен в хромозома 19q13.11. Мутациите свързани с  $\beta 1$  субединицата водят до развитието на епилепсия, атаксия и сърдечни аритмии, но не са свързани с патология на скелетната мускулатура [Calhoun JD, Isom LL, 2014]. Мускулният натриев канал, изграден от  $\alpha$ -субединица и  $\beta$ -субединица, е от съществено значение за генерирането на мускулни мембранни акционни потенциали.  $\alpha$ -субединицата (*SCN4A*) е гликопротеин с тегло 260-kDa, включващ 1800-2000 аминокиселини. Има четири хомоложни домена (DI-DIV), които образуват централна пора, всеки с 225–325 аминокиселини. Всеки домен се състои от шест хидрофобни трансмембранни сегмента (S1– S6). Четирите домена си сътрудничат при формирането на йонна пора.  $\alpha$ -субединицата е отговорна за повечето от свойствата на канала.  $\beta$ -субединицата има регулаторна роля [J Finsterer, 2008]. Натриевият канал се среща основно в скелетната мускулатура и не се открива в значителна степен в други тъкани. Той провежда по-голямата част от вътрешния поток на  $\text{Na}^+$ . Трябва да се отбележи, че мутациите в *SCN4A* гена могат да причинят фенотип, който варира от мускулна парализа до повишена мускулна възбудимост (миотония) [Stephen C Cannon, 2018].

Натриевият канал се открива в сарколемите на скелетните мускули. Каналите се активират бързо ( $<1$  ms) в отговор на деполяризация и провеждат вътрешния  $\text{Na}^+$  ток ( $\sim 5$  mA/cm<sup>2</sup>), което води до бързо генериране на акционен потенциал ( $dV/dt \sim 500$  mV/ms) [Caldwell JH, Campbell DT и съавт., 1986]. Плътността на канала е около 100 пъти по-висока в невро-мускулния синапс, което допринася за високия коефициент на безопасност на синаптичното предаване. Акционният потенциал на мускулните влакна се генерира благодарение на сигнали, произхождащи от мотоневроните, навлизащи в нервния терминал [Stephen C Cannon, 2018]. Функционалните последици от мутации в *NaV1.4*  $\alpha$  субединица, свързани с мускулни разстройства, са изследвани предимно чрез хетероложна експресия в клетъчни линии при бозайници [Cannon SC, McClatchey AI и съавт., 1993].

Всички натриеви каналопатии се дължат на мутации в *SCN4A* гена, водещи до увеличената му експресия, в резултат на което се увеличава активността на натриевите канали или се нарушава инактивирането на същите [Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K, 1999]. Посочените ефекти причиняват миотония и периодична слабост. Това е доказано за първи път чрез прилагане на вератридин - токсин, който стабилизира отвореното състояние на волтаж-зависимите натриеви канали през 1969 г., а по-късно чрез идентифициране на

устойчив тетратоксин (ТТХ)- който функционира като блокер на волтаж-зависимите натриеви канали в мускулите на пациенти с периодична парализа (ПП) и причинява температурно чувствителна миотония [Lehmann-Horn F, Rudel R, 1981]. Мутации, свързани с нарушено инактивиране на натриевите канали (водещи до персистиращи входящи натриеви токове), водят до изява на периодична парализа. Обратни- мутации, които водят до продължително активно състояние на натриевия канал, водят до по-малки персистиращи токове и причиняват само преходен дефект (напр. инактивиране, което е твърде бавно, но в крайна сметка пълно ще увеличи възбудимостта на влакната и ще доведе до миотония) [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

Моделът на унаследяване на натриевите каналопатии е автозомно -доминантен. Над 70 мутации на *SCN4A* гена са идентифицирани при пациенти с нарушения във функционирането на скелетната мускулатура. Малка подгрупа от миссенс мутации в *SCN4A* гена представляват по-голямата част от установените мутации при пациенти с миотония или периодична парализа [J Finsterer, 2008].

Молекулярно-генетичното потвърждение на мутации в гена *SCN4A*, отговорен за кодиране на  $\alpha$ - субединицата на натриевия канал на скелетните мускули, са съобщени за първи път при хиперкалиемичната периодична парализа през 1990 г. Молекулярно-генетичните изследвания са потвърдили патогенността на около 20 автозомно-доминантни, миссенс мутации в *SCN4A*, причиняващи конгенитална парамииотония или натриево-канална вродена миотония и по-малко от 10 автозомно- доминантни миссенс мутации, причиняващи хиперкалиемична периодична парализа [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

Установено е, че периодичните парализи са свързани с мутации в гени, кодиращи субединици на натриев, калциев или калиев канал. Мутациите в гена на мускулния натриев канал причиняват хиперкалиемична периодична парализа, част от случаите на хипокалиемична периодична парализа, вродена парамииотония и вроден миастенен синдром (ВМС). Мутациите в мускулния калциев канал причиняват хипокалиемична периодична парализа [J Finsterer, 2008].

Намалената възбудимост на скелетните мускули, произтичаща от дефекти на NaV1.4  $\alpha$  субединица, може да предизвика преходни пристъпи на слабост или хронично състояние на персистираща слабост. Най-честата проява е периодична парализа с рецидивирани епизоди на умерена до тежка слабост в резултат на продължителна

деполяризация, което инактивира натриевите канали и по този начин намалява възбудимостта на мускулните влакна. Пристъпите на слабост са чести и са предизвикани от фактори на околната среда като почивка, след интензивни упражнения, диета (гладуване, поглъщане на въглехидрати, високо съдържание на сол в храната) или емоционален стрес. Типичният епизод на слабост има постепенно начало в рамките на минути, продължава няколко часа до ден или повече, последвано от спонтанно възстановяване. Тежестта на пристъпа може да доведе до приковаване на пациента на легло, невъзможно е сядането и повдигане на крайник срещу гравитацията. Много пациенти с периодична парализа също развиват късна постоянна слабост, която започва около 40-годишна възраст и е с бавно прогресиращ ход [Stephen C Cannon, 2018].

#### **1.1.2.4 Класификация**

Групата на натриевите каналопatii включва: натриево-каналната вродена миотония, вродената парамиотония, засилваща се от калий миотония и хиперкалиемичната периодична парализа [Ibrahim Sahin, Naktan B Erdem и съавт., 2018].

##### **1.1.2.4.1 Хиперкалиемична периодична парализа**

Хиперкалиемичната периодична парализа е автозомно-доминантно заболяване, дължащо се най-често на две мутации- T704M или M1592V в *SCN4A* гена, установени при приблизително 50% от засегнатите лица [Tawil R, Venenace SL, 2007].

Клинично се характеризира с пристъпи на епизодична слабост и интермитентна миотония, продължаващи от няколко минути до 4 часа във връзка с леко повишаване на стойностите на серумния калий [Cannon SC, Brown RH Jr и съавт. 1991]. Слабостта се наблюдава не само в мускулите на крайниците, но може да обхваща и външните очни мускули, дъвкателните мускули или аксиалната мускулатура [Bradley WG, Taylor R и съавт., 1990]. Дихателните мускули са пощадени и не са характерни проявите на сърдечни аритмии. Обикновено пристъпите започват сутрин след събуждане и продължават между 15 и 60 минути, като изчезват след това. Продължителността им обикновено е по-кратка от тези при хипокалиемичната периодична парализа. Началото на заболяването е през първото десетилетие от живота. Първоначално пристъпите са редки, но с времето нарастват по честота и тежест до около 50-годишна възраст и след това намаляват отново [Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F, 2005]. Около половината от пациентите съобщават за наличието на мускулна скованост в междупристъпния период, която възниква най-често

след физическо натоварване. Миотонията засяга предилекционно мускулите на лицето, езика или ръцете. Интересното е, че пациентите без миотония са много по-склонни да развият миопатия или постоянна слабост, отколкото пациенти с наличен миотоничен феномен. При отделни пациенти слабостта е свързана с поява на парестезии. Дълбоките сухожилни рефлексии са отслабени или липсват по време на пристъпите. По-възрастните пациенти често развиват бавно прогресираща миопатия, която засяга мускулите на тазовия пояс и долните крайници. Психомоторното развитие е нормално. Продължителността на живота не е засегната [J Finsterer, 2008].

Серумните нива на калий могат да бъдат нормални или повишени по време на пристъпната слабост. В края на пристъпа може да възникне хипокалиемия поради принудително бъбречно елиминиране или вътреклетъчно обратно поемане, често погрешно тълкувано като хипокалиемична периодична парализа. Мускулните и серумните стойности на калий са нормални между пристъпите [J Finsterer, 2008].

Стойността на креатинкиназата може да бъде повишена в междупристъпния период [J Finsterer, 2008].

Миотоничен феномен при иглена електромиография (ЕМГ) се наблюдава при около 50% на засегнатите лица по време на пристъп.

С прогресиране на мускулното заболяване при мускулна биопсия може да се наблюдава дилатация, дегенерация или пролиферация на Т-тубулната система, което води до вакуолна миопатия [S Vicart, D Sternberg и съавт., 2005].

Рядко може да се наблюдава увеличение на амплитудата на Т-вълните при електрокардиографията по време на пристъп [J Finsterer, 2008].

Много от пристъпите са краткотрайни и не се нуждаят от лечение. Пристъпите на хиперкалиемичната периодична парализа могат да бъдат предотвратени с помощта на чести хранения с богати на въглехидрати храни, избягване на храни, с високо съдържание на калий (плодове и сокове) или калий-съхраняващи лекарства. Вдишването на салбутамол може да намали оплакванията [Ricker K, Camacho LM и съавт., 1989]. Интравенозен калциев глюконат има благоприятен ефект. Възможно е прилагането на тиазидни диуретици или Ацетазоламид, който представлява инхибитор на карбоанхидразата, и повлиява слабостта [Riggs JE, Griggs RC, Moxley RT, 1977]. Възможно е наблюдаване на периодична парализа с нормална концентрация на калий в серума [J Finsterer, 2008].

#### **1.1.2.4.2 Вродена парамииотония**

Вродената парамииотония е автозомно-доминантно заболяване, дължащо се на мутации в *SCN4A* гена.

Клинично се характеризира с възникване на продължителна парадоксална миотония (мускулната скованост се появява след многократни мускулни съкращения) и слабост, засилващи се от ниски температури. Най-често засегнати са клепачите, мускулите на шията или тези на горните крайници. Наблюдава се затруднение при отваряне на очи след многократно силно затваряне. В повечето случаи сковаността отстъпва на слабостта при интензивни упражнения или охлаждане [S Vicart, D Sternberg и съавт., 2005]. Продължителността на миотонията и слабостта варират от минути до часове. Обикновено парамииотонията не се предизвиква или влошава от приложението на калий [J Finsterer., 2008].

При охлаждане на ЕМГ се открива дълъг миотоничен разряд. Електрическа миотония може да липсва при нормална температура [Davies NP, Eunson LH и съавт., 2000].

Стойността на серумния калий е умерено повишена [Borg K, Novmoller M и съавт., 1993].

Креатинкиназата обикновено също е повишена [Borg K, Novmoller M и съавт., 1993].

Провокиращи фактори за парамииотония са студен вятър, сладолед, студена вода [Samaha FJ, 1964].

Терапията на вродената парамииотония се основава на избягване на физическа свръхактивност и излагане на студ. Мексилитен е ефективен само срещу миотония, но не и срещу слабостта [Heatwole CR, Moxley RT, 2007]. В проучване на шест поколения френско-канадско семейство, Хлортиазидът е показал изключителна полза по отношение на оплакванията, свързани със заболяването [Samaha FJ, 1964]. Някои пациенти имат добър ефект от Ацетазоламид по отношение на слабостта [Finsterer J, 2003].

#### **1.1.2.4.3 Натриево-канална миотония**

Миотоничните синдроми, свързани с мутации в *SCN4A* гена включват освен вродена парамииотония, също така и натриево-канална миотония. Натриево-каналната миотония се разделя на флукутираща миотония (MF), перманентна миотония (MP) и повлияваща се от Ацетазоламид миотония [S Vicart, D Sternberg и съавт., 2005].

Началото на симптомите при пациенти с натриево-канална миотония обикновено е през първото десетилетие и има по-ниска средна възраст на поява на оплакванията в сравнение с миотонията при хлорните каналопатии [Trivedi JR, Bundy B и съавт., 2013]. Най-

често срещан симптом е миотонията. Мускулната скованост на крайниците е по-честа при хлорните каналопатии, а сковаността на лицевата мускулатура е по-честа при натриевите каналопатии. Подобряването на мускулната скованост с повторение на движенията, известно като феномен на загряване, класически се наблюдава и при натриевите и при хлорните каналопатии. Други фактори, които засилват сковаността на мускулите, са: бременност или менструация, калий (главно при натрий-зависимите миотонии), глад и емоционален стрес [Matthews E, Tan SV и съавт., 2008]. В допълнение към мускулната скованост, други често срещани симптоми включват слабост, болка и умора. Епизодична мускулна слабост често предизвикана от студ или физическо натоварване може да възникне при мутации в *SCN4A* гена и обикновено продължава секунди до минути, но може да продължи до 2 дни. Обратно, пациентите с генерализирана миотония на Бекер, често описват слабост, продължаваща само няколко секунди, особено при инициация на движението („преходна пареза“) [Phillips L, Trivedi JR, 2018].

Детските прояви на недистрофичните миотонии са по-разнообразни от тези при възрастни, особено при деца с миотония, обусловена от мутация в *SCN4A*- гена и включват оплаквания като: миотония на клепачите, двойно или замъглено виждане, страбизъм, стридор или епизоди на диспнея. В допълнение, новородените с натриево-канална миотония са изложени на риск от животозастрашаващи усложнения, дължащи се на тежък неонатален епизодичен ларингоспазм, който обикновено се проявява с хипертония и причинява стридор и апнея [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020].

Натриево-каналните миотонии се определят като непрогресиращи заболявания, но при голяма част от пациентите се наблюдава умерено влошаване на симптомите с годините [Trip J, Drost G и съавт., 2009].

Алгоритъмът за диагностициране, диференциално диагностичният спектър и терапията са идентични на тези при хлорните каналопатии.

#### **1.1.2.4.4 Калциева каналопатия- хипокалиемична периодична парализа**

Генетичната находка, откриваща се при хипокалиемичната периодична парализа е хетерогенна, като 60% от семействата имат миссенс мутация в гена, кодиращ калциевия канал на скелетните мускули (CaV1.1 кодиран от *CACNA1S* гена) и 20% имат миссенс мутация в *SCN4A* гена, кодиращ NaV1.4. а субединица. Всички 12 мутации в гена за

NaV1.4 а субединица и 8 от 9 мутации засягащи функционирането на калциевите канали са миссенс замествания в аргининови остатъци в S4 сегменти от домените на рецептора за напрежение [ [Stephen C Cannon, 2018](#)].

Две мутации в *CACNA1S* ген, R528H и R1239H, са отговорни за повечето случаи на хипокалиемична периодична парализа. Пациентите, носещи R1239H мутацията, имат по-ранно начало от пациентите с мутация R528H. Пенетрантността обикновено е по-ниска при жените отколкото при мъжете. Началото на заболяването е по-късно при пациенти с мутация в *SCN4A* гена в сравнение с мутация в *CACNA1S* гена [ [J Finsterer, 2008](#)].

Човешкият калциев канал CACNL1A3 [дихидропиридинов рецептор] е комплекс, изграден от пет субединици (α1, α2, β, γ или δ). CACNA1A е разположен основно в мембраната на напречните тубули в мускулните клетки. Те участват в провеждането на възбуждане към мембраната на саркоплазмения ретикулум и служат като сензор за напрежение чрез връзката му с рианодиновия рецептор на саркоплазмения ретикулум, който функционира като канал за освобождаване на калций. Всички промени в мембранный потенциал са свързани с освобождаване на вътреклетъчния калций, позволяващ преходът от възбуждане към мускулна контракция [ [J Finsterer, 2008](#)].

Клинично се проявява с повтарящи се епизоди на мускулна слабост във връзка с установена ниска концентрация на серумния K<sup>+</sup> (<3,0 mM). Пристъпите на слабост при хипокалиемичната периодична парализа често се предизвикват от намаляване нивото на извънклетъчния K<sup>+</sup>, най-често като последица от концентрирано орално натоварване с въглехидрати (което измества глюкозата и K<sup>+</sup> в мускулните клетки) или загуба на K<sup>+</sup> при повръщане и диария. Миотония не се среща при хипокалиемичната периодична парализа.

Продължителността на пристъпите при хипокалиемичната периодична парализа е няколко часа до няколко дни. Най-често епизодичната слабост възниква сутрин след ставане от сън или по време на или след усилено физическо натоварване [ [S Vicart, D Sternberg и съавт., 2005](#)]. Началото на пристъпите е обикновено в детството (1-20 години). Някои пациенти имат само един пристъп през живота си, но други пациенти могат да изпитват ежедневно такива, протичащи със силно изразена мускулна слабост, локализирана предимно в мускулатурата на крайниците. Честотата на пристъпите е най-висока между 15 и 35-годишна възраст и намалява след 35-годишна възраст. Очните, булбарните и дихателните мускули обикновено са пощадени. Противно на хиперкалиемичната периодична парализа, пристъпите протичат по-тежко, продължават по-дълго, не могат да бъдат предизвикани от прилагане на калий. При хипокалиемичната

периодична парализа прилагането на калий облекчава симптомите. В зависимост от мутацията може да се наблюдава бавна прогресия на заболяването и постепенно да се развие постоянна проксимална слабост, срещана при приблизително 25% от пациентите в хода на протичане на заболяването. При отделни пациенти заболяването може да доведе до постоянна мускулна слабост и тежко мускулно увреждане. Слабостта засяга предимно долните крайници и трябва да бъде разграничена от обратимата слабост в междупристъпния период. Някои хора изпитват подостра слабост между пристъпите, която може да отшуми при прилагане на калий или Ацетазоламид. Тежестта на слабостта и миотонията намаляват с възрастта [J Finsterer, 2008].

Стойността на серумния калий обикновено е понижена по време на пристъпа, но може да е нормална в отделни случаи. Няма корелация между нивото на калий и тежест на слабостта [Sternberg D, Tabti N и съавт., 2006].

Креатинкиназата се повишава по време на пристъпа [Ikeda K, Iwasaki Y и съавт., 2002].

При мускулна биопсия може да се наблюдават централни вакуоли, повишена вариация в размера на мускулните влакна, тубулни агрегати, наблюдавани при светлинна микроскопия [Sternberg D, Maisonnobe T и съавт., 2001].

При електрокардиография може да се наблюдава синусова брадикардия или данни за хипокалиемия като например депресия на ST-сегмента [J Finsterer., 2008].

При ЕМГ скоростта на провеждане на мускулните влакна е намалена между пристъпите [J Finsterer., 2008].

В диференциално диагностичен план на хипер- и хипокалиемичната периодична парализа се обсъждат (таблица 2):

Таблица 2. Диференциална диагноза на периодичните парализи [J Finsterer, 2008].

|                                                           |
|-----------------------------------------------------------|
| Прием на лекарства (Амфотерицин В, токолитици и Теофилин) |
| Тиреотоксикоза                                            |
| Отравяне с барий                                          |
| Диуретици                                                 |
| Първичен или вторичен хипералдостеронизъм                 |
| Псевдохипералдостеронизъм (поглъщане на женско биле)      |
| Синдром на Кон                                            |
| Синдром на Бартерс                                        |
| Синдром на Гителман                                       |
| Бъбречна тубулна ацидоза                                  |

|                             |
|-----------------------------|
| Нефротичен синдром          |
| Остра тубулна некроза       |
| Диабетна кетоацидоза        |
| Утеросигмоидостомия         |
| Синдром на Liddle           |
| Цьолиакия                   |
| Тропически спру             |
| Тежка инфекциозна диария    |
| Синдром на късото черво     |
| Повръщане                   |
| Диабетна ацидоза            |
| Недостатъчен прием на калий |

Терапия при хипокалиемичната периодична парализа: орален прием на калиеви препарати е за предпочитане пред интравенозното приложение. Карбоанхидразните инхибитори, по-специално Дихлорфенамид или Ацетазоламид, многократно са доказали своята ефективност [Venance SL, Jurkat-Rott и съавт., 2004]. Има обаче и доклади, които показват, че Ацетазоламидът влошава пристъпите, тъй като потенцира усвояването на калий в мускулните клетки, особено при пациенти със захарен диабет [Ikeda K, Iwasaki Y и съавт., 2002]. За предотвратяване появата на пристъпите се спазва диета с ниско съдържание на натрий и въглехидрати, но богата на калий храна [J Finsterer., 2008].

### 1.1.2.5 Лечение на вродените миотонии

Терапия: За вродените миотонии е налична симптоматична терапия, която се прилага предимно при тежките случаи. Няма генна терапия за заболяването. Следователно резултатът от генетичния тест не е от съществено значение за провежданото лечение. Терапията с най-добър документиран резултат е с Мексилетин [Heatwole CR, Statland JM и съавт., 2013].

Мексилетин е антиаритмично средство от клас IB, което въздейства на бързото инактивиране на натриевите канали. В момента има най-много доказателства за ефективността му при лечението на недистрофичните миотонии [Stunnenberg BC, LoRusso S и съавт., 2020]. Две независими, рандомизирани, плацебо-контролирани проучвания показват, че Мексилетинът е ефективен за намаляване на миотонията [Stunnenberg BC,

Raaphorst J и съавт., 2018]. В допълнение към Мексилетин, Ламотрижин също е ефективен за намаляване на докладваните от пациентите оплаквания от мускулна стегнатост и за подобряване качеството им на живот, което също е установено в едно рандомизирано, плацебо-контролирано проучване [Andersen G, Nedermann Gn и съавт. 2017].

Единственото широкомащабно плацебо-контролирано клинично изпитване, отчитащо ползите на Мексилетин, не прави разлика при повлияване на миотонията между хлорните и натриевите каналопатии [Statland JM, Bundy BN и съавт., 2012].

Други лекарства, които се използват за терапията на вродените миотонии (таблица 3) са: блокери на натриевия канал, антиепилептични средства, антидепресанти, диуретици и Таурин, които не са били подкрепени от достатъчно качествени клинични изпитвания за оценка на ефикасност или безопасност [Миланов И., Търнев И., Чамова Т., Национален консенсус за диагностика и профилактика на НМЗ, 2019][Trip J, Drost G и съавт., 2006].

Общите анестетици трябва да се прилагат с повишено внимание, при пациенти с вродени миотонии, особено на деполяризиращи мускулни релаксанти като Суксаметоний, поради повишен риск от възникване на малигнена хипертермия и генерализирани мускулни спазми, затрудняващи интубацията [Parness J, Bandschapp O и съавт., 2009].

Възможно е пренатално изследване при *CLCN1* мутации, но не е обичайно, поради сравнително лекия фенотип на заболяването и добрата прогноза [David J Coote, Mark R Davis и съавт., 2018].

Таблица 3. Терапевтични възможности при вродените миотонии [Bas C. Stunnenbrg, Samantha LoRuso и съавт., 2020].

| Лекарство            | Ниво на проучване                                            | Регулаторно одобрение                                                         | Доза                                                                                      | Странични ефекти                                                                                         | Мониторинг                                                           | Други съображения                                                                                                                    |
|----------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mexiletine</b>    | Двойно-сляпо, плацебо-контролирано, рандомизирани проучвания | Одобрено от ЕМА като лекарство сирак, предназначено за недистрофични миотонии | Начала доза 150 mg с два пъти дневно титриране до 200 mg, понякога 300 mg три пъти дневно | стомашно-чревен дискомфорт, замаяност, тремор, атаксия                                                   | ЕКГ, ПКК, Чернодробни ензими                                         | При наличие на отклонения в ЕКГ или анамнеза за аритмия е необходима кардиологична консултация                                       |
| <b>Lamotrigine</b>   | Двойно-сляпо, плацебо-контролирано, рандомизирано проучване  | Няма                                                                          | Започнете 25 mg дневно с бавно титриране до 300mg дневно                                  | Кожен обрив, главоболие                                                                                  | Серумна урея и креатинин, чернодробни ензими                         |                                                                                                                                      |
| <b>Acetazolamide</b> | Нерандомизирано отворено проучване                           | Няма                                                                          | 125 mg два пъти дневно с титриране до 250 mg 3 пъти дневно                                | Нефролитиаза, парестезии, обрив, агранулоцитоза, електролитни нарушения, стомашно-чревен тракт нарушения | Метаболитни панел (Na, K, CO <sub>2</sub> ), ПКК, чернодробни ензими | Ехография на бъбреци при повишен риск от нефролитиаза                                                                                |
| <b>Ranolazine</b>    | Нерандомизирани отворени проучвания                          | Няма                                                                          | Начална доза 500mg. Два пъти дневно с титриране до 1000mg. Два пъти дневно                | Констипация, световъртеж, главоболие                                                                     | ЕКГ, урея/креатинин при бъбречно увреждане                           | Да не се използва със симвастатин >20 mg. Доза до 500 mg с едновременни използване на СYP3A4 инхибитори (напр. дилтиазем, верапамил) |

## 1.2. Вродени миастении

### 1.2.1 История

През 1970 г. Ламбер Итън за първи път въвежда термина миастенен синдром въз основа на наличните по това време данни за автоимунната основа на Миастения гравис. Проучването на вродените миастенни синдроми (ВМС) придобива допълнителен тласък в началото на 1990 г., когато Сангер поставя началото на секвенирането, като метод за идентифициране на гени, кодиращи протеини, свързани с невро-мускулното предаване [Andrew G Engel, Xin-Ming Shen и съавт., 2015].

Първият случай на пациент с ВМС е докладван през 1977г. от Енгел и съавт. Първата мутация, свързана с развитието на ВМС, е установена в *CHRNE* гена от Гомез и съавт. през 1995 г. Първият молекулярно-генетичен дефект, засягащ структури от пресинаптичната група и причиняващ вроден миастенен синдром, е докладван от Охно през 2001 г. [Josef Finsterer, 2019]. ВМС, причинен от дефицит на ацетилхолинестераза, е описан за първи път през 1977 г. Мутации в *RAPSN* гена, водещи до развитието на ВМС, са описани за първи път през 2002г. [Daniel Hantaï, Pascale Richard, 2004]. ВМС са идентифицирани чрез комбинирани клинични, електрофизиологични и структурни изследвания [David Beeson, 2016].

От 2011 г. благодарение на възможностите за цялостно екзомно секвениране се ускори откриването на нови ВМС и към днешна дата са идентифицирани повече от 32 гена, мутации в които са причина за развитие на заболяването [Andrew G Engel, Xin-Ming Shen и съавт., 2015].

### 1.2.2. Епидемиология

По отношение на честотата на разпространение на ВМС има само ограничени данни, тъй като повечето от текущата информация е получена от съобщения за изолирани случаи. Според скорошен преглед разпространението на ВМС се оценява като 1/10 от тази на Миастения гравис, която е с честота 25–125/1 000 000 в световен мащаб. В скорошно проучване за честотата на автоимунната миастения и вродените миастенни синдроми при пациенти под 18-годишна възраст, проведени във Великобритания като честота на ВМС е посочена 9,2/1 000 000, но варира значително между регионите от 2,8 до 14,8/1 000 000. Разпространението на ВМС се оценява като 1 на 500 000 в Европа [Daniel Hantaï, Pascale Richard и съавт., 2004]. В бразилския щат Парана разпространението

на ВМС е оценено като 0,18/100 000. Най-вероятно тези цифри за разпространение са подценени, защото ВМС може да остане недиагностициран, ако не се открие от многото диференциални диагнози или ако се проявява с леки симптоми. В няколко региона по света е открито преобладаване на определени мутации, причиняващи заболяването [Josef Finsterer, 2020].

### 1.2.3 Етиология и патогенеза

Вродените миастенни синдроми (ВМС) са група от наследствени заболявания, при които е нарушено нервно-мускулното предаване. Причиняват се от мутации в гени, които кодират протеини, участващи в невромускулния синапс (NMJ) и водещи до дефектно невромускулно предаване [Асенова А., Докторска дисертация, 2018] [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

До настоящия момент са установени общо 35 гена (таблица 4), мутации в които водят до развитие на вродени миастенни синдроми [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

Таблица 4. Гени, мутации в които са отговорни за ВМС [Josef Finsterer, 2020].

| <b>Пресинаптични</b>    | <b>Синаптични</b> | <b>Постсинаптични</b>       | <b>Дефекти в гликозилирането</b> |
|-------------------------|-------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| <i>SLC5A7, CHAT,</i>    | <i>COLQ,</i>      | <i>CHRNA1, CHRNB1,</i>      | <i>GFPT1,</i>                    |
| <i>SLC18A3, SNAP25,</i> | <i>LAMB2,</i>     | <i>CHRND, CHRNE,</i>        | <i>GMPPB,</i>                    |
| <i>VAMP1, SYBI,</i>     | <i>LAMA5,</i>     | <i>CHRNK, FCCMS,</i>        | <i>ALG2,</i>                     |
| <i>SYT2, UNC13A</i>     | <i>COL13A1</i>    | <i>SCCMS, DOK7, MUSK,</i>   | <i>ALG14,</i>                    |
|                         |                   | <i>MYO9A, AGRN, LRP4,</i>   | <i>DPAGTI.</i>                   |
|                         |                   | <i>PREPL, SCN4A, RAPSN,</i> |                                  |
|                         |                   | <i>PLEC1, SLC25A1</i>       |                                  |

Честотно разпределение на мутациите в гените според локализацията на протеините, които кодират:

1. В пресинаптичната област - 5,6 % от общия брой;
2. В синаптичното пространство - 12,9%,

3. В постсинаптичната област - 51,4%,
4. Едновременно в пре- и постсинаптичните региони - 12,5%.

Освен това всички чисто постсинаптични ВМС, с изключение на тези, дължащи се на дефект в плектина или в постсинаптичния волтаж-зависим натриев канал, са причинени от мутации в гени, кодиращи ацетилхолиновите рецептори (AChR) [Andrew G Engel, 2018].

Най-честите мутации, причиняващи развитието на ВМС, са както следва:

1. В *CHRNA1* гена -30–50% от случаите на ВМС;
2. В *RAPSN* гена- 15–20%;
3. В *COLQ* и *DOK7* гените- 10–15%;
4. В *CHAT* гена 4–5%;
5. В *GFPT1* гена - 2%.

Около 75% от случаите на ВМС се дължат на мутации в гени, които кодират различни субединици на ацетилхолиновия рецептор (*CHRNA1*, *CHRNA1*, *CHRNA1*, *CHRNA1*) [Гергелчева В., Търнев И., 2007] или протеини, отговорни за поддържане на структурата или функцията на невромускулната връзка, като *MUSK*, *RAPSN* или *DOK7* [Josef Finsterer, 2019].

Сред ромите в Югоизточна Европа има повишена честота на вариант с.1327delG в гена *CHRNA1* [Karcagi V., Tournev I., Guergueltcheva V. и съавт., 2001] [Tournev I., Thomas Voit и съавт., 2000]. По същия начин увеличеното разпространение на вариант с.1353dupG в гена *CHRNA1* е докладван в Алжир и Тунис. В Испания и Португалия вариантът *CHRNA1*-с.130dupC е преобладаващ. Свързаният с *CHRNA1* гена ВМС обикновено се смята като най-често срещаният вариант. В Западна и Централна Европа мутациите в *RAPSN* гена-с.264C > A и *DOK7* - с.1124\_1172dupTGCC са най-разпространени [Josef Finsterer, 2019].

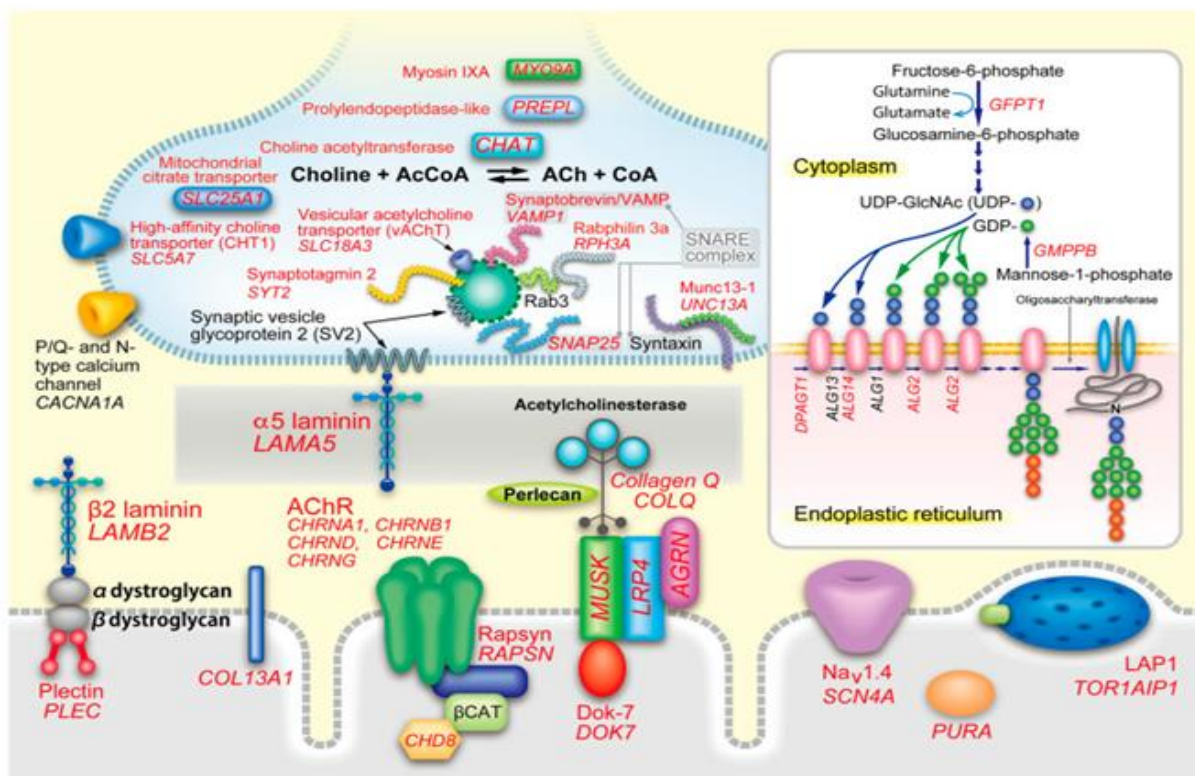
За да се разберат патогенетичните механизми на ВМС е от съществено значение да се разбере физиологията на сигналната трансдукция в невромускулната връзка.

Акционният потенциал генериран в мотоневрона, локализиран в гръбначния мозък, достига до пресинаптичния терминал и активира P/Q-тип калциев канал (*CACNA1A*). Калциевите йони се свързват с два C2B домена на синаптотегмин 2 (SYT2) и активират комплекса SNARE, за да се слоят синаптичните везикули, съдържащи ацетилхолин (ACh), към пресинаптичната мембрана [Desai R.C., Vyas B. и съавт., 2000]. След това ацетилхолинът се освобождава в 70-nm синаптичното пространство. Ацетилхолинът,

освободен от нервния терминал, се хидролизира от ацетилхолинестераза (AChE) в синаптичното пространство. Нехидролизираният ACh се свързва с ацетилхолиновия рецептор (AChR), за да активира натриев йонен канал. ACh, отделен от AChR, се хидролизира до холин от AChE. Генерираният холин в синаптичното пространство се поема от холинов транспортер с висок афинитет (ChT, SLC5A7), локализиран в мембраната на нервния терминал [Apparsundaram S., Ferguson S.M. и съавт., 2000]. Холин ацетилтрансферазата (ChAT, CHAT) генерира ACh от поетия холин и ацетил-CoA. Вакуолната протонна АТФ-аза, вградена в синаптичната везикула, генерира протонен градиент, който задвижва включването на ACh в синаптичната везикула чрез везикулен ацетилхолинов транспортер (vAChT, SLC18A3) [Erickson J.D., Varoqui H и съавт., 1994].

AChR при възрастни индивиди се състои от субединиците  $\alpha 1$  (CHRNA1),  $\beta 1$  (CHRNA1),  $\delta$  (CHRND) и  $\epsilon$  (CHRNE) (фигура 2). Две  $\alpha 1$  субединици и всяка от  $\beta 1$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$  субединици изграждат пентамерен AChR ( $\alpha 1_2\beta 1\delta\epsilon$ ). AChR субединици имат четири трансмембранни домена (M1, M2, M3 и M4). Техните N- и C-краища са от извънклетъчната страна. N-терминалните области на AChR субединици формират голям извънклетъчен комплекс. ACh се свързва с рецептора в участъците между  $\alpha 1$ – $\epsilon$  субединици и  $\alpha 1$ – $\delta$  субединици [Milone M., Wang H.L и съавт., 1998].

Деполаризацията, предизвикана от отварянето на волтаж-зависим натриев канал на скелетните мускули, (NaV1.4, SCN4A) води до генериране на акционен потенциал в скелетно-мускулните клетки. Акционният потенциал се насочва към Т тубулите, където деполаризацията се осъществява от L-тип калциев канал (CaV1.1, CACNA1S), който представлява дихидропиридинов рецептор (DHPR). DHPR е свързан с рианидинов рецептор (RyR, RYR1), а RyR освобождава  $\text{Ca}^{2+}$  от саркоплазмения ретикулум (SR). Саркоплазменият  $\text{Ca}^{2+}$  се свързва с тропонина и измества тропомиозина, което води до съкращение на мускулните влакна. [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023]



Фигура 2. Тридесет и пет гена, причиняващи ВМС [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara, 2023].

## 1.2.4 Класификация

Първоначално ВМС са класифицирани според местоположението на дефектния протеин, който е предпоставка за развитието на заболяването. Въз основа на този критерий се разделят на пресинаптични, синаптично-асоциирани с базалната ламина и постсинаптични [Andrew G Engel, Xin-Ming Shen и съавт., 2015].

По-късно ВМС се класифицира на базата на разнообразни критерии [Josef Finsterer, 2019] :

1. Според начина на унаследяване ВМС се разделят на:
  - 1.1 автозомно доминантни (АД);
  - 1.2 автозомно рецесивни (АР);
  - 1.3 с възможност и за АД и АР унаследяване;
  - 1.4 de novo възникващи мутации;
2. Според патогенния протеин, който причинява заболяването- разграничат се 35 различни типа ВМС;
3. Според наличие на дефекти в гликозилирането;

4. Според функцията на патогенния протеин- напр. ензим, структурен протеин, протеин участващ в изграждането на йонните пори;
5. Според типа на мутацията;
6. Според динамиката на заболяването във времето:
  - 6.1 Прогресивни;
  - 6.2 Флуктуиращи;
  - 6.3 Регресивни.

Повечето пациенти с BMC показват автозомно рецесивен тип на унаследяване с установени двувалелни патогенни варианти. Автозомно доминантно унаследяване или *de novo* хемизалелен патогенен вариант се наблюдава при BMC с бавен канал (SCCMS), SNAP25-BMC, PURA-BMC и 4 от 11 пациенти със SYT2-BMC, SYT2-BMC, SNAP25-BMC, VAMP1-BMC, UNC13A-BMC, RPH3A-BMC и LAMA5-BMC [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

35-те гена могат да бъдат класифицирани в 14 групи (таблица 5) според патогенетичните, клиничните и терапевтичните характеристики на вродените миастенни синдроми, които причиняват. Клиничните и електрофизиологичните данни не са достатъчни за идентифициране на генетичния дефект и винаги е необходимо провеждането на генетични изследвания за поставяне на точна диагноза.

Таблица 5. Класификация на 35-те гена, според патогенетичните, клиничните и терапевтичните характеристики на BMC, които причиняват [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Дефицит на ацетилхолинови рецептори в невромускулния синапс ( <i>CHRNA1</i> , <i>CHRNB1</i> , <i>CHRND</i> , <i>CHRNE</i> и <i>RAPSN</i> )                                                                                                                                                                                                                |
| 2. Вариант на Ескобар при множествен птериgium синдром (EVMPS, синдром на Escobar) ( <i>CHRNA1</i> , <i>CHRNB1</i> , <i>CHRND</i> , <i>CHRNE</i> и <i>RAPSN</i> ) и смъртоносна форма на синдром на множествен птериgium (LMPS) ( <i>FADS</i> ) ( <i>CHRNA1</i> , <i>CHRNB1</i> , <i>CHRND</i> , <i>MUSK</i> , <i>RAPSN</i> , <i>DOK7</i> и <i>SLC18A3</i> ) |
| 3. BMC със синдром на бавен канал (SCCMS) и BMC със синдром на бърз канал (FCCMS) ( <i>CHRNA1</i> , <i>CHRNB1</i> , <i>CHRND</i> и <i>CHRNE</i> )                                                                                                                                                                                                            |
| 4. Синаптични BMC ( <i>COLQ</i> , <i>LAMB2</i> , and <i>COL13A1</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 5. Натриево-канални BMC ( <i>SCN4A</i> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

|                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6. Дефектно клъстериране на ацетилхолиновия рецептор ( <i>AGRN</i> , <i>LRP4</i> , <i>MUSK</i> и <i>DOK7</i> )                                           |
| 7. BMC, причинен от дефектна структурна молекула в невро-мускулната връзка ( <i>PLEC</i> )                                                               |
| 8. BMC, причинен от дефектно метаболизиране на ACh ( <i>CHAT</i> , <i>SLC18A3</i> , <i>SLC5A7</i> и <i>PREPL</i> )                                       |
| 9. BMC с характеристиката на синдрома Lambert-Eaton (LEMS), ( <i>SYT2</i> , <i>SNAP25</i> , <i>VAMP1</i> , <i>UNC13A</i> , <i>RPH3A</i> и <i>LAMA5</i> ) |
| 10. BMC, резултат от дефект в гликозилирането ( <i>GFPT1</i> , <i>DPAGT1</i> , <i>ALG2</i> , <i>ALG14</i> , <i>GMPPB</i> )                               |
| 11. BMC, причинен от дефектно образуване на нервен терминал ( <i>MYO9A</i> и <i>SLC25A1</i> )                                                            |
| 12. CMS, причинен от дефектен протеин на ядрената мембрана ( <i>TOR1AIP1</i> )                                                                           |
| 13. MC, причинена от дефектен протеин отговорен за ремоделиране на хроматин ( <i>CHD8</i> )                                                              |
| 14. BMC при PURA синдром ( <i>PURA</i> )                                                                                                                 |

Фенотипно BMC се проявяват с повишена уморяемост и преходна или постоянна слабост на очните, [Черникова С., Дисертация за присъждане на научната степен "Доктор на медицинските науки", 2008] лицевите, булбарните, респираторните мускули, мускулите на крайниците и аксиалната мускулатура [Tounevi I., 2016][Stanley Jones P Iyadurai, 2020].

Симптомите често присъстват от раждането или се появяват в ранна детска възраст, въпреки че по-рядко могат да се развият в юношеска или зряла възраст [Stanley Jones P Iyadurai, 2020]. Повечето пациенти с BMC развиват симптоми на заболяването преди навършване на 2 години, но при някои пациенти симптомите се развиват веднага след раждането, временно изчезват след това до юношеството или зрелостта, след което се появяват отново. Някои пациенти с CHAT-BMC, LAMB2-BMC, SLC5A7-BMC, SNAP25-BMC, UNC13A-BMC, DPAGT1-BMC, ALG2-BMC, MYO9A-BMC, SLC25A1-

ВМС и PURA-ВМС показват забавяне в невропсихичното развитие. Това може да бъде причинено от дефектна холинергична невротрансмисия в централната нервна система (ЦНС) или хипоксично увреждане на мозъка, дължащо се на повтарящи се пристъпи на апноични паузи, но точните механизми остават неизяснени. Епизодична апнея често се съобщава при CHAT-ВМС, COLQ-ВМС и SCN4A-ВМС, но се наблюдава и при други групи. Братя и сестри на пациенти с ВМС с епизодична апнея в някои случаи умират с поставена диагноза: Синдром на внезапна детска смърт (SIDS)] [Mannikko R., Wong L и съавт., 2018]. При тези пациенти е необходим непрекъснат мониторинг на дихателната функция [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

При кърмачета симптомите включват слаб плач и затруднено сучене, птоза, слабост на лицевата мускулатура, дихателна недостатъчност, апнея, цианоза, стридор и внезапна детска смърт. По-късно в детството, прогресията на оплакванията може да се забави. При тях мускулната слабост е причина за флукутираща птоза и затруднено бягане, изкачване на стълби и скачане. Сърдечният и гладките мускули не са ангажирани. Когнитивната функция е нормална при повечето пациенти [Emma Ciafaloni, 2019].

За разлика от Миастения гравис дневните флукутации на мускулната сила, мускулната умора, външната офталмоплегия и диплопия, не винаги са налице. При някои пациенти липсва очни симптоми и заболяването се определя като ВМС на крайниците [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

Клиничната тежест на заболяването варира значително между лека, преходна слабост и постоянна слабост, дихателна недостатъчност и преждевременна смърт. Рядко се наблюдава допълнителна патология като лицев дизморфизъм, невропатия или епилепсия [Josef Finsterer, 2020].

Някои находки са специфични за определени форми на ВМС: сколиоза и забавен зеничен рефлекс на светлина са характерни за мутации в *ColQ* гена. Селективна тежка слабост на цервикалните мускули, на китката и на екстензорите на пръстите се наблюдават при мутации в *ColQ* гена и при синдром на бавния канал. Липса на засягане на очните мускули при мутации в *ColQ* гена, синдром на бавния канал и при мутации в *CHAT* гена [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018].

#### **1.2.4.1 Мутации в *CHAT* гена**

ChAT е ензим в пресинаптичния терминал на невромускулния синапс, който катализира синтеза на ацетилхолин. Мутациите в *CHAT* гена водят до дефицит на холин

ацетилтрансфераза като резултат на нарушен синтез. Идентифицираните мутации могат да променят кинетични свойства или структурната стабилност на ензима (ChAT) [Andrew G Engel, 2018].

Намалената ензимната активност на ChAT на 30-50% води до възникване на ВМС, докато ChAT активности под 30% са летални, а активност повече от 50% води до асимптоматични случаи на ВМС [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

Клиничният спектър на пациентите с дефицит на ChAT варира значително. Някои пациенти са тежко засегнати, с начало на заболяването от самото раждането, проявяващо се с епизодична тежка апнея, булбарна слабост и постоянна нужда от изкуствена белодробна вентилация. В други случаи са налице лека фиксирана слабост и случайни, но понякога тежки епизоди на апнея. При някои инфантилни форми може да се наблюдава мускулна слабост, постепенно прогресираща до необходимост от използване на инвалидна количка за придвижване в детска възраст. Някои от пациентите имат лека клинична картина с минимални или никакви респираторни симптоми и проксимални мускулна слабост [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018]. Епизодичната апнея често се диагностицира погрешно като епилепсия. Наблюдава се при други форми на ВМС, тоест не е уникална за CHAT-ВМС [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

Пациентите отчитат подобрене на оплакванията след приложение на инхибитори на ацетилхолинестеразата - пиридостигмин, но тези с тежка клинична картина остават зависими от изкуствена вентилация. При тях персистират генерализирана хипотония и ограничение на активните движения, които започват от самото раждане. Повтарящите се епизоди на апнея са причина за възникване на церебрална атрофия в част от случаите [Andrew G Engel, 2018]. Слабостта и апнеята могат да се предизвикат или влошат от ниска температура, което не се наблюдава при други миастенни синдроми [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018].

#### **1.2.4.2 Мутации в *SNAP25B* гена**

SNAP25B е един от трите основни SNARE протеина, отговорни за инициране на екзоцитозата на синаптичните везикули, съдържащи ацетилхолин в синаптичната цепка [Shen XM, Selcen D и съавт., 2014]. Дефицитът на SNAP25B е съобщен при афро-американски пациент, при който са установени ограничени вътреутробни движения и скован, и цианотичен вид при раждането, налагащо кислородна терапия. Наблюдавани са множество контрактури. На 7г.в. пациентът започва да ходи, но с помощта на проходилка. Установени са периоди на втрещаване и неотзивчивост, като проведената

электроенцефалография регистрира генерализирана пароксизмална активност. На 11 годишна възраст пациентът съобщава за мускулна слабост и флукутираща птоза на клепачите. Наблюдава се паретична и атактична походка, спастична дизартрия, а невропсихичното развитие отговаря на дете на 3–4-годишна възраст. При молекулярно-генетичният анализ се открива *de-novo* мутация - Ile67Asn в *SNAP25B* гена. Терапията с 3,4-Диаминопиридин оказва благоприятен ефект върху силата на пациента, но не и върху атаксията [A G Engel, X-M Shen и съавт., 2015].

### 1.2.4.3 Мутации в *COLQ* гена

Мутации в *COLQ* гена водят до дефицит на ацетилхолинестераза. Първоначалните симптоми на COLQ-BMC са предимно офталмоплегия, дихателна недостатъчност и слаб плач при раждането. Налице е проксимална мускулна слабост, както при DOK7-BMC. Наблюдава се флукутираща сколиоза, дължаща се на аксиална мускулна слабост, която на по-късен етап се превръща в перманентна. Сколиозата е характерна единствено за COLQ-BMC и DOK7-BMC. Птоза на клепачите и външна офталмоплегия се наблюдават при около половината от пациентите с COLQ-BMC. При около половината от пациентите се наблюдават дневни колебания и прогресия на мускулната слабост. Забавеният зеничен отговор се наблюдава само при 25% от пациентите [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023]. Инхибиторите на холинестеразата (напр. пиридостигмин) са противопоказани при пациенти с дефицит на ColQ [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018]. Ефедрин и салбутамол (албутерол) са ефективни за този вид BMC. Терапията с 3,4-Диаминопиридин също има приложение. Ефектът на Флуоксетин, който се използва за SCCMS, също е докладван при пациент с COLQ-BMC [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

### 1.2.4.4 Мутации в *SCN4A* гена

Мутации в *SCN4A* гена водят и до развитието на BMC. SCN4A-BMC показва чести епизоди на апноични паузи, булбарна парализа и мускулна слабост, които продължават 30 до 60 минути. В интермитентната фаза се наблюдава лека мускулна слабост на лицевата, аксиалната мускулатура и мускулатурата на крайниците, както и външна офталмоплегия. Салбутамол (албутерол) е с доказана ефективност при някои пациенти [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

#### 1.2.4.5 Мутации в *RAPSN* гена

Мутациите в *RAPSN* гена, кодиращ синтеза на протеина рапсин, причиняват ацетилхолин рецепторен дефицит в невромускулния синапс. Артрогрипозата е описана при ВМС причинени от мутации в гена, кодиращ рапсин и  $\delta$  субединицата на ацетилхолиновия рецептор [Daniel Hantaï, Pascale Richard, 2004]. При повечето пациенти обикновено симптомите са проявени още при раждането или се появяват в ранна детска възраст. Някои пациенти се раждат с артрогрипоза поради хипомотилитет вътреутробно. Мускулната слабост персистира през целия живот. Респираторни инфекции или други интеркурентните фебрилни състояния засилват слабостта и предизвикват появата на респираторни кризи, които могат да доведат до развитие на аноксия и енцефалопатия [Ohno K, Engel AG и съавт., 2002]. При асимтоматични пациенти, хомозиготи за мутацията N88K, слабостта и дихателната недостатъчност се проявяват само при фебрилни състояния [Skeie GO, Aurlen H и съавт., 2006]. Състоянието на пациентите може да се влоши по време на бременност или в следродовия период. Възможно е да се наблюдават лицеви деформитети - мандибуларен прогнатизъм и неправилна захапка. Тези пациенти имат лека до тежка слабост на дъвкателните мускули, слабост на лицевата мускулатура и умерена до тежка птоза на клепачите без офталмопареза [Ohno K, Sadeh M, Blatt I и съавт. 2003]. Дългосрочно проследяване на 25 пациенти, лекувани с холинергични медикаменти отразява, че 21 от тях са стабилизирани или са имали значително подобрение, 2 пациенти са станали асимптоматични, 3 са имали прогресия на оплакванията, а 1 е починал в ранна детска възраст. Терапията с Пиридостигмин в комбинация с 3,4-DAP или Албутерол има допълнителни ползи [Andrew G Engel, 2018].

#### 1.2.4.6 Мутации в *CHRNE* гена

Мутации в *CHRNE* гена причиняват ацетилхолин рецепторен дефицит [Търнев И. Дисертация за присъждане на научната степен "Доктор на медицинските науки", 2001][ Търнев И., Гергелчева В., Божинова. В, Черникова С. и съавт., 2005]. Анормалният сплайсинг на *CHRNA1* причинява необичайна форма на дефицит на AChR в невромускулния синапс. Дефицитът на AChR причинен от патогенни варианти в *CHRNA1*, *CHRNBI*, *CHRND* и *CHRNE*, се съобщават многократно от 1996 г. Патогенните миссенс варианти в *CHRNA1*, *CHRNBI*, *CHRND* или *CHRNE* могат да причинят намалена AChR експресия, SCCMS или FCCMS. Дефицитът на AChR и FCCMS имат едни и същи клинични характеристики, които са подобни на тези при Миастения гравис. За разлика от Миастения гравис

дефицитът на AChR в невромускулния синапс е налице още в ембриогенезата при пациентите с патогенни варианти на *CHRNA1*, *CHRNBI* и *CHRND* или при раждането при пациенти с патогенни варианти на *CHRNE*. Те вероятно са причина за незначителни лицеви аномалии, мускулна хипоплазия и липса на диплопия [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

Нулева мутация в *CHRNE* гена води до частичен дефицит на ацетихолиновите рецептори поради персистираща експресия на феталната  $\gamma$  субединица, която служи за замяна на дефицитната  $\epsilon$  субединица. Нулевите мутации в другите субединици водят до пълен дефицит на ацетилхолин рецепторната активност, тъй като те нямат фетални изоформи, които биха ги заместили частично и вероятно са смъртоносни за ембриона, тъй като до момента не са наблюдавани [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018].

Мутации в *CHRNE* гена причиняват синдром на бавните (SCCMS) и бързите (FCCMS) канали. SCCMS се причинява от патогенни миссенс мутации в един алел на *CHRNA1*, *CHRNBI*, *CHRND* и *CHRNE*, кодиращ съответно AChR-  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$  субединици и се характеризира с автозомно доминантен тип на унаследяване. Съобщен е случай на автозомно-рецесивен тип SCCMS. SCCMS може да започне в юношеска или зряла възраст. Пациентите с начало в зряла възраст са с предимно лек фенотип. Слабостта на екстензорните мускули на горните крайници често се наблюдава при SCCMS, въпреки че основните механизми остават неизвестни. Подобряване на симптомите се наблюдава при лечение с Хинидин и Флуоксетин [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023]. Инхибитори на холинестеразата (напр. пиридостигмин) и други средства, предназначени за активирането на AChR (напр. 3,4-DAP) са противопоказани при пациенти със синдром на бавния канал [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018].

Пациенти с FCCMS са докладвани само от три лаборатории в света. Патогенни варианти на FCCMS са установени в *CHRNA1*, *CHRND* и *CHRNE*, но не и в *CHRNBI* гена [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023]. Честите мутации включват aG153S, aN217K, 3L221F, bV266M, 3L269F, 3T264P и aV249F [Paulo José Lorenzoni, Rosana Herminia Scola, 2012]. Синдромът на бързия канал е автозомно рецесивен и може да е резултат от хетерозиготна комбинация от бърза канална мутация, съчетана с нулева мутация. Множество мутации в  $\alpha$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$  субединиците са описани и обикновено попадат в 4 категории: (1) мутации, които променят афинитета на AChR към ацетилхолина (2) мутации, които възпрепятстват активирането на ацетилхолиновия рецептор (3) мутации, които променят ефективността на свързването и (4) мутации в  $\epsilon$ , които намаляват стабилността на активирания рецептор [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018]. Пациентите с FCCMS

отговарят на холинестеразни инхибитори, Амифампридин и Салбутамол (Албутерол) [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

#### 1.2.4.7 ВМС, причинен от дефект при гликозилирането

N-свързаният път на гликозилиране е повсеместен процес в еукариотни клетки, дефиниран като последователно прикрепване на въглехидратни участъци, които след това се свързват към аминокиселинен остатък в протеин. Протеините се модифицират в ендоплазмения ретикулум (ER) чрез добавяне и обработка на гликани, които могат да бъдат от решаващо значение за нагъването на протеиновите вериги и по този начин за функционирането и вътреклетъчния им транспорт. Мутации в компонентите на този път водят до развитието на широк спектър от тежки мултисистемни нарушения, известни като вродени нарушения на гликозилирането [Wu X, Rush JS и съавт., 2003]. Идентифицирана е неочаквана връзка между дефекти на гликозилиране и ВМС [Belaya K, Finlayson S и съавт., 2013].

*GFPT1* генът кодира глутамин-фруктоза-6-фосфат трансаминаза-1, която катализира първата стъпка в биосинтезата на N-ацетилглюкозамин [Haltiwanger RS, Lowe JB, 2004]. Мутации в *GFPT1* са идентифицирани в 16 фамилии с автозомно рецесивен ВМС със специфично разпределена мускулна слабост тип пояс-крайник, често с тубулни агрегати, установени от мускулната биопсия [Senderek J, Müller JS и съавт., 2011]. Клиничната характеристика включва: проксимална слабост в поясните мускули и липса на засягане на очните и лицевите мускули. В някои случаи се открива умерено повишени нива на серумната креатинкиназа и миогенни промени при иглена електромиография [Pedro M Rodríguez Cruz, Jacqueline Palace и съавт., 2014].

*ALG2* и *ALG14-ALG14* кодират мембранен протеин, който заедно с *ALG7* и *ALG13* образуват функционален мултиензимен комплекс, участващ в началните стъпки на N-гликозилирането [Lu J, Takahashi T и съавт., 2012]. *ALG2* генът кодира алфа 1,3-манозилтрансфераза, която катализира втората и третата стъпки на манозилирането за удължаване на въглехидратната верига, свързана с долихол [Jackson BJ, Kukuruzinska MA, 1993]. ВМС причинени от мутации в *ALG2* и *ALG14* гените също са били докладвани. Клинично се характеризират с нормално двигателно развитие, проксимална и аксиална мускулна слабост, леки дистални контрактури, липса на флуктуация на оплакванията, нормални нива на серумната креатинкиназа и положителен отговор към AChE инхибитори [Pedro M Rodríguez Cruz, Jacqueline Palace и съавт., 2014].

#### **1.2.4.8 Мутации в *MUSK* гена**

Мутации в *MUSK* гена причиняват дефектно клъстериране на AChR. Възрастта на началото е от раждането до 8 години. Повечето пациенти съобщават за проксимална мускулна слабост, палпебрална птоза, външна офталмоплегия, слабост на лицевата мускулатура, булбарна парализа и аксиална мускулна слабост [Luan X., Tian W., Cao L и съавт., 2016]. Около половината от пациентите се нуждаят от респираторна подкрепа поради налична дихателна недостатъчност. Амифампридин и Салбутамол (Албутерол) са с подчертана ефективност.

#### **1.2.4.9 Мутации в *DOK7* гена**

Мутации в *DOK7* гена причиняват дефектно клъстериране на AChR. Възрастта на началото е предимно от раждането до ранна детска възраст, но не по-късно от 13-годишна възраст [Ben Ammar A., Petit F и съавт., 2010]. Всички пациенти показват проксимална и аксиална мускулна слабост. Налице е и лека птоза и слабост на лицевата мускулатура. Често се наблюдава сколиоза. В допълнение дистална мускулна слабост, особено в екстензорите на пръстите, също е описана. Подобна слабост на екстензорите на пръстите се наблюдава и при SCCMS. Други симптоми, които са описвани са: мускулна хипоплазия, външна офталмоплегия. Тежки булбарни симптоми не са чести, но при някои бебета са налице стридор и парализа на гласните връзки. Клиничното протичане може да бъде с прогресиращ или непрогресиращ характер. Възможно е развитие на видима мускулна атрофия. Лечение с холинергичните агонисти: Пиридостигмин и 3,4-Диаминопиридин влошават симптомите. Терапията с адренергични лекарства- Ефедрин или Албутерол е ефективна [Andrew G Engel, 2018]. Флуоксетин е ефективен при пациент с DOK7-BMC, който е погрешно диагностициран като SCCMS [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

#### **1.2.4.11 Мутации в *LRP4* гена**

*LRP4* генът кодира постсинаптичния липопротеинов рецептор с ниска плътност протеин 4, който взема участие при развитието на невромускулния синапс чрез Agrin-LRP4-MuSK сигнален път. Тези варианти компрометират медираното от агрин активиране на MuSK и последващото клъстериране на AChR [Pedro M Rodríguez Cruz, Jacqueline Palace и съавт., 2014].

### 1.2.5 Диагноза и диференциална диагноза

Диагнозата ВМС може да бъде поставена въз основа на класическата тетрада: миастенни симптоми от раждането, слабост, причинена от физическо усилие, установена обективно при прегледа, отрицателни антители срещу ацетилхолиновия рецептор и отрицателни анти- MuSK антители, и декремент при репетитивна нервна стимулация (RNS). Декрементният отговор при стимулация с ниска честота в поне един мускул е най-честата находка при ВМС [Черникова С., Гергелчева В., Божинова В., Търнев И. и съавт., 2006] [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018]. Откриване на нарушение в невромускулната трансмисия насочва към вроден миастенен синдром. Декрементът при репетитивна нервна стимулация може да отсъства при ВМС, особено при пациенти, при които симптоматиката е леко проявена и в случаи на ВМС, причинени от мутации в *ChAT* гена или *RAPSN* гена. В случай на дефицит на ChAT декремент може да се появи след 5 минутна стимулация с честота 10 Hz. Повтарящите се СМАП са патогномонични за две разновидности на ВМС: синдром на бавния канал и ацетилхолинестеразен дефицит. Увеличение по-голямо от 100% по амплитуда и по площ предполага пресинаптичен произход [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

За диагностициране на специфичен тип ВМС е необходимо провеждане на молекулярно-генетично изследване [Гергелчева, В., Литвиненко И., Черникова С., Божинова В., Търнев И. и съавт., 2007]. Генетично изследване, включително изследване на разширени панели чрез секвениране от следващо поколение, не винаги поставя специфична диагноза, тъй като при част от пациентите ВМС се причинява от мутации в гени, които все още не са идентифицирани [Perry B Shieh, Shin J Oh, 2018].

Мускулна биопсия: първата роля на мускулната биопсия е да изключи миопатия (вродена миопатия или митохондриална миопатия). Макар и неспецифично, преобладаването на влакна тип I и изразената атрофия на влакна от тип II предполагат ВМС. Присъствието на тубулни агрегати е често срещано явление. Невромускулните връзки се визуализират чрез хистохимичната техника на Koelle, фасцикулин или специфични антители за ацетилхолиновия рецептор. От решаващо значение е липсата на ацетилхолинестераза в невромускулната връзка, което поставя диагноза дефицит на ацетилхолинестераза. Изследване чрез ултрацентрифугиране разкрива липсата на асиметрични (синаптични) форми на ензима и значително намаляване на броя на ацетилхолиновите рецептори.

Имуноцитохимично изследване на структури на невромускулния синапс може да бъде извършено [Daniel Hantaï, Pascale Richard, 2004].

Таблица 6. Диференциална диагноза при ВМС с инфантилна форма и начало в детска възраст.

|                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Диференциална диагноза при ВМС с инфантилна форма и начало в детска възраст:</b> |
| Конгенитални миопатии (немалинова миопатия, миотубуларна миопатия);                 |
| Мускулни дистрофии;                                                                 |
| Миотонична дистрофия;                                                               |
| Митохондриални миопатии;                                                            |
| Серопозитивна и серонегативна Миастения гравис.                                     |
| <b>Диференциална диагноза при ВМС с късно начало:</b>                               |
| Заболявания на отоневрона;                                                          |
| Периферни невропатии;                                                               |
| Фациоскапулохумерална дистрофия;                                                    |
| Митохондриални миопатии;                                                            |
| Серопозитивна и серонегативна Миастения гравис.                                     |

## 1.2.6 Терапия

Съвременният набор от лекарства, използвани за лечение на ВМС, включва: ацетилхолинестеразни инхибитори (основно Пиридостигмин), 3,4-Диаминопиридин (3,4-DAP), Ефедрин, Салбутамол/Албутерол, Флуоксетин, Хинидин или комбинация от тях (таблица 7) [Миланов И., Търнев И., Чамова Т., Национален консенсус за диагностика и профилактика на НМЗ, 2020] [Manon Lee, David Beeson и съавт., 2018].

Холинестеразните инхибитори (напр. Пиридостигмин) са ефективни при много групи ВМС, но като цяло са неефективни за SCCMS и DOK7-ВМС. В допълнение холинестеразните инхибитори са противопоказани за COLQ-ВМС и LAMB2-ВМС, поради тежки неблагоприятни ефекти, включително спиране на дишането при някои пациенти. Въпреки че основните механизми остават неизвестни, холинестеразните инхибитори понякога влошават симптомите при DOK7-CMS, MUSK-ВМС и LRP4-ВМС. Ефедринът и Салбутамолът (Албутерол) са ефективни при много групи ВМС, включително при ацетилхолинестеразен рецепторен дефицит, причинен от патогенни

варианти в голям брой гени, както и при DOK7-BMC. Симпатиковият нерв инервира невромускулната връзка и улеснява предаването на сигнала, което вероятно е фармацевтичен механизъм на ефектите на Ефедрин и Салбутамол (Албутерол). Ефедринът и Салбутамолът (Албутерол) също са ефективни при някои пациенти със SCCMS и COLQ-BMC, които вероятно ще компенсират дефицита на ацетилхолиновите рецептори. Амифампридин блокира волтаж-зависимия калиев канал в нервния терминал и е ефективен при BMC, който се характеризира с компрометиран SNARE комплекс. В допълнение Амифампридин е ефективен за много групи BMC, с изключение на SCCMS, AGRN-BMC, SLC5A7-BMC, SLC25A1-BMC. Амифампридин е ефективен и при някои пациенти с COLQ-BMC, въпреки че фармакологичните механизми остават неизвестни. Хинидин и Флуоксетин подобряват симптомите при BMC със SCCMS. Изразен ефект на Флуоксетин се съобщава в случай на COLQ-BMC. Ацетазоламидът е ефективен при пациенти с SCN4A-BMC [Kinji Ohno, Bisei Ohkawara и съавт., 2023].

Началната перорална доза на Ефедрин е 1 mg/kg/ден- за деца, разделен на три приема дневно и постепенно титриране на дозата до максимум 3 mg/kg/ден. Пероралната доза за възрастни е 25-50 mg, прилагани 2-3 пъти дневно. Високи дози трябва да се предписват с повишено внимание поради възможни неблагоприятни ефекти като хипертония, тревожност, безсъние и тахикардия [Schara U, Lochmüller H, 2008].

Предписаната дозата на Албутерол варира от 4 mg/доза 1-3 пъти дневно за възрастни, 2 mg/доза 2-3 пъти дневно за деца на възраст между 6-12 години и 0,1 mg/kg/ден (максимум 2 mg/доза), разделени на три дози за деца на възраст 2-6 години [Liewluck T, Selcen D, 2011].

Хинидин сулфат (за възрастни 600 mg/ден, разделени на три приема; за деца 15-60 mg/kg/ден разпределени в 4-5 дози) и Флуоксетин (за възрастни 60-80 mg/ден в една доза [Paulo José Lorenzoni, Rosana Herminia Scola и съавт., 2012].

Таблица 7. Терапевтични възможности при BMC, според мутациите в гените, които ги причиняват [Andrew G Engel, Xin-Ming Shen, 2015].

|                                 |                                                                                         |                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Холин ацетилтрансфераза дефицит | пиридостигмин;<br>парентерален неостигмин,<br>метилсулфат при остри<br>апноични епизоди | Лечението трябва да продължи дори при асимптоматични пациенти. Най-тежко засегнатите пациенти нямат добър отговор към холинергични лекарства и остават зависими от постоянен неинвазивна вентилация |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                         |                                                                                                                 |                                                               |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Дефицит на SNAP25B                      | Амифампридин                                                                                                    |                                                               |
| Дефицит на ацетихолинестераза           | Салбутамол или ефедрин                                                                                          | Да се избягват пиридостигмин и амифампридин                   |
| Дефицит на ламинин-β2                   | Ефедрин                                                                                                         | Да се избягва пиридостигмин                                   |
| Първичен ацетилхолин рецепторен дефицит | пиридостигмин; амифампридин; салбутамол                                                                         |                                                               |
| Синдром на бавния канал                 | хинидин или флуоксетин                                                                                          | Да се избягват пиридостигмин и амифампридин                   |
| Синдром на бързия канал                 | Пиридостигмин и амифампридин                                                                                    | Да се избягват хинидин и флуоксетин                           |
| Дефицит на агрин                        | Няма отговор към пиридостигмин или амифампридин при един пациент; частично отговор на ефедрин при втори пациент | Използвайте пиридостигмин с Внимание                          |
| Дефицит на LRP4                         |                                                                                                                 | Избягвайте пиридостигмин и амифампридин                       |
| Дефицит на MuSK                         | Променлив отговор към амифампридин; добър отговор към салбутамол в един пациент                                 | Конвенционалните дози пиридостигмин може да влошат симптомите |
| Дефицит на Dok-7                        | Салбутамол или ефедрин                                                                                          | Избягвайте пиридостигмин                                      |
| Дефицит на Rapsyn                       | Пиридостигмин, амифампридин, салбутамол                                                                         |                                                               |
| GFPT1, DAPGT1, ALG2 и ALG14             | пиридостигмин; амифампридин може осигуряват допълнителни ползи                                                  |                                                               |
| PREPL                                   | Пиридостигмин е полезен в ранна детска възраст                                                                  |                                                               |
| Дефицит на плектин                      | Рефрактерен на пиридостигмин и амифампридин                                                                     |                                                               |

|                             |                            |   |  |
|-----------------------------|----------------------------|---|--|
| Дефекти в натриевите канали | Пиридостигмин ацетазоламид | и |  |
|-----------------------------|----------------------------|---|--|

## 1.3 Вродени миопатии

### 1.3.1 История

За първи път терминът вродена миопатия е въведен в научната литература през 1956 г., когато Shy и Magee описват вродена непрогресираща миопатия [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

Приложението на хистологични и хистохимични техники за диагностика на мускулна патология през 50-те и 60-те години на 20в. са довели до тласък в идентифицирането на група от миопатни синдроми със специфични структурни характеристики, установени при мускулната биопсия, известни като „вродени миопатии“ [Caroline A Sewry, Cecilia Jimenez-Mallebrera и съавт., 2008].

Ханс Гьобел докладва повече от 40 различни вродени миопатии в негова публикация от 1996 г. [Nigel G Laing, 2007].

### 1.3.2 Епидемиология

Точни данни за епидемиологията на вродените миопатии не са известни. Смята се, че приблизителната честота на заболяването е около 1:25 000. Вродените миопатии са причина за изявата на неонатална мускулна хипотония в 14% от всички случаи [Tubridy N, Fontaine B и съавт., 2001]

Честотата на вродените миопатии в САЩ е 1:26 000, в Обединеното кралство 1:135 000 [Colombo I, Scoto M и съавт., 2015].

### 1.3.3 Етиология и патогенеза

Терминът вродена миопатия се отнася до група от клинично, генетично и хистологично хетерогенни заболявания, които засягат главно мускулната тъкан. Присъствието на специфични хистопатологични промени при мускулната биопсия разграничава тези състояния от другите невромускулни заболявания. Вродената миопатия е причинена от генетични мутации, отговорни за формирането на дефектни

структурни протеини, локализиращи в скелетната мускулатура [North KN, Wang CH и съавт., 2014].

Мутациите в един ген могат да причинят различни клинични фенотипове, както и няколко различни форми на вродена миопатия (таблица 8). Например, мутации в *ACTA1* гена отговорен за скелетния  $\alpha$ -актин може да причинят немалинова миопатия и вродена миопатия с диспропорция на влакната [Hung RM, Yoon G и съавт., 2010].

Таблица 8. Видове вродени миопатии, гените, с които са свързани и генните продукти [Carina Wallgren-Pettersson, 2005].

| Заболяване                                     | Начин на унаследяване | Генна локация | Ген             | Генен продукт             |
|------------------------------------------------|-----------------------|---------------|-----------------|---------------------------|
| Немалинова миопатия                            | АР                    | 2q21.2-q22    | <i>NEM2</i>     | Небулин 1,2               |
| Немалинова миопатия                            | АД                    | 1q42.1        | <i>ACTA1</i>    | Скелетен $\alpha$ - Актин |
| Вродена миопатия с мутация в <i>ACTA1</i> гена | АД                    | 1q42.1        | <i>ACTA1</i>    | Скелетен $\alpha$ - Актин |
| Вродена миопатия с диспропорция на влакната    | АД                    | 1q42.1        | <i>ACTA1</i>    | Скелетен $\alpha$ - Актин |
| Немалинова миопатия                            | АД                    | 1q21-q23      | <i>TPM3</i>     | $\alpha$ -Тропомозион     |
| Немалинова миопатия                            | АР                    | 1q21-q23      | <i>TPM3</i>     | $\alpha$ -Тропомозион     |
| Немалинова миопатия                            | АД                    | 9p13.2-p13.1  | <i>TPM2</i>     | $\beta$ -Тропомозион      |
| Немалинова миопатия                            | АР                    | 19q13.4       | <i>TNNT1</i>    | Тропонин Т                |
| Миотубуларна миопатия                          | Х                     | Xq28          | <i>MTM1</i>     | Миотубуларин              |
| „Central core“ миопатия                        | АД                    | 19q13.1       | <i>CCDZRYR1</i> | Рианидинов рецептор       |
| „Central core“ миопатия                        | АР                    | 19q13.1       | <i>CCDZRYR1</i> | Рианидинов рецептор       |
| „Central core“ миопатия                        | АД                    | 19q13.1       | <i>RYR1</i>     | Рианидинов рецептор       |
| „Central core“ миопатия                        | АД                    | 15q 20        |                 |                           |
| Multi-minicore миопатия                        | АР                    | 1p36          | <i>SEPNI</i>    | Селенопротеин N           |

|                           |    |       |                                 |                 |
|---------------------------|----|-------|---------------------------------|-----------------|
| Миофибриларна<br>миопатия | АД | 2q35  | <i>DES</i>                      | Десмин          |
| Миофибриларна<br>миопатия | АР | 2q35  | <i>DES</i>                      | Десмин          |
| Миофибриларна<br>миопатия | АД | 11q22 | <i>DRM</i><br>( <i>ZCRYAB</i> ) | α-B-Кристалин   |
| Миофибриларна<br>миопатия | АД | 5q31  | <i>MYOT</i>                     | Миотилин        |
| Миофибриларна<br>миопатия | АР | 1p36  | <i>SEPNI</i>                    | Селенопротеин N |
| Миофибриларна<br>миопатия | АД | 14q12 | <i>MYH7</i>                     | Миозин          |

### 1.3.4 Класификация

Въпреки че класификацията на вродените миопатии търпи постоянна редакция, дължаща се на непрекъснатото откриване на нови гени отговорни за развитието на заболяването, за момента продължават да се класифицират главно въз основа на характеристиките, наблюдавани от мускулната биопсия. Вродените миопатии могат да бъдат разделени на следните пет форми [Denise Cassandrini, Rosanna Trovato и съавт., 2017]:

1. Немалинова миопатия;
2. “Central core” миопатия;
3. Центронуклеарна миопатия/ миотубуларна миопатия;
4. Вродена миопатия с диспропорция на влакната;
5. Миопатия с натрупване на миозин.

Клиничният фенотип не служи като основа за разграничаване на различните видове вродена миопатия, тъй като често клиничната картина е неспецифична, обикновено изразяваща се в наличие на хипотония и мускулна слабост (още при раждането или появяващи се в ранна детска възраст). Въпреки това клиничният спектър варира от тежки неонатални форми с вродена артрогрипоза до леки форми с начало в детска възраст с непрогресивна мускулна слабост и хипотония [Jungbluth H, Voermans NC, 2016]. Наблюдават се още отслабени сухожилни рефлексии, намалена мускулна маса, в

комбинация с нормалното когнитивно развитие. Клиничната тежест може да бъде променлива, дори в рамките на едни и същи хистологични подтипове. Пациентите с тежка слабост често имат респираторни нарушения и дисфагия. Най-тежко засегнатите болни могат да бъдат зависими от постоянна изкуствена белодробна вентилация и да е налице невъзможно самостоятелното хранене, и необходимост от използване на назогастрална сонда. Въпреки че вродените миопатии обикновено са смятани за непрогресивни заболявания, бавна прогресия на клиничните симптоми е често срещана в зряла възраст, но е възможно прогресията да започне в края на юношеските години [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

В неонаталния и вътреутробния период симптомите обикновено са по-изразени и може да включват ограничени движения на плода с последващо развитие на артрогрипоза и плоскостъпие. В някои от случаите се наблюдават затруднено сукане и дихателна слабост. Други характерни симптоми, които се наблюдават през първата година от живота, са вродена тазобедрена дисплазия и хипомия (миопатен фациес). По време на детския растеж мускулната хипотония не прогресира, но двигателното развитие се забавя- могат да се появят костни и ставни деформитети, като контрактури, лордоза, сколиоза или ригиден гръбначен стълб. Значителна загуба на мускулна маса с ниско телесно тегло и дифузна мускулна атрофия са други често срещани симптоми [Colombo I, Scoto M и съавт., 2015].

Пациентите с вродена миопатия обикновено показват дизморфични черти на лицето, развили се в резултат на мускулна слабост, изразяващи се в наличие на високо небце, микрогнатия, пектус каринатум или пектус екскаватум, последният резултат от хипотония на гръдните мускули. Възможно е развитието на страбизъм [Denise Cassandrini, Rosanna Trovato и съавт., 2017].

Иглената електромиография обикновено е с нормални резултати или има данни за миогенна увреда. Серумната креатинкиназа в повечето случаи е с нормални стойности, но може да бъде повишена до пет пъти над нормата, което води до припокриване с някои форми на мускулна дистрофия. Дори при пациенти с класически клинични признаци на вродена миопатия се изисква провеждане на мускулна биопсия, за да се изключат други причини за мускулна слабост и да се постави специфична хистологична диагноза [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

Идентифицирането на конкретната генетична мутация при пациентите с вродена миопатия се превръща в златен стандарт за поставяне на диагнозата. Все по-важно ще става идентифицирането на мутирания ген, след разработване на специфични

генни терапии. Насоченото изследване на определен ген единствено въз основа на клиничните характеристики остава трудно. Поради тази причина хистологичното типизиране е ключово в хода на диагностицирането на вродените миопатии. МРТ на мускулите също може да бъде полезна за насочване към засегнатия ген [Wattjes MP, Kley RA и съавт., 2010].

### 1.3.4.1 Немалинова миопатия

Немалиновата миопатия се характеризира с наличие на малки пръчковидни включвания в мускулните влакна. Изградени са главно от алфа актинин, актин и други Z-лентови филаменти. Тези включвания ясно се визуализират с Gomori трихромно оцветяване [Fardeau M, Tome F, 1994].

Диагнозата немалинова миопатия е поставена за първи път през 1963 г. [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

Обикновено се счита за най-честата форма на вродена миопатия [Norwood FL, Harling C и съавт., 2009] с честота 1:50 000 живи раждания, въпреки че може да е по-честа при определени популации (напр. при евреите-ешкенази или в общността на амишите) [Wallgren-Pettersson C, Laing NG, 2000].

Понастоящем има шест известни генетични причини за немалинова миопатия, от които *NEB* и *ACTA1* гените са с най-голямо значение. Мутациите в *NEB* се считат за най-честа причина за развитието на заболяването и са идентифицирани при всеки клиничен подтип [Lehtokari VL, Pelin K и съавт., 2006].

Мутациите в *ACTA1* гена се откриват при 25–30% от пациентите с НМ [Ryan MM, Schnell C и съавт., 2001]. При около половината от пациентите с тежка вродена слабост се откриват хетерозиготни доминантни мутации [Feng JJ, Marston S, 2009]. Липсата на семейна история е честа, тъй като много от тях възникват de novo [Nowak KJ, Wattanasirichaigoon D и съавт., 1999]. Унаследяването при пациенти с *ACTA1* мутации обикновено е автозомно доминантно, а най-често се дължина de-novo възникнали мутации. Редки рецесивни хомозиготни нулеви мутации обаче, водят до липса на скелетен актин. По-дългата преживяемост на тези пациенти се отдава на наличието на изоформа на сърдечен актин в скелетната мускулатура [Nowak KJ, Sewry CA и съавт., 2007].

Мутациите в два тропомиозинови гена, *TPM2* [Donner K, Ollikainen M и съавт., 2002] и *TPM3* [Wattanasirichaigoon D, Swoboda KJ и съавт., 2002] като причина за развитието на НМ, се съобщават в по-малко от 10 семейства. Макар и необичайно, полезна хистологична

находка за НМ причинени от мутация в *TRPM3* гена е: пръчковидни натрупвания, наблюдаващи се единствено в тип 1 мускулни влакна, вероятно поради факта, че а-тропомиозин, основният генен продукт, не участва в изграждането на влакна тип 2.

В популационен изолат са били открити още две генетични причини, отговорни за развитието на немалинова миопатия– мутация в *TNNT1*, който кодира тропонин Т в общността на амишите [Johnston JJ, Kelley RI и съавт., 2000] и в едно семейство са установени мутации в *CFL2* гена, който кодира кофилин 2 [Agrawal PB, Greenleaf RS и съавт., 2007]. Генетичният анализ може да осигури важна информация за пренаталното семейно консултиране.

Клиничният спектър на немалиновата миопатия е доста широк вариращ от леки до тежки фенотипове [Wallgren-Pettersson C, Laing NG, 1999].

Спрямо тежестта на заболяването се обособяват следните клинични форми [Wallgren-Pettersson C, Laing NG, 2000]:

1. Тежка вродена немалинова миопатия;
2. Междинна вродена немалинова миопатия (НМ);
3. Типична вродена НМ;
4. НМ с начало в детство/ НМ с ювенилно начало;
5. НМ с начало в зряла възраст;
6. Други форми с атипични клинични картина: с наличие на кардиомиопатия и офталмоплегия.

Децата, засегнати от тежки неонатални форми, които представляват около 16% от всички случаи, са хипостенични, хипотонични от раждането и имат затруднения в сукането и преглъщането. При тях се срещат артрогрипоза и дилатативна кардиомиопатия. Дихателната недостатъчност и развитие на аспирационна пневмония често водят до смъртен изход през първите седмици или първите месеци от живота. Най-често срещаната форма обаче е по-леката, като се характеризира със слабост на крайниците, аксиална слабост и слабост на лицевата мускулатура. Обикновено има непрогресиращ или бавно прогресиращ ход. Моторното развитие при тези пациенти е забавено. Слабостта на лицевата мускулатура е причина за развитието на отличителни черти на лицето (удължено лице, високо небце и аномалии на устните). Пациентите са с дизартрия и дисфагия. Въпреки че децата, засегнати от тази форма на миопатия развиват мускулни контрактури и висок свод на стъпалата, повечето могат да ходят. Дихателното засягане е основният прогностичен фактор [Ryan MM, Schnell C и съавт., 2001]. Фациесът

при раждане на бебета с тежка немалинова миопатия може да бъде неразличим от характерния дизморфизъм при вродена миотонична дистрофия, включително темпорално изкривяване и обърната V-образна горна устна.

Вродени миопатии с първите идентифицирани генни дефекти са: “Cap” миопатия и миопатия тип тяло на зебра [Nigel G Laing, 2007].

Телца тип зебра са идентифицирани при пациенти, с хомозиготни мутации в гена *ACTA1* [Nowak KJ, Sewry CA и съавт., 2007]. Миопатията тип тялото на зебра представлява доброкачествена вродена миопатия, характеризираща се с вродена хипотония и слабост. Разпространението на този тип миопатия е неизвестно. Описани са по-малко от десет пациента. Мускулна биопсия показва телца тип зебра и други миопатни промени [Denise Cassandrini, Rosanna Trovato и съавт., 2017].

Lehtokari и съавт. описват хетерозиготна делеция в *TPM2* - p.Glu139del като първата по рода си мутация, идентифицирана при “Cap” миопатия, въпреки че има други видове *TPM2* мутации, свързани или с немалинова миопатия [Donner K, Ollikainen M и съавт., 2002], или с дистална артрогрипоза [Sung SS, Brassington AM и съавт., 2003]. “Cap” миопатията е един специфичен подтип на немалиновата миопатия и представлява много рядък вроден тип. До този момент има само двадесет описани пациенти от първия докладван случай през 1981 г. [Jungbluth H, Zhou H и съавт., 2007]. Тринадесет са спорадични и седем с фамилна форма [Ohlsson M, Quijano-Roy S и съавт., 2008]. „Cap“ миопатията има начало в неонаталния период или в ранна детска възраст и се наблюдава бавен ход на прогресия. Засегнатите лица са със слабост и хипотрофия на аксиални и проксимални мускулни групи, удължено лице с високо небце, сколиоза и затруднено дишане [Denise Cassandrini, Rosanna Trovato и съавт., 2017]

Мускулна биопсия показва пръчковидни тела, които могат да бъдат многобройни, присъстващи в повечето мускулни влакна и да заемат повече от половината обем на влакното. От друга страна, диагнозата немалинова миопатия е поставена и в случаи, когато немалиновите тела са по-оскъдно количество, но остават основната хистологична патология, отговаряща на клиничната картина [Penisson-Besnier I, Monnier N и съавт., 2007]. Често вторична хистологична находка е атрофия на влакна тип 1. Немалиновите телца не са патогномонични за немалиновата миопатия, тъй като могат да възникнат като вторичен феномен при възрастни пациенти, страдащи от възпалителна миопатия или при НМ с късно начало, свързана с моноклонална гамапатия.

### 1.3.4.2 “Central core” вродена миопатия

Терминът “Central core” миопатия се отнася до форма на вродена миопатия, характеризираща се хистологично с наличието на заоблени структури, наречени „ядра“, локализирани в мускулните клетки. Окислителната активност на тези структури варира значително от намалена до напълно отсъстваща, за разлика от околните структури, където е нормална [Engel AG, Gomez MR и съавт., 1971]. Първото описание на “Central core” миопатия е направено от Shy и Magee през 1956 г. [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

Заболяването е причинено от мутации в *RYR1* гена, локализиран в 19q12-13.2 хромозома [Monnier N, Romero NB и съавт., 2000]. Не при всички пациенти с *RYR1* мутации обаче се откриват големи ядра в биопсичния материал от мускулната тъкан. Обратно, при някои пациенти с *RYR1* мутации ядрата или липсват, или са фокални и множествени. Множеството ядра отново илюстрират клиничното и патоанатомично припокриване на отделните типове вродени миопатии, тъй като се наблюдават при дефекти в *RYR1* [Jungbluth H, Zhou H и съавт., 2005], в *SEPN1* [Ferreiro A, Quijano-Roy S и съавт., 2002] и *TTN* гена [Carmignac V, Salih MA и съавт., 2007]. Вродените миопатии, предизвикани от мутация в *RYR1* гена, се унаследяват по автозомно доминантен или автозомно рецесивен тип с променлива пенетрантност [Monnier N, Romero NB и съавт., 2000], но мутациите, които причиняват рецесивната форма на “Central core” миопатия също могат да доведат до развитие на доминантна наследствена предразположеност към развитие на малигнена хипертермия. Комбинацията от рецесивни мутации и de-novo доминантни нулеви мутации също са описани, което предполага, че наличието на втора мутация трябва да се търси в спорадични случаи или в доминантни случаи, представящи се с фамилна клинична вариабилност [Caroline A Sewry, Cecilia Jimenez-Mallebrera и съавт., 2008].

Въз основа на разликите между структурите, които се наблюдават при биопсичен материал, са установени два отделни подтипа [Engel AG, Gomez MR и съавт., 1971]:

1. “Central core” миопатия с наличие на отделни ядра, които обикновено са централно локализирани
- и
2. „multiminicores“ миопатия, която представлява морфологичен подтип, характеризиращ се с дифузно присъствие на множество малки ядра.

Първото описание на „multiminicores“ миопатия е направено от Engel и съавт. през 1971 г. „Multiminicores“ миопатията е автозомно рецесивно заболяване.

Клинична тежест на “Central core” миопатията може да варира между членовете на едно и също семейство, а така също и с възрастта. Автозомно-рецесивните форми са клинично по-тежки и има описани пациенти с фетална акинезия и вродена артрогрипоза [Romero NB, Monnier N и съавт. 2003]. Проксималната мускулатура на крайниците е най-засегната област. Скелетните деформитети като вродена луксация на тазобедрените стави, контрактури, *pes cavus*, *pes planus* и сколиоза са често срещани [North KN, 2004]. Малка част от пациентите имат по-тежка клинична картина, представена с генерализирана хипотония, слабост на лицевите мускули, засягане на очите (птоза и/или офталмоплегия) и тежки скелетни малформации (множествена артрогрипоза, кифосколиоза). Описани са тежки пренатални и летални форми [Hernandez-Lain A, Husson I и съавт., 2011]. Забавено е моторното развитие, наблюдава се по-късно прохождение, пациентите изпитват затруднения при изкачване на стълби, тичане и ставане от пода. Повечето пациенти с “Central core” миопатия имат сравнително доброкачествен ход на заболяването и лека клинична картина със следните симптоми: забавено прохождение, рядко засягане на лицевите мускули, ограничени движения на очите, птоза на клепачите, хипотония и слабост на проксималните и аксиалните мускули. Дихателната функция е запазена. Някои пациенти имат склонност към развитие на малигнена хипертермия и повишени нива на серумната креатинкиназа.

При пациенти с рецесивни мутации в *RYR1* и *SEPN1* гените често е налице засягане на аксиалната и на дихателната мускулатура. Екстраокуларните мускули са засегнати при пациенти с рецесивна мутация в *RYR1* гена, но не и с мутации в *SEPN1* гена [Caroline A Sewry, Cecilia Jimenez-Mallebrera и съавт., 2008].

Клиничните характеристики на „multiminicores“ миопатия също могат да варират значително [Zhou H, Jungbluth H и съавт., 2007]. Началото обикновено е в детска възраст или в юношеството, но съществуват и форми с начало в зряла възраст. Четири фенотипни форми са описани, макар и със значително припокриване на симптомите между тях [Jungbluth H, 2007].

1. Пациентите с най-честия фенотип (класическа форма) имат тежка аксиална мускулна слабост със сколиоза или ригидност на гръбначния стълб, тортиколис и респираторно засягане. Въпреки това степента на мускулната слабост не винаги корелира с тежестта на дихателната недостатъчност.

2. Втората група пациенти са с пълна или частична външна офталмоплегия [Jungbluth H, Zhou H и съавт., 2005].

3. Трета малка група пациенти са с проксимална мускулна слабост, обикновено на тазовия или раменния пояс, свързана с артрогрипоза.

4. Четвъртата група включва тежка клинична картина с начало в неонаталния период [Bharucha-Goebel DX, Santi M и съавт., 2013]. При всички тези форми на мултиминикорна миопатия клиничните прояви обикновено започват рано и нивата на креатинкиназата са нормални или само леко повишени.

“Central core” миопатия - при мускулната биопсия се наблюдават: при окислителните ензимни реакции ядрата изглеждат като добре ограничени лезии с намалена или липсваща окислителна активност в мускулните влакна. Те могат да се локализируют в централната част на влакната или непосредствено под сарколемата. Могат да бъдат единични или множествени [Romero NB, Herasse M и съавт., 2005]. Ядрата при този тип миопатия се разполагат почти по цялата дължина на влакното и имат рязко демаркирани граници от нормално структурираните зони. Находката може да варира в различните мускули при един и същи пациент и между различните засегнати членове на едно и също семейство.

„Multiminicores“ миопатия - мускулната биопсия показва мускулни влакна с фокални, слабо отграничени зони с намалена окислителна ензимна активност. Тези морфологичните промени се различават от промените наблюдавани при “Central core” миопатия, тъй като ядрата имат по-слабо маркирани граници. Преобладаване на тип 1 мускулни влакна е често. Ядрата се откриват и в тип 1 и в тип 2 мускулни влакна [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

Core-rod миопатия е рядка вродена миопатия, характеризираща се с наличието на добре оформени ядра и пръчици в отделни части на едно и също мускулно влакно или в различни мускулни влакна. Докладвана е в малък брой семейства и изолирани случаи. Клиничните симптоми и началото на заболяването са разнообразни, вариращи от фетална акинезия до лек фенотип, представящ се с дифузна слабост, преобладаващо засягане на проксимални или дисталните мускули на долните крайници, контрактури, сколиоза и в част от случаите лека птоза.

Повечето случаи са причинени от автозомни доминантни (AD) и автозомно рецесивни (AR) мутации в *RYR1* гена [Claeys KG, Monnier N и съавт., 2009].

Докладвани са мутации в *NEB* гена, при пациент с автозомно рецесивно унаследяване, което показва, че този вид миопатия е генетично хетерогенно заболяване [Romero NB, Lehtokari V и съавт., 2009].

### 1.3.4.3 Миопатия с натрупване на миозин

Тази форма на вродена миопатия е съобщена за първи път през 1971 г. [Concilla PA, Kalayanaraman K и съавт., 1971]. Първоначално е наричана миопатия на хиалинното тяло, но по-късно е наречена миопатия с натрупване на миозин.

Миопатия с натрупване на миозин е рядко състояние, свързано с мутации в гена, кодиращ синтеза на тежката верига на миозин бета (МНС- $\beta$ ) изоформата, която се открива предимно в сърцето, но също и в тип 1 влакната на скелетната мускулатура [Laing NG, Laing BA и съавт., 1995].

Повечето семейства имат доминантни (хетерозиготни) мутации в *MYH7* гена, който кодира основната изоформа на миозин в скелетните мускулни влакна тип 1 и сърдечния мускул. В някои семейства само едно дете е засегнато от *de novo* доминантна мутация [Bohlega S, Abu-Amero SN и съавт., 2004]. Една *MYH7* мутация причинява рецесивна форма на миопатия с натрупване на миозин [Tajsharghi H, Oldfors A и съавт., 2007b]. Към днешна дата всички мутации в *MYH7* гена променят отделни аминокиселини, локализирани в областта на опашката на миозина.

Има широк клиничен спектър на заболяването, което частично е обяснено с типа на възникналите мутации [Goebel HH, Laing NG, 2009]. Клиничните симптоми и развитието на заболяването могат да варират в рамките на едно семейство [Bohlega S, Lach B, Meyer BF и съавт., 2003]. Повечето пациенти имат бавно прогресираща генерализирана мускулна слабост, която започва в детството, но е възможно да не се появи до зряла възраст. Най-тежко засегнатите пациенти имат вродена слабост, сколиоза и контрактури. С времето могат да загубят възможността за самостоятелното си придвижване, както и да се нуждаят от изкуствена белодробна вентилация още в ранна детска възраст [Dye DE, Azzarelli B и съавт., 2006]. Често срещани клинични признаци включват: скапулоперонеална или пояс-крайник мускулна слабост, хипертрофия на мускулите в областта на подбедрицата, сколиоза и дихателна недостатъчност. Кардиомиопатия и сърдечни аритмии може да се наблюдават при някои мутации в *MYH7* гена [Tajsharghi H, Oldfors A и съавт., 2007b].

Поради разнообразната клинично-генетична корелация наблюдавана при отделните пациенти, вродената миопатия с натрупване на миозин се разделя на три форми:

1. Ранна дистална миопатия с хистологични доказателства за отлагане на „cores“ в мускулните влакна;

2. Късна форма на дистална миопатия без хистологични доказателства за отлагане на „cores“ в мускулните влакна и с променлива изява на кардиомиопатия и диспропорция на мускулните влакна;

3. Най-често срещаната форма, изразяваща се в засягане на поясната мускулатура и мускулите на крайниците с миофбрилерно увреждане.

Няма корелация между установения генетичен дефект и тежестта на протичане на заболяването, тоест фенотипът не може да бъде предвиден въз основа на генотипа [Astrea G, Petrucci A, Cassandrini D и съавт., 2016].

Нивата на креатинкиназата обикновено са нормални или леко повишени. Мутациите в *MHY7* гена причиняват развитието на хипертрофична и дилатативна кардиомиопатия [Oldfors A, 2007], както и дистална миопатия на Laing [Meredith C, Herrmann R, Parry C и съавт., 2004].

Мускулната биопсия се характеризира с наличието на субсарколемни отлагания в мускулни влакна тип 1, които изглеждат като бледи области при оцветяване с хематоксилин и еозин, бледозелени с Gomori и които са лишени от окислителна ензимна активност. Включванията до голяма степен се състоят от аморфни миозинови отлагания. На електронна микроскопия хиалиновите отлагания изглеждат като гранулиран материал с еднаква консистенция, който образува езера без околни мембрани, понякога пресичащи се от саркомери [Tajsharghi H, Thornell LE и съавт., 2003].

#### **1.3.4.4. Центронуклеарна/ миотубуларна миопатия**

Центронуклеарните (миотубуларни) миопатии са наследствени заболявания, характеризиращи се хистологично с висока честота на централно разположени ядра в голяма част от мускулните влакна [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

Терминът миотубуларна миопатия първоначално е използван от Спиро и съавт., през 1966 г., за да опишат отличителна морфологична патология на мускулните влакна, която обикновено се наблюдава само по време на мускулното развитие между 8–15 гестационна седмица. Въпреки че този термин първоначално е бил широко използван, в момента е ограничен единствено до X-свързаната рецесивна форма на този вид миопатия [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

Ключовият характерен признак на центронуклеарната миопатия е патологична позиция на ядрата в мускулните клетки, в много случаи разположени точно в центъра на клетките. Освен това те са по-големи от нормалните и имат вид на мехурчета. Оттук и

произхода на термина миотубуларна миопатия, представляващ името на един от подтиповете [Spiro AJ, Shy GM и съавт., 1966].

Терминът центронуклеарната миопатия обикновено се използва за обозначаване на автозомна форма, унаследена като доминантна или по-рядко, като рецесивна патология [Romero NB, 2010].

Според начина на унаследяване и клиничната изява има три основни форми [Jeannet PY, Bassez G и съавт., 2004]:

1. X-свързана рецесивна форма, наричана още миотубуларна миопатия, която обикновено се проявява като тежка пренатална или неонатална миопатия;
2. Класически автозомно-доминантни и спорадични форми, свързани с леки, умерени и тежки фенотипове;
3. Автозомно рецесивна форма, представяща се с тежки и умерени фенотипове.

През последните години трите основни форми на центронуклеарна миопатия са генетично охарактеризирани и те заедно представляват голяма част от случаите на вродените миопатии.

Миотубуларната миопатия с тежък неонатален фенотип е причинена от мутации в гена *MTM1*, разположен в Xq28. X-свързаната миопатия засяга предимно новородени момчета. Някои жени носители проявяват клинични симптоми поради патологична X-инактивация.

Класическата автозомна доминантна форма, свързана с леки, умерени или тежките фенотипове, е причинена от мутации в *DNM2*-гена. *DNM2* кодира динамин-2 (DNM2).

Мутации в гена *BINI*, кодиращ амфифизин 2 са причина за развитие на автозомно рецесивна форма, свързана с умерени или тежки клинични фенотипове [Nicot AS, Toussaint A и съавт., 2007].

Миотубуларната миопатия е X-свързаната форма на центронуклеарната миопатия с честота около 2:100 000 раждания при мъжкия пол [Savarese M, Musumeci O и съавт., 2016].

Повечето пациенти с миотубуларна миопатия имат тежка генерализирана хипотония и мускулна слабост, проявени от раждането, обикновено придружени от тежка респираторна недостатъчност, изискваща изкуствена белодробна вентилация и затруднения при преглъщането, които налагат хранене със стомашна сонда, с цел предотвратяване на аспирация. Освен това, има признаци носочващи към пренатално засягане като: намалени движения на плода, полихидрамнион и изтъняване на ребрата, установени при рентгенография на гръден кош. Често се наблюдават птоза и

офталмоплегия след неонаталния период. Засегнатите момчета са макрозомични и имат различни малформации, включващи стеноза на пилора, криптурхизъм и ингвинална херния. Неонаталната форма има лоша прогноза и повечето пациенти умират през първите месеци от живота [Herman GE, Finegold M и съавт., 1999]. Няма съобщения за кардиомиопатия, нарушения на сърдечната проводимост или други аритмии [McEntagart M, Parsons G и съавт., 2002]. По-малка част от момчетата са относително леко засегнати в неонаталния период и оцеляват до детство и понякога до зряла възраст [Tosch V, Vasli N и съавт., 2010]. Жените обикновено са асимптоматични носители, но малък процент имат мускулна слабост, която обикновено е лека с късно начало в детството или в зряла възраст.

Анамнестичните данни могат да разкрият повтарящи се спонтанни аборти на мъжки фетуси по майчина линия в семейството [McEntagart M, Parsons G и съавт., 2002].

Мускулната биопсия е с характерен висок брой на мускулни влакна с централно разположени ядра, които наподобяват миотубуларни структури и преобладаване на влакна тип 1. На надлъжните разрези в централната част на мускулното влакно присъстват вериги от ядра. На напречни разрези централната област на влакната, заобикаляща ядрата, се характеризира с повишено оцветяване с гликоген и намалена миофибриларна АТФазна реакция. В срезове, оцветени за окислителна ензимна активност, множество мускулни влакна показват централни области с относително повишено оцветяване, често оградени от блед ореол в периферията на влакното. Електронната микроскопия показва централни области на влакната, заети от агрегирани митохондрии и частици гликоген, докато миофиламентите са намалени в тези области и ограничени само в периферията на миофибрилата [Sarnat HB, Roth SI и съавт., 1981].

Автозомни центронуклеарни миопатии - досега са докладвани две генетично идентифицирани форми.

1. Автозомно-доминантната центронуклеарна миопатия, причинена от мутации в гена *DNM2*, кодиращ динамин-2 (*DNM2*) [Bitoun M, Maugendre S и съавт., 2005]

и

2. Автозомно-рецесивна центронуклеарна миопатия, причинена от мутации в гена кодиращ амфифизин 2 (*BINI*) [Nicot AS, Toussaint A и съавт., 2007].

Клинична картина: няколко клинични прояви са свързани с миопатията, възникнала в резултат на мутация в *DNM2* гена.

1. Повечето пациенти имат класически фенотип, който се проявява в средата или в късното детство ( понякога и в зряла възраст) и обикновено е придружен от автозомно доминантна фамилна анамнеза [Bitoun M, Maugendre S и съавт., 2005].

2. Тежък фенотип, характеризиращ се с ранна проява на тежка мускулна слабост, е по-рядък и обикновено е свързан с *de novo* възникнала мутация в *DNM2* [Bitoun M, Bevilacqua JA и съавт., 2007].

3. Съобщава се и за междинни форми [Bitoun M, Bevilacqua JA и съавт., 2009].

В класическата форма на *DNM2*-свързана миопатия развитието на плода в хода на бременността и раждането обикновено са нормални, но впоследствие се наблюдава забавяне в моторното развитие. Затруднено е ходенето, изкачването на стълби и бягането. Други клинични характеристики на заболяването са: наличие на птоза и различна степен на офталмоплегия, обща мускулна слабост и хипотония. Някои пациенти имат умерена степен на слабост на лицевата мускулатура [Denise Cassandrini, Rosanna Trovato и съавт., 2017].

Клинично пациентите с рецесивна *BINI*-свързана миопатия се представят с междинна форма по отношение на тежката *X*-свързана неонатална форма и автозомно-доминантната форма [Nicot AS, Toussaint A и съавт., 2007].

Мускулна биопсия- наблюдава се триада от морфологични промени, характерна за вродена миопатия ,свързана с мутация в *DNM2* гена:

1. Лъчисти саркоплазмени нишки;
2. Увеличен брой централни и вътрешно разположени ядра;
3. Преобладаване на мускулни влакна тип 1 с хипотрофия.

В напречните мускулни срезове централната област от фибрите реагира силно с PAS, фосфоорилаза, и многобройни окислителни ензими, които показват ясно радиално разположение на саркоплазмени нишки, придаващи вид на спици. Пълната хистопатологична триада, описана по-горе, се открива изключително в *DNM2*- свързана центронуклеарна миопатия. Въпреки това, при млади пациенти (т.е. под 5 години) с установена *DNM2*-свързана миопатия, особено в семейства с АД унаследяване, характерната триада може да отсъства при мъжкия пол [Bitoun M, Bevilacqua JA и съавт., 2007].

Мускулните биопсии от пациенти с центронуклеарна миопатия свързана с *BINI* мутации, показват по-голямата част от заоблени атрофични влакна тип 1, с обилни

централно разположени ядра [Claeys KG, Monnier N и съавт., 2009]. Електронната микроскопия показва централно разположени ядра, докато перинуклеарните пространства са заети от митохондрии, ендоплазмен ретикулум, комплекс на Голджи и частици гликоген. Миофибрилите прогресивно намаляват от периферията към централната зона на влакното [Romero NB, 2010].

Според скорошен преглед на италиански пациенти е установено, че около 30% от случаите на центронуклеарна миопатия остават генетично непотвърдени, поради липса на мутации в посочените гени, което предполага, че все още има нови патологични гени, които предстои да бъдат идентифицирани [Fattori F, Maggi L и съавт., 2015].

Миопатия с влакна тип „огърлица“, наблюдавани при мускулната биопсия е свързана с мутации в *MTM1* гена. Среща се при спорадична центронуклеарна миопатия, свързана с *MTM1* гена с късно начало [Bevilacqua JA, Bitoun M и съавт., 2009]. Тези пациенти-жени и мъже клинично се различават от класическата неонатална X-свързана миопатия в резултат на мутация в *MTM1* гена. Клиничната изява е лека по време на детството и се влошава след първото или второто десетилетие от живота [Bevilacqua JA, Bitoun M и съавт., 2009].

Наблюдаваните в биопсичен материал влакна тип огърлица представляват отлагане на цитоплазмен базофилен пръстен, няколко микрометра под сарколемната мембрана. Ултраструктурно огърлиците се състоят от миофибрили с по-малък диаметър, заобиколени от митохондрии, саркоплазмен ретикулум и гликогенови гранули [Hedberg C, Lindberg C и съавт., 2012].

Вродена миопатия с изразена ядрена интернализация и големи и дифузни области на структурна дезорганизация - този наскоро документиран подтип на вродена миопатия се характеризира с изразена ядрена централизация или интернализация, с преобладаване на тип 1 влакна или значителна дезорганизация на нормалната структура на мускулните влакна, като се наблюдават дифузни области, лишени от окислителна активност и АТФ реакция [Bevilacqua JA, Monnier N и съавт., 2011]. Този тип миопатия първоначално е разглеждан като особен морфологичен модел и форма на центронуклеарната миопатия поради високия процент на централно и вътрешно разположени ядра, наблюдавани при мускулни биопсии, извършени през първите месеци на живота.

Въпреки това, молекулярно-генетичните изследвания не показват мутации в гените, за които е известно, че участват в етиологията на центронуклеарната миопатия. От друга страна, областите на структурна дезорганизацията обикновено се появяват по-късно в хода на заболяването. В последствие се доказва, че по-голямата част от пациентите,

спадаци към тази група имат рецесивни мутации в *RYR1* гена [Bevilacqua JA, Monnier N и съавт., 2011].

Клинично пациентите са със смесен фенотип могат да имат неонатална хипотония, забавено двигателно развитие и генерализирана мускулна слабост. Много от пациентите имат изразена слабост на лицевата мускулатура, птоза и офталмоплегия.

### **1.3.4.5 Миопатия с диспропорция на влакната**

Вродената миопатия с диспропорция на влакната се характеризира с наличие на селективна атрофия на мускулни влакна тип 1. Техният диаметърът е най-малко 35% до 40% по-малък от диаметъра на влакна тип 2. Няма други структурни аномалии, които да присъстват в мускулната биопсия. Към днешна дата 10 гена са доказани, че причиняват този тип вродена миопатия. Унаследяването е както автозомно рецесивно, така и автозомно доминантно [Kristl G Claeys, 2020].

Вродената миопатия с диспропорция на влакната се причинява от мутации в гена, кодиращ алфа-тропомиозин-3 (*TPM3*), който може да се унаследява АД или АР. Това е най-честата причина за развитието на вродена миопатия с диспропорции на влакната [Clarke N, Kolski N и съавт., 2008]. В почти всички случаи мутациите в този ген причиняват лека форма на заболяването. Рecessивните мутации в *RYR1* гена са на второ място по честота, отчитайки приблизително 20% от случаите [Clarke NF, Waddell LB и съавт., 2010]. Вродената миопатия с диспропорция на влакната може да бъде причинена и от други генни мутации, показващи автозомно рецесивен (*SEPN1*) или доминиращ (*ACTA1*, *TPM2* и *MYH7*) модел на унаследяване [Brandis A, Aronica E и съавт., 2008].

При засегнатите деца е налице хипотония и лека до тежка генерализирана мускулна слабост от раждането или появяващи се през първата година от живота. Моторното развитие е забавено. Задържането на главата е затруднено. Лицевата мускулната слабост е очевидна, както и слабостта на тазовия и раменния пояс. Сухожилните рефлексии са отслабени или липсващи. При повече от 90% от засегнатите индивиди мускулната слабост е с непрогресиращ характер, но като цяло ходът на заболяването е бавно прогресиращ [Clarke NF, 2011].

Най-малко 30% от засегнатите деца имат значителна слабост на дихателните мускули, което води до неправилно функциониране на гръдния кош. Заболяването може да възникне във всяка възраст. Някои деца развиват симптоми в ранна детска възраст и тези случаи показват тежко респираторно засягане, но това не означава непременно лоша

прогноза. Някои пациенти развиват лека дихателна недостатъчност, която причинява нощна хипоксия и хиперкапния, водеща до симптоми като сутрешно главоболие, умора през деня, намален апетит, загуба на тегло, затруднено заспиване и чести белодробни инфекции, което може да бъде коригирано с използване на СРАР- маска. Дисфагия присъства при 30% от децата. Затрудненията при дъвчане и преглъщане могат да причинят аспирация на храна, течност, слюнка в белите дробове, което да доведе до развитието на аспирационна пневмония. Както и при другите форми на вродена миопатия, зъбно-челюстните аномалии са типични характеристики. Кърмачета с тежка булбарна слабост могат да имат проблеми с храненето, което да налага ентерално хранене или поставяне на гастростома. Контрактури могат да присъстват при раждането или да се появят в по-напреднала възраст в резултат на намалена подвижност поради мускулната хипотония. Контрактури на глезените, пръстите, тазобедрените стави и коленете се срещат при около 25% от засегнатите деца. Вродена луксация на тазобедрената става и плоскостъпието също се срещат. Хипотония и хипотрофия на спиналната мускулатура причиняват ротация на телата на прешлените, в резултат на което възниква сколиоза, кифосколиоза и лордоза в 25% от случаите [Norma Beatriz Romero, Nigel F Clarke, 2013].

За окончателно поставяне на диагнозата вродена миопатия се изследват генетични панели, чрез секвениране от ново поколение.

С изключение на агресивните форми с много ранно начало, вродената миопатия обикновено има доброкачествен клиничен ход и прогноза. Понастоящем не съществува етиологично лечение на заболяването. Необходимо е планиране на подходящи рехабилитационни грижи, както и правилно лечение при сърдечно засягане, при нарушения на дихателните функции и при нарушения в преглъщането, с цел запазване на жизнените функции на пациента, предотвратяване на усложненията и осигуряване на по-добро качество на живот [Wang CH, Dowling JJ и съавт., 2012]. Идентифицирането на мутации и увредените гени имат важно значение, както за прогнозата, така и за предотвратяване на усложненията, предизвикани от засягане на различни органи и системи. Например мониторирането на дихателната функция е от особено значение при пациенти с мутации в *NEB*, *ACTA1* или *SEPN1* гените, а профилактика на сърдечни заболявания при пациенти, носещи мутации в *MYH7* или *TPM2* гени [Nigro V, Savarese M, 2016].

Разработват се нови възможности за терапия на вродена миопатия, причинена от мутация в *Mtm1* гена чрез прилагане в клинична среда AAV8- базирана генна терапия, за

която вече е известно, че подобрява клиничната картина при мишки и води до увеличаване на мускулната сила при кучешки модели.

Повечето ортопедични патологии, наблюдавани при вродена миопатия, са подходящи за консервативно или хирургично лечение. При пациенти с тежка сколиоза е препоръчителна ранна хирургична намеса за запазване на дихателната функция. Нарушенията на дихателната функция могат да се дължат или на слабост на междуребрните мускули или на деформации на гръдния кош, свързани с развитието на сколиоза. В някои случаи настъпва прогресивна дихателна недостатъчност, дори когато мускулната сила на крайниците е относително съхранена. Нощната хиповентиляция е често срещана. Лечението и е от първостепенна важност, поради риск от възникване на внезапна смърт.

Контрактурите на стъпалата могат да се наблюдават при пациенти с дистално засягане и понякога могат да наложат хирургична корекция. Физикалната терапия с цел поддържане на правилната функция на ставите е от ключово значение [Denise Cassandrini, Rosanna Trovato и съавт., 2017].

#### **1.3.4.6 Bethlem миопатия**

Мутации във всеки от трите гена, кодиращи синтеза на колаген VI *COL6A1*, *COL6A2* и *COL6A3*, причиняват два основни типа мускулни нарушения:

1. Ullrich вродена мускулна дистрофия- тежък фенотип;
2. Bethlem миопатия- лек до умерен фенотип.

Миопатия на Bethlem е докладвана за първи път през 1976 г. от Bethlem и van Wijngaarden в Холандия като автозомно доминантна миопатия с ранно начало, но с относително доброкачествен ход, характеризираща се с развитието предимно на контрактури. По-късно е публикуван доклад за голямо френско-канадско родословие с това заболяване, чиито автори предложили името Bethlem миопатия [Mohire MD, Tandan R и съавт., 1988]. Връзката на заболяването с гените на колаген VI е установена за първи път в по-големи семейства в Холандия и САЩ, при които са идентифицирани първите мутации, причиняващи заболяването през 1996 г. [Joëbsis GJ, Keizers H и съавт., 1996] и 1998г. [Pan TC, Zhang RZ и съавт., 1998]. Генетичният анализ при много пациенти с клинично убедителни данни за UCMD и BM изясни, че по-голямата част от пациентите имат

подлежащи доминантни или рецесивни мутации в трите известни колаген VI гени - *COL6A1*, *COL6A2* и *COL6A3* (таблица 9)[Lampe AK, Bushby KM, 2005].

В Обединеното кралство честота на разпространението на миопатията на Bethlem е оценена като 0,77 на 100 000 [Norwood FL, Harling C и съав., 2009].

Колаген VI е важен компонент на извънклетъчния матрикс, който образува миофибриларна мрежа. Открива се и в интерстициалното пространство на много тъкани, включително мускули, кожа, хрущял и междупрешленни дискове. По този начин мутациите на колаген VI гените водят до нарушения с комбинирано засягане на мускули и съединителната тъкан, водещи до развитието на мускулна слабост, халтавост на ставите и контрактури, както и необичайна кожна патология [Kate M. D. Bushby , James Collins и съавт., 2013].

Колаген VI е съставен от три различни пептидни вериги:  $\alpha 1(VI)$ ,  $\alpha 2(VI)$  (и двете с размер 140 kd) и  $\alpha 3(VI)$  (с размер 260–300 kd) [Engvall E, Hessel N и съавт., 1996]  $\alpha 1(VI)$  и  $\alpha 2(VI)$  веригите са кодирани от два гена съответно *COL6A1* и *COL6A2*, локализирани в хромозома 21q22.3 [Heiskanen M, Saitta B и съавт., 1995], докато *COL6A3*, генът отговорен за  $\alpha 3(VI)$  веригата, се локализира в хромозома 2q37 [Weil D, Mattei MG и съавт., 1988]. И трите вериги съдържат централен къс троен спирален домен, изграден от 335–336 аминокиселини, оградени от голям N- и C- терминал, състоящи се приблизително от по 200 аминокиселини всеки, които са хомоложни на фактора на фон Вилебранд (vWF) тип A домените [Chu ML, Pan TC и съавт., 1990].

Таблица 9. Трите гена, кодиращи колаген VI и A веригите [Carsten G Bönnemann, 2011]

| а вериги       | Размер (kDa) | кодиращ ген   | генна позиция |
|----------------|--------------|---------------|---------------|
| $\alpha 1(VI)$ | 140          | <i>COL6A1</i> | 21q22.3       |
| $\alpha 2(VI)$ | 140          | <i>COL6A2</i> | 21q22.3       |
| $\alpha 3(VI)$ | 260–330*     | <i>COL6A3</i> | 2q37          |

Възрастта на поява на оплакванията, свързани с миопатия на Bethlem, е много вариабилна, както и клиничната картина. Дори в рамките на същото семейство може се наблюдава вариабилност по отношение на контрактурите и мускулната слабост [Carsten G Bönnemann, 2011]. Още вътреутробно е възможно да се установят намалени фетални

движения. За заболяването е характерна неонатална хипотония, артрогрипоза, вродена дисплазия на тазобедрена става и тортиколис. По-често началото е в ранна детска възраст с леко изоставане в моторното развитие. Възможна е появата на оплакванията в зряла възраст, но най-късно до шестото десетилетие [Somer H, Laulumaa V и съавт., 1991]. Прогресията е бавна и след петото десетилетие около половината от пациентите се нуждаят от чужда помощ за самообслужване [Pepe G, Bertini E и съавт., 2002]. Средно две трети от пациентите на възраст над 60 години се нуждаят от подкрепа за придвижване [Jońbsis GJ, Boers JM и съавт., 1999]. Пациентите имат лека до умерена мускулна слабост и атрофия на аксиалните мускули и мускулите на крайниците, като проксималните мускули са по-ангажирани от дисталните, екстензорите повече от флексорите. Слабост на шийната и лицевата мускулатура също може да бъде наблюдавана. Отличителен белег на заболяването е наличието на флексиионни контрактури на лактите, китките, глезени и интерфалангеалните стави на последните четири пръста [Merlini L, Morandi L и съавт., 1994]. Наблюдават се контрактури на дъвкателните мускули, раменна, бедрена, колянна става и стъпало (pes cavus). Наличие на контрактури често е съпроводено от ходене на пръсти. Може да се появи и скованост на гръбначния стълб. В ранните етапи на развитието е възможно наличие на хипермобилитет на някои стави, но по-късно се развиват контрактури. Често могат да бъдат срещнати кожни патологии като хипертрофични белези или фоликуларна хиперкератоза. Обикновено сърдечната система е пощадена [de Visser M, de Voogt WG и съавт., 1992]. Засягането на дихателните мускули може да не се прояви до петото или шестото десетилетие [Haq RU, Speer MC и съавт., 1999]. Потенциално усложнение, свързано с прогресията на миопатията, е развитието на респираторна недостатъчност в резултат на рестриктивно белодробно заболяване в комбинация с нарушения във функцията на гръдния кош и слабост на диафрагмалната мускулатура [Haq RU, Speer MC и съавт., 1999].

Таблица 10. Критерии за диагностика на миопатия на Bethlem [Kate M D Bushby<sup>1</sup>, James Collins и съавт., 2014].

| <b>Критерии за диагностика на миопатия на Bethlem</b>     |
|-----------------------------------------------------------|
| Фамилна обремененост                                      |
| Автозомно доминантно (преобладаващо), автозомно рецесивно |
| <b>Характеристики на новороденото</b>                     |

|                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Хипотония, хипермобилитет на дисталните стави, луксация на тазобедрената става, контрактури, тортиколис              |
| <b>Възраст на поява</b>                                                                                              |
| Обикновено в детството до ранна зряла възраст                                                                        |
| <b>Моторни умения и слабост</b>                                                                                      |
| Леко до липса на изоставане в двигателното развитие; всички прохождат                                                |
| Проксимална (в повечето случаи) до генерализирана мускулна слабост, бавно прогресираща във времето                   |
| Мускулна атрофия, предимно на мускулите на раменния пояс и подбедриците                                              |
| <b>Засягане на съединителната тъкан</b>                                                                              |
| Хипермобилитет на дисталните стави може да присъства особено в по-млада възраст                                      |
| Контрактурите се развиват предимно на стъпалото, флексора на показалеца, лакътя и гръбначния стълб                   |
| <b>Характеристики на кожата</b>                                                                                      |
| Хипертрофичен белег, келоид по екстензорната повърхност, хиперкератоза пиларис                                       |
| <b>Други функции</b>                                                                                                 |
| Няма засягане на централната нервна система                                                                          |
| Нормална сърдечна функция                                                                                            |
| Дихателната функция обикновено е нормална до 4-то или 5-то десетилетие                                               |
| <b>Лабораторни критерии</b>                                                                                          |
| Серумна креатинкиназа: нормална до леко повишена                                                                     |
| <b>Мускулна патология</b>                                                                                            |
| Миопатна до дистрофична                                                                                              |
| <b>Оцветяване с мускулен колаген VI</b>                                                                              |
| Обикновено нормално                                                                                                  |
| <b>Оцветяване на култивиран фибробластен колаген VI</b>                                                              |
| Обикновено аномално                                                                                                  |
| <b>Изобразяване на мускулите</b>                                                                                     |
| Периферен повишен сигнал с относително централно щадене на засегнатия мускул. Демонстрира се в правият бедрен мускул |
| Знак „централна сянка“.                                                                                              |
| <b>Генна мутация на колаген VI: гени COL6A1, COL6A2, COL6A3</b>                                                      |

АР миосклерозна миопатия представлява заболяване, което се дължи на мутация в *COL6A2* гена. Терминът "миосклероза" е въведен от Гийом Дюшен през 1868г. [Duchenne GBA, 1868]. Фенотипът на миосклерозата е описан ясно от Lowenthal през 1954 г., когато терминът се използва за обозначаване на развитието на контрактури без наличие на мускулна слабост, а при палпация на мускулите се описва тип „дървесно“ усещане [Bradley WG, Hudgson P и съавт., 1973]. Описана е като патология в резултат на нарушена структура на колаген тип VI [Merlini L, Martoni E и съавт., 2008 ]. Merlini и др. съобщават за двама братя и две сестри с контрактури на стъпалото и затруднено ходене в детска възраст, с постепенна прогресия до многоставни контрактури и появата на тип „дървесни“ мускули (усещане при палпация) [Bradley WG, Hudgson P и съавт., 1973 ].

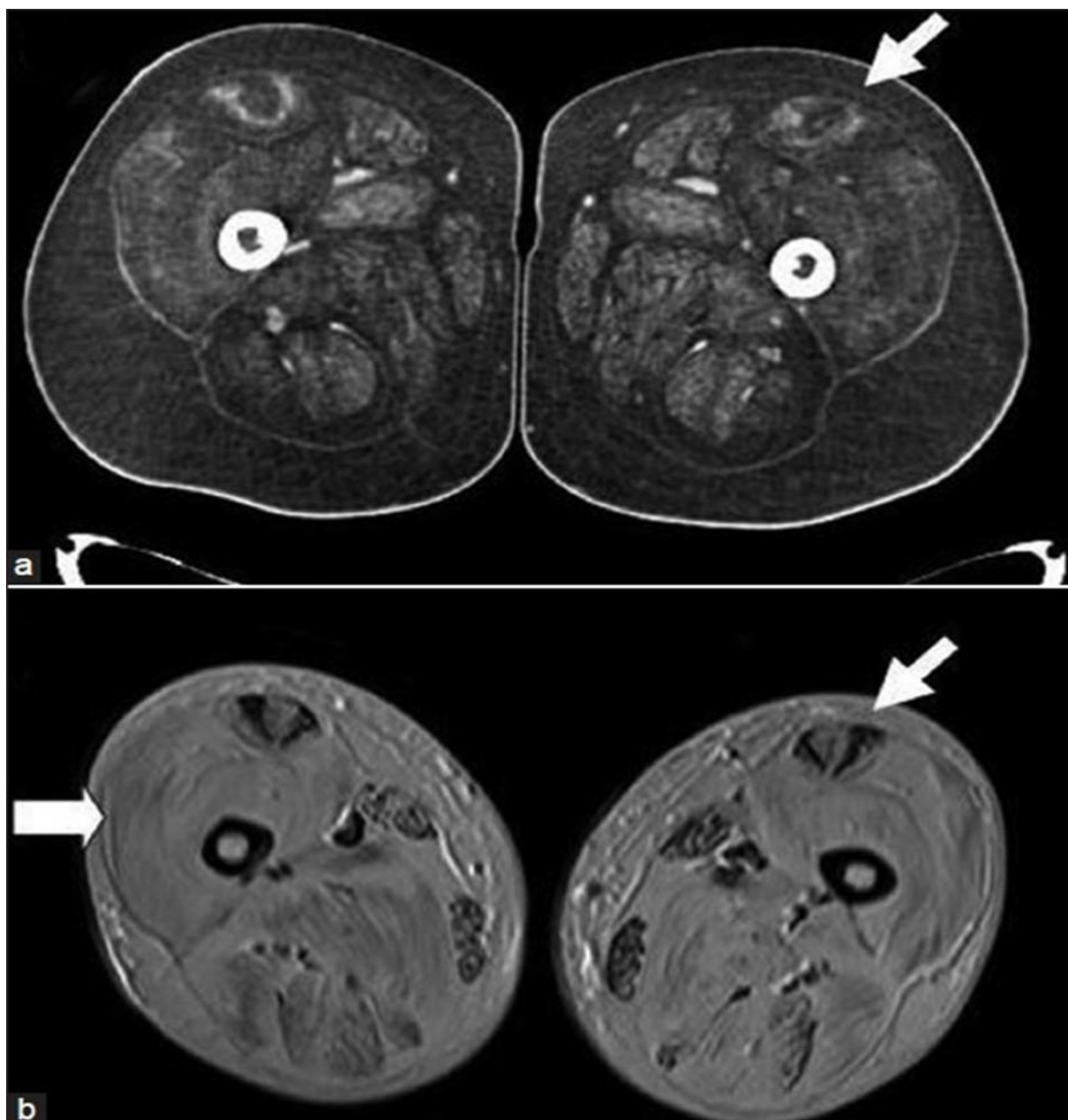
Установена е хомозиготна мутация в *COL6A2* гена, която причинява нарушен синтез на колаген VI в култивирани фибробласти и нарушена структура на колаген VI при оцветяване на базалната ламина на миофибрилите [Merlini L, Martoni E и съавт., 2008 ].

Лабораторни изследвания: СРК обикновено е нормална или повишена до пет пъти над нормата. Стойностите се нормализират с течение на времето.

ЕМГ обикновено показва миогенни промени. Въпреки това, ЕМГ може да бъде нормална или да демонстрира неврогенен тип с продължителна инсерционна активност и намален брой високоамплитудни полифазни потенциали на моторните единици.

МРТ на мускули се очертава като все по-ценно диагностично изследване за пациенти със съмнение за заболяване, свързано с колаген VI, особено при по-леките случаи, при които може да има по-големи диагностични затруднения.

Бедрената мускулатура (фигура 3) демонстрира дифузно засягане с относително щадене на м.сарториус, м. грацилис и аддукторните мускули. Има значително повишен сигнал в периферията на засегнатите мускули с относително оскъден от централната част на мускула. Особено при миопатия на Bethlem има повишен сигнал в предната средна част на правия бедрен мускул, разположена около централната фасция, наречена “централна сянка” [Bonnemann CG, Brockmann K и съавт., 2003]. МРТ на мускулите на прасеца демонстрира дифузно повишен сигнал, включващ предимно м.солеус и м. грастрокнемиус, а м. тибалис антериор е с относително запазен сигнален интензитет [Mercuri E, Counsell S и съавт., 2008].



Фигура 3. МРТ образ на бедрена мускулатура [Kate M D Bushby, James Collins и съавт., 2014].

Мускулната биопсия обикновено разкрива миопатни или дистрофични промени. Имуномаркирането на мускулите често е нормално или показва само фини промени в случаите на миопатия на Bethlem. Имунофлуоресцентният анализ на колаген VI в дермални фибробласти може да предскаже миопатия на Bethlem [ Hicks D, Lampe AK и съавт., 2008].

Наличието на кожни аномалии като хипертрофични белези или фоликуларна хиперкератозата са типични за заболяването [ Haq RU, Speer MC и съавт., 1999].

Засягане на съединителната тъкан- наблюдава се хипермобилитет на дисталните стави, което може да присъства особено в по-млада възраст. Контрактурите се развиват предимно на стъпалото, флексора на показалеца, лакътя и гръбначния стълб (фигура 4) [Kate M D Bushby, James Collins и съавт., 2014].

Потвърждаването на диагнозата се основава на резултата от молекулярно-генетичното изследване с помощта на геномна ДНК, получена от периферна кръв. Мутации в трите гена за колаген VI се установяват в 66 % от лицата, клинично класифицирани като страдащи от миопатия на Bethlem, в 56% от хората с миопатия на Bethlem с необичайно тежък фенотип и в 79% от пациентите с Ullrich мускулна дистрофия [Lampe AK, Bushby KM, 2005]. По-голяма част от случаите на миопатия на Bethlem и Ullrich мускулна дистрофия се дължат на мутации в *COL6A1* и *COL6A2* гените, съответно 38 % и 44 %. Мутации в *COL6A3* обаче са по-рядко срещани. Откриват се само при 18% от общия брой [Kate M D Bushby, James Collins и съавт., 2014].

В зависимост от засегнатите гени и възникналите мутации, патофизиологичните механизми, водещи до увреждане на колаген VI са два: невъзможно сглобяването на отделните компоненти на вътреклетъчната верига на колагена или нарушено нагъване на тетрамерите, след успешен синтез [Lamande SR, Morgelin M и съавт., 2002]. Мутации, които водят до преждевременно прекъсване на синтеза на колагена и нарушаващи сплайсинга, представляват втората най-често срещана причина за миопатия на Bethlem [Zhang RZ, Sabatelli P и съавт., 2002].

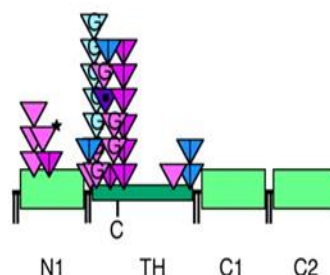


Фигура 4. Типични клинични характеристики на миопатия на Bethlehem (панели А до Е) и вродена мускулна дистрофия на Ullrich (панели F до I) [A K Lampe, K M D Bushby, 2002].

### Mutations with predicted changes

#### UCMD

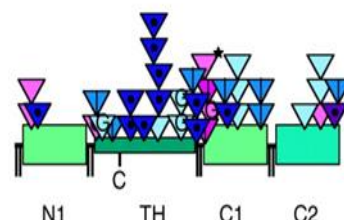
- ▼ Splice site change / in-frame exonic deletion
- ▼ Missensechange ▼ Affecting glycine
- ▼ Insertion / genomic deletion / duplication / splice site change causing frameshift and PTC



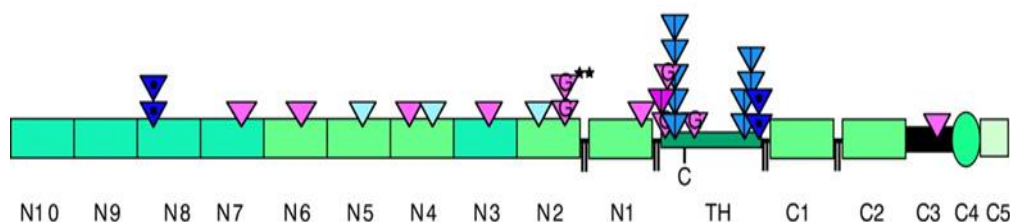
$\alpha 1(VI)$  ~140kDa  
COL6A1 – 21q22.3

#### BM

- ▼ Splice site change / in-frame exonic deletion
- ▼ Missensechange ▼ Affecting glycine
- ▼ Insertion / duplication / splice site change causing frameshift and PTC

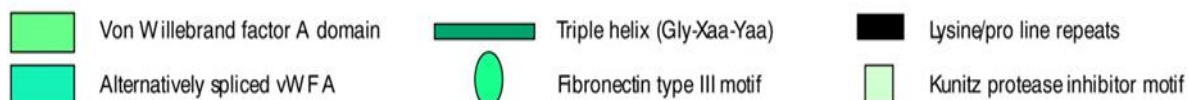


$\alpha 2(VI)$  ~140kDa  
COL6A2 – 21q22.3



$\alpha 3(VI)$  ~300kDa  
COL6A3 – 2q37

- \* Cosegregates in large AD family, not present in 190 control chromosomes
- \*\* Cosegregates in large AD family, not present in 338 control chromosomes, interferes with protein folding



Фигура 5. Геномна организация на колаген VI и локализиране на геномни промени, докладвани за BM и UCMD до момента [A K Lampe, K M D Bushby, 2002].

В диференциално диагностичен план на вродена миопатия на Bethlem най-често са включени мускулна дистрофия на Emery Dreifuss, заболявания на съединителната тъкан и “Central core” вродена миопатия. Подобно на пациенти с миопатия, свързана с колаген VI, повечето пациенти с “Central core” вродената миопатия в резултат на мутации в *RYR1* гена, имат клиника със симетрична проксимална мускулна слабост и променливо засягане на мускулите на лицето и шията. Двигателното развитие обикновено е забавено и в по-тежките случаи заболяването може да започне в ранна възраст с хипотония, гръбначни деформации, контрактури и ранна дихателна недостатъчност.

При мускулната биопсия от пациенти с колаген VI миопатиите може да се наблюдава находка, подобна, както тази при “minicore” миопатия или миопатия с диспропорция на влакната.

Изобразяването на мускулите може да бъде особено полезно за разпознаване на типичния мускулен модел с участието на *RYR1* гена [Jungbluth H, Davis MR и съавт., 2004].

Мускулна дистрофия тип Емери-Драйфус в ДД план. Пациенти с контрактури като основна характеристика на вродената миопатия е важно да се отграничават от случаите на мускулна дистрофия тип Емери-Драйфус, причинена от мутации в *LMNA*, *EMD* и *FHL1* гените. Мускулна дистрофия тип Емери-Драйфус се свързва със сериозно сърдечно засягане, което я диференцира от колаген VI – свързаните миопатии, при които първично сърдечно засягане не се установява [Quijano-Roy S, Mbieleu B и съавт., 2008].

При пациенти със ставна хипермобилност като доминираща характеристика, трябва да се има предвид синдром на Ehlers-Danlos (EDS). Обикновено пациентите с EDS с класическа форма ( *COL5A1* / *COL5A2* мутации) и форми на хипермобилност (*TNXB* мутации), слабост и контрактури са с по-лека клинична картина в сравнение с тази на миопатия тип Bethlem. Освен това пациентите с EDS може да имат свръхеластичност на кожата, което не се наблюдава при свързана с колаген VI миопатия [Kate M. D. Bushby , James Collins и съавт., 2013].

Основата за лечението на колаген VI – свързани миопатии включва оптимизиране на дишането с ранно прилагане на изкуствена белодробна вентилация през нощта в случаите с дихателна недостатъчност. Освен това, ортопедично лечение с укрепване и селективното хирургично лечение на контрактурите и сколиозата може да подобри двигателните функции. Те водят до значително подобрение в качеството на живот и до удължаване на неговата продължителност [Schara U, Kress W и съавт., 2008]. В момента няма лекарствени терапевтични средства използвани за етиологично лечение на миопатия тип Bethlem. Въпреки това, познанията за молекулярната патогенеза на колаген VI-свързани миопатии са помогнали за идентифициране на молекулярни и биохимични пътища, които сега се използват за разработване на потенциални лечения, включително антиапоптоични, анти-фиброзни и генни/РНК терапии.

## 1.4 Кавеолинопатии

Кавеолинопатиите са описани за първи път през 1953 г. от Джордж Палейд, въз основа на електронни микроскопии на ендотелни клетки. Представяват везикуларни инвагинации на плазмената мембрана с размер 50–100 nm с форма на колба [Parton RG, 1996 и Williams TM, Lisanti MO, 2004].

Кавеолите са изградени главно от малки интегрални мембранни протеини (18–24-kDa), кодирани от семейството на кавеолиновите гени (*CAV*), което включва кавеолин-1 (*Cav-1*), кавеолин-2 (*Cav-2*) и кавеолин-3 (*Cav-3*) [Galbiati F, Razani B и съавт., 20016]. *Cav-1* и *Cav-3* са силно хомоложни и споделят характерен структурен мотив (FEDVIAEP), който се запазва при различните видове [Hnasko R, Lisanti MP, 2003].

Гените на кавеолина се експресират в отделни клетъчни видове в скелетната, сърдечната и гладката мускулна тъкан. *Cav-1* и *Cav-2* са идентифицирани в сателитни клетки/ миогенни прекурсори и в култивирани скелетни миобласти по време на пролиферативната фаза от техния жизнен цикъл, докато те стават почти неоткриваеми в диференцираните миоцити [Volonte D, Liu Y и съавт., 2005; Schubert W, Sotgia F и съавт., 2007]. За разлика от това, мускулната изоформа *Cav-3* се открива, когато клетките се приближават към процеса на диференциацията, тоест в напълно диференцирани мускулни клетки [Serra M, Scotlandi K, 2009]. В зрели скелетни и сърдечни миоцити *Cav-3* участва в поддържането на структурата на сарколемния интегритет. Той модулира везикулния транспорт, сигналната трансдукция и участва в поддържането на мускулната хомеостаза. Дефектите в *Cav-3* се асоциират с изменения в сарколемната мембрана, дезорганизация на скелетно-мускулната Т-тубулна мрежа и при разрушаването на отделни клетъчно-сигнални пътища. Първата мутация в *saveolin-3* гена е установена през 1998 г.

*Cav-3* е протеин, съдържащ 151 аминокиселини (АК) и е разделен на 5 отделни домена- N- терминален (1-53 АК), основна част (54-73 АК), трансмембранен (74-106 АК) и С-терминален (107-151 АК) [Танева А., Чамова Т., Търнев И., 2018].

Мутациите в гена *CAV3* са свързани с различни, но често припокриващи се невромускулни заболявания: кавеолин-асоциирана мускулна дистрофия, rippling muscle disease, асимптоматично увеличение на КК и дистална миопатия, както и в редица кардиологични заболявания- фамилна хипертрофична кардиомиопатия, синдром на аритмогенно удължен Q-T интервал и синдром на внезапна детска смърт [Woodman SE, Sotgia F и съавт., 2004].

Rippling muscle disease- „риплинг“ миопатията се характеризира с признаци на повишена мускула възбудимост. Описано за първи път от Торбергсен през 1975 г. [Torberg Torbergsen, 2002 ]. Възрастта на началото на заболяването е променлива (3–36 години). Най-често асоциираните симптоми обикновено са умора, ходене на пръсти, миалгии, хипертрофия на мускулите на горните крайници и скованост на проксималните мускули на долните крайници. Може да се открие псевдохипертрофия на мускулите на подбедрицата [Helene L Roberts, Bruce Day и съавт., 2006].

Важна характеристика на заболяването е появата на серия от мускулни контракции, получени след мускулно разтягане. Контракции са електрически безшумни по време на електромиографския запис. Това се приема като доказателство, че мускулната дисфункция е ограничена до самия контрактилен апарат и че контракциите не са предизвикани от деполяризация на мембраната на мускулните влакна.

Наблюдава се и перкусивно индуцирана бърза мускулна контракция [Torberg Torbergsen, 2002 ].

При провеждането на ЕМГ е установено, че скоростта на последователните мускулни контракции, които са резултат от мускулно разтягане, е приблизително 10 пъти по-бавна от скоростта на разпространение на акционния потенциал на мускулните влакна. Това може да се обясни с втреклетъчен процес, който води до локално свиване само на част от мускула –няколко саркомера. Разтягане на съседния саркомер може да бъде механична стимулация, причиняваща нова мускулна контракция [Ricker K, Moxley RT и съавт., 1989].

Мускулната биопсия показва вариабилност в размера на мускулните влакна и преобладаване на влакна тип 1 [Vorgerd M, Ricker K и съавт., 2001; Betz RC, Schoser BG и съавт., 2001].

Кавеолин-асоциирана мускулна дистрофия- дължаща се на мутация в *Cav3* гена. Начало в детството или в зряла възраст. Характеризира се с лека до умерена проксимална мускулна слабост, положителен симптом на Gowers, псевдохипертрофия на подбедриците, миалгии и серумна креатинкиназа приблизително 4-25 пъти по-висока от нормалните стойности.

При ЕМГ получените резултати варират от нормални до миопатен модел.

Анализ на мускулна биопсия може да покаже вариабилност в размера на мускулните влакна, дегенериращи/регенериращи мускулни клетки, увеличен брой централно разположени ядра и леко заместване на съединителната тъкан.

Това заболяване се характеризира с доброкачествен ход. Няма данни за респираторно засягане. Продължителността на живота е нормална [Minetti C, Sotgia F и съавт., 1998; Kunkel L, 1999; Matsuda C, Hayashi YK и съавт., 2001; Figarella-Branger D, Pouget J и съавт., 2003; Sugie K, Murayama K и съавт., 2004].

Асимптоматично увеличение на креатинкиназата. Наблюдава се повишена серумна концентрация на КК при липса на каквито и да било клинични находки за мускулно заболяване. Серумните нива на КК са приблизително 4-10 пъти по-високи от нормалната стойност. Заболяването може да възникне спорадично или фамилно.

Хистологичният мускулен анализ може да установи леко променени размери на мускулните влакна и няколко централно разположени ядра. Няма други миопатни характеристики [Carbone I, Bruno C и съавт., 2000; Merlini L, Carbone I и съавт., 2002; Fischer D, Schroers A и съавт., 2003; Fee DB, So YT и съавт., 2004; Reijneveld JC, Ginjaar IB и съавт., 2006].

Дистална миопатия- има две съобщения за дистална миопатия, дължаща се на *CAV3* мутации. Интересното е, че и двата случая са свързани със същата Cav-3 аминокиселинна замяна, p.R26Q. Една 25-годишна японка с установена мускулна атрофия на ръцете и краката, с нормална проксимална мускулна сила. Нейното серумно ниво на КК е повишено 25 пъти. Хистологичният анализ от мускулна биопсия от м. бицепс брахии показва леки вариации в размера на мускулните влакната, увеличен брой централизиранни ядра и преобладаване на влакна от тип I [Tateyama M, Aoki M и съавт., 2008; Gonza'lez-Pe'rez P, Gallano P и съавт., 2009].

Второто описание е на пациент с испански произход. Членовете на неговото семейство са развили автозомно доминантна дистална миопатия, засягаща ръцете. Интересното е, че най-младият от членовете показва признаци на мускулна свръхвъзбудимост и увеличени стойности на КК преди дисталната миопатия да стане очевидна клинично. Мускулната биопсия не показва дистрофични промени, но се открива лека промяна в размера на влакната и повишен брой на централните ядра [Gonza'lez-Pe'rez P, Gallano P и съавт., 2009].

Клиничните находки, които могат да насочат към диагнозата на кавесолинопатията са:

- Начало обикновено през първите две десетилетия от живота;
- Прогресивна, проксимална, симетрична мускулна слабост;
- Положителен симптом на Gowers;
- Хипертрофия на прасците;
- Миалгии, крампи и/или скованост след тренировка;

- Мускулната свръхвъзбудимост, проявяваща се като индуцирана от перкусия бърза контракция;
- Мускулни вълни – мускулни контракции, които възникват в резултат на механично разтягане на мускула;
- Повишени нива на серумната креатинкиназа (КК) (5–25 пъти по-високи от нормалната стойност) [E Gazzerro, A Bonetto и съавт., 2011].

Диагнозата се допълва от:

- Установен дефицит на Cav-3 при мускулна биопсия;
- Генетичен анализ чрез директно секвениране;
- Свързано генетично консултиране – подходящо е да се предложи изясняване на статуса на носителство и генетично консултиране (включително обсъждане на потенциалните рискове за потомството и репродуктивните възможности) на млади възрастни, които са засегнати или изложени на риск. Повечето кавеолинопатии се предават с автозомно доминантно унаследяване. Шест автозомно рецесивни *CAV3* мутации са описани [Gazzerro E, Sotgia F и съавт. 2010].
- Кардиологично изследване – необходимо е провеждането на Холтер-ЕКГ и ехокардиография.

Диференциалната диагноза на кавеолинопатиите включва:

Дистрофинопатии - леко засегнатите пациенти показват псевдохипертрофия на подбедриците, завишени стойности на КК и миалгия. Саркогликанопатия, калпаинопатия и дисферлинопатия. Миотонични нарушения - миотонична дистрофия тип 1 и тип 2, миотония конгенита и хиперкалиемична периодична парализа.

Лечение- понастоящем не е налично специфично лечение за кавеолинопатии. Поддържащите грижи са от съществено значение за запазване на мускулната функция. От голямо значение е навременно лечение на усложненията.

- Контрол на телото за избягване на затлъстяването;
- Физиотерапия за предотвратяване на контрактури;
- Социална и емоционална подкрепа и стимулиране на чувството за социална ангажираност и производителност, и намаляване на чувството за социална изолация, които са често срещани при тези пациенти;

- Използването на механични помощни средства като бастуни, проходилки и ортези, необходими за подпомагане на придвижването [E Gazzerro, A Bonetto и съавт., 2011].

## 1.5 Метаболитни миопатии

### 1.5.1 История

Болестта на McArdle е описана за първи път от Brian McArdle през 1951г. Тя е първата описана метаболитна миопатия и е най-често срещаното нарушение на въглехидратния метаболизъм [DiMauro S, Lamperti C, 2001]. Дължи се на мутации в двата алела на *PYGM*- гена.

Болестта на Pompe е описана за първи път през 1932 г. от холандския лекар Joanne Pompe при 7-месечно дете с обща мускулна слабост, починало от идиопатична сърдечна хипертрофия [Lim JA, Li L и съавт., 2014].

### 1.5.2 Епидемиология

Болестта на McArdle (GSD тип 5) е с честота 1 на 40 000 души [De Castro M, Johnston J и съавт., 2015]. Честотата на болестта на Pompe (PD) се различава според етноса и географията; IOPD (инфантилна форма) е с честота 1:138 000 при бялата популация. Честотата на PD се оценява на 1 на 40 000 до 100 000 живородени [Ausems MG, Verbiest J и съавт., 1999] с по-висока честота в конкретна популация като 1 на 15 000 в Тайван [Chien YH, Chiang SC и съавт., 2008] и 1 на 2000 във Френска Гвинея [Elenga N, Verloes A и съавт., 2018], където се провежда неонатален скрининг (NBS). Вероятно в страните, където се провежда NBS, оценката на честотата на PD е по-точна от останалите, в които се съобщават само диагностицираните случаи, поради което честотата на PD може да бъде подценена.

Рецесивните миопатии са по-разпространени в области с близкородствени бракове (Магреб, Близкия изток и Индийския субконтинент) или при изолати (Френска Гвинея) [Al Shehri A., Al-Asmi A. И съав., 2022; Elenga N., Verloes A. И съавт., 2018]. Въпреки това, присъствието на GSD II (дефицит на карнитин-палмитоил трансфераза 2) е по-слабо разпространено в Близкия изток [Al Shehri A., Al-Asmi A. И съав., 2022]. Това може да се дължи на лошо разпознаване на болестта. Интересно е, че многобройни случаи на чувствителен към рибофлавин дефицит на множествена ацил-КоА дехидрогеназа (RR-MADD) са докладвани в далечна Източна Азия и в Иран [Nilipour Y., Fatehi F. и съавт., 2022].

Разпространението на дефицит на тимидин киназа 2 (ТК 2) изглежда е по-високо в Испания и при испано-американците, което предполага наличието на ефект на прародителя [Domínguez-González C., Madruga-Garrido M. и съавт., 2021].

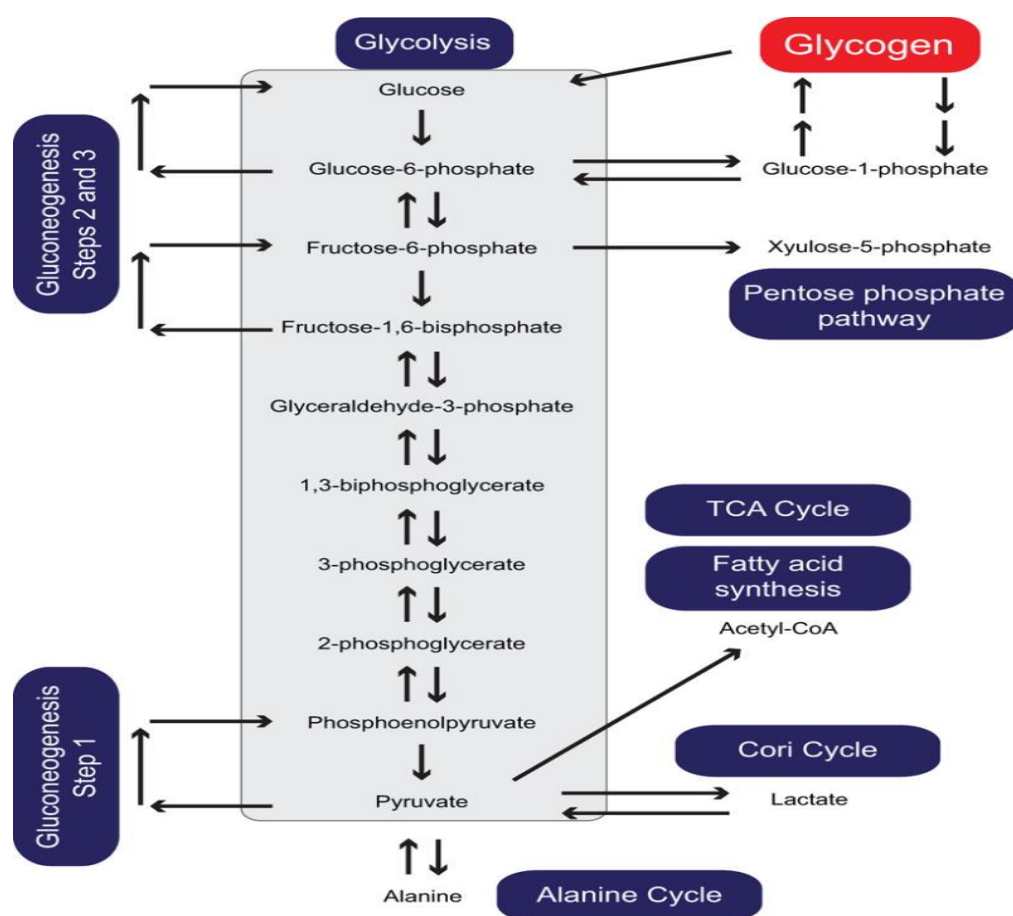
### **1.5.3 Етиология и патогенеза**

Метаболитните миопатии са хетерогенна група, генетично обусловени заболявания, които могат да възникнат във всяка възраст. Характеризират се с дефекти в биохимичните пътища, свързани със съхранение, метаболизиране и използване на субстратите, необходими за генериране на мускулна енергия. Скелетната, сърдечна и гладкомускулната дисфункция, както и засягането на централната нервна система и ендокринната система, допринасят за многообразните прояви на метаболитните миопатии [James B Lilleker, Yann Shern Keh и съавт., 2018].

Повечето от метаболитните миопатии са автозомно-рецесивни, но съществуват миопатии, унаследени от майката (с митохондриален произход) и още по-редки автозомно-доминантни и X-свързани заболявания [Jon Andoni Urtizberea, Gianmarco Severa и съавт., 2023].

Мускулите използват енергия за своето съкращение. Основните източници на енергия в мускулните клетки са аденозин трифосфат (АТФ) и креатин фосфат. Гликогенолизата, разграждането на натрупания в мускулите гликоген, е ключов процес в началото на извършваното движение. След това мускулът преминава към по-устойчив източник на енергия, получен от метаболизма на други въглехидрати и по-късно на липиди. Разграждането на гликогена, който представлява въглехидратен полимер, е от съществено значение за осигуряване на глюкоза на мускулните влакна, който процес се активира в рамките на две секунди след мускулната контракция. За осъществяване на гликолизата е необходим глюкозо-6-фосфат (G-6-P) (фигура 6), който от своя страна се генерира от гликогенолизата. Тези процеси са основни за генериране на енергия за мускулите в покой и по време на периоди на продължителни упражнения с висока интензивност или продължителна изометрична активност. По време на умерени субмаксимални упражнения като плуване или джогинг, разграждането на гликогена е основен източник на енергия, но се осъществява при аеробни условия. Окислението на мастните киселини е процес, който генерира енергия на по-късен етап. По време на гладуване и продължителни (> 1 час) упражнения с ниска интензивност, мастните киселини са основният енергиен източник за мускулите. Митохондриите служат като

краен общ път за производство на аеробна енергия. Симптомите при митохондриалните миопатии се демонстрират по време на аеробни дейности с нисък до умерен интензитет като ходене или джогинг [Tarnopolsky MA, 2006]. Късо- и средноверижните мастни киселини навлизат свободно в митохондриите. По-дългите вериги (LCFA и VLCFA) изискват специфичен начин на транспортиране през вътрешната митохондриална мембрана. Този трансфер се извършва от поне три протеина: ацилкарнитин транслоказа, карнитин палмитоилтрансфераза (CPT) I и CPT II. След това мастните киселини претърпяват процес на катаболизиране, наречен  $\beta$ -окисление в митохондриите, в съчетание с дихателната верига и нейния механизъм за окислително фосфорилиране (OXPHOS) [Jon Andoni Urtizberea, Gianmarco Severa и съавт., 2023].



Фигура 6. Гликолиза и гликогенолиза.

### 1.5.4 Класификация

Метаболитни миопатии, които могат да се появят в зряла възраст са [James B Lilleker, Yann Shern Keh и съавт., 2018]:

► Нарушения на съхранението на гликоген (GSD)

► GSD тип 2: Болест на Помпе

► GSD тип 3: Дефицит на аминок-1,6 глюкозидаза

► GSD тип 4: Болест на Андерсен

► GSD тип 5: Болест на McArdle

► GSD тип 7: Болест на Таруи

► GSD тип 9: дефицит на фосфорил киназа

► Нарушения на окислението на мастни киселини

► Дефицит на карнитин палмитоилтрансфераза II

► дълговерижна ацил-коензим А дехидрогеназа

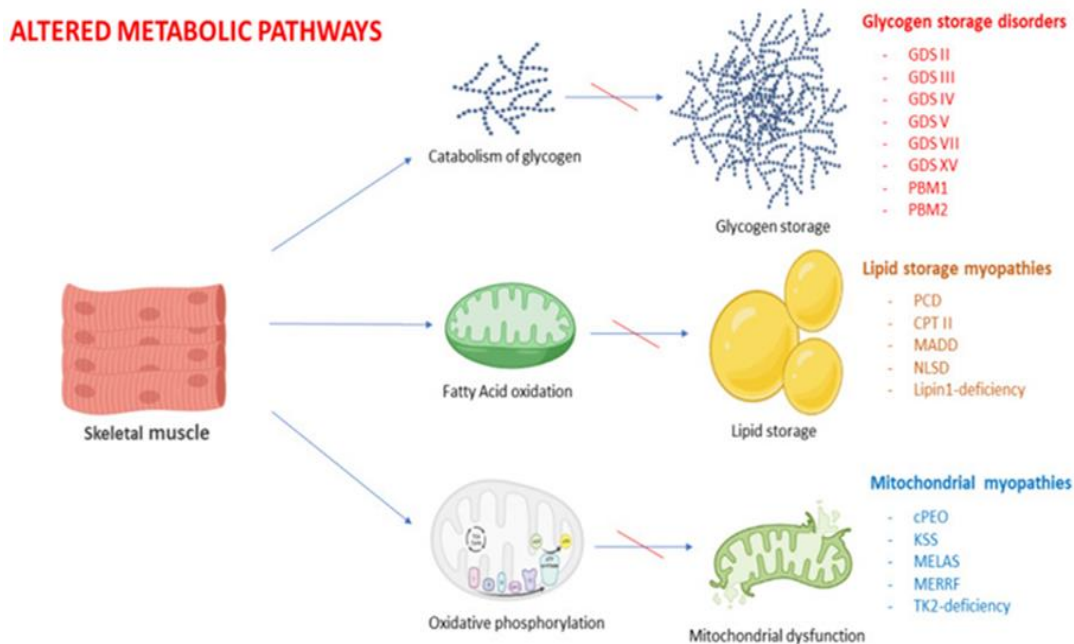
дефицит

► Дефицит на множествена ацил-коензим А дехидрогеназа

► Нарушения на пуриновия метаболизъм

► Дефицит на миоаденилат деаминаза

► Митохондриални нарушения



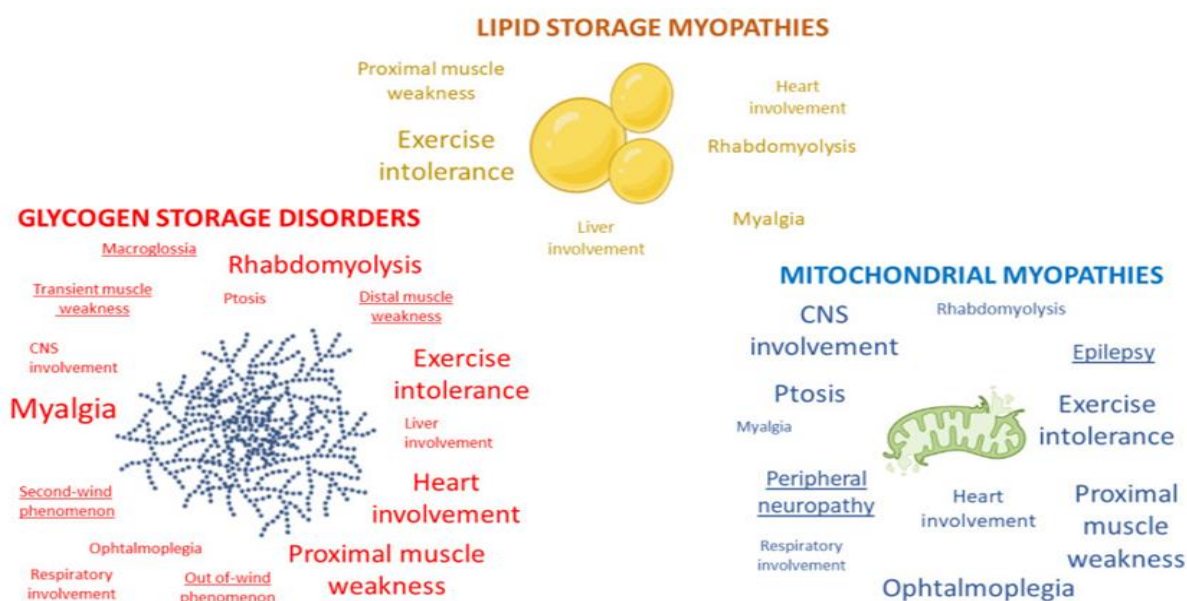
Фигура 7. Общ преглед на променените пътища при метаболитни миопатии [Jon Andoni Urtizberea, Gianmarco Severa и съавт., 2023].

Метаболитните миопатии включват нарушения на съхранението на гликоген (GSD), дефекти на окислението на мастните киселини (FAO) и митохондриални нарушения. Всички имат различна степен на мускулно засягане и са причинени от дефектен протеин, участващ в междинния метаболизъм на глюкозата и мастните киселини [Tarnopolsky M.A, 2016].

Клинични симптоми, насочващи към диагнозата метаболитна миопатия (фигура 8), са: пристъпи на рабдомиолиза, миалгия, мускулни спазми, непоносимост към упражнения и миоглобинурия/пигментурия. Някои пациенти проявяват по-неспецифични симптоми, като непрогресираща или прогресираща мускулна слабост, засягаща тазовата, скапуларната, аксиалната мускулатура и мускулатурата на крайниците [Toscano A., Barca E. И съавт., 2017]. Когато е налице мускулната слабост тя може да варира от лека и локализирана до генерализирана, което води до животозастрашаваща хипотония и респираторна недостатъчност.

Рабдомиолизата е остро увреждане на мускулните влакна, по време на което серумните нива на КК се повишават десет пъти над нормалните стойности, излагайки пациента на риск от тубулна некроза и развитието на фатална полиорганна недостатъчност [Zutt R., van der Kooi A. И съавт., 2014]. Ниво от 10 000 IU/l креатинкиназа е общоприето като праг за откриване на миоглобин в урината (миоглобинурия).

Хроничната миалгия представлява често срещано оплакване в клиничната практика и не е задължително да бъде с метаболитен произход.



Фигура 8. Основни симптоми при метаболитните миопатии [Jon Andoni Urtizberea, Gianmarco Severa и съавт., 2023].

Нарушенията на метаболизма на въглехидрати (GSD) представляват голямо семейство от наследствени заболявания, при които гликолизата или гликогенолизата могат да бъдат нарушени. В по-голямата си част те водят до миопатни симптоми, докато някои от тях са предимно чернодробни по своята клинична изява (GSD I, III и IV). Другите GSD увреждат гликогенолитичния път главно в мускулите (GSD V, VII и IX) или гликолизата (GSD X, XI, XII и XIII) [Toscano A., Barca E и съавт., 2017].

Характеризира се с автозомно рецесивен тип на унаследяване. Мъжете и жените са засегнати в еднаква степен.

Нарушения на въглехидратната обмяна, причиняващи нарушена толерантност при физически упражнения са:

1. Дефицит на миофосфорилаза / Болест на McArdle (GSD V)
2. Дефицит на фосфофруктокиназа (PFK) / болест на Таруи (GSD VII)
3. Дефицит на фосфорилаза b киназа (PHK) (GSD тип IX)
4. Дефицит на фосфоглицерат киназа (PGK)
5. Дефицит на фосфоглицерат мутаза (PGAM) (GSD X)
6. Дефицит на лактатдехидрогеназа (LDH) (GSD XI)
7. Дефицит на алдолаза A (GSD XII)
8. Дефицит на  $\beta$ -енолаза (GSD XIII)
9. Дефицит на фосфоглюкомутаза 1 (PGM1; GSD XIV)

Нарушения на метаболизма на въглехидратите с постоянна мускулна слабост са [Margaret Adler, Perry B. Shieh, 2015]:

1. Дефицит на кисела малтаза / болест на Помпе (GSD II)
2. Дефицит на аминокиселина-1,6 глюкозидаза/ болест на Cori-Forbes (GSD III)
3. Болест на Anderson (GSD IV)

Болестта на McArdle е най-често срещаното нарушение на гликогенолизата и като цяло на въглехидратния метаболизъм. Причинява се от мутации в *PFKM* гена, който кодира специфична за скелетните мускули изоформа на миофосфорилаза (сърдечните и чернодробните изоформи остават незасегнати). Миофосфорилазата катализира превръщането на гликоген в глюкозо-1-фосфат в пътя на гликогенолизата. В резултат на това производството на енергия зависи или от директен приток на глюкоза от кръвния ток (т.е. заобикаляйки дефектната стъпка), или от други метаболитни процеси (напр. метаболизъм на мастни киселини) [Scalco RS, Morrow JM и съавт., 2017].

Клиничните симптоми обикновено се развиват от детството до зрялата възраст. Всички пациенти съобщават за непоносимост към физическо натоварване. Наблюдава се пигментурия след физическо усилие.

За поставяне на диагнозата основно значение има генетичното изследване. p.Arg50Ter (понякога наречена R50X) мутация се среща в до 85% от бялата раса и p.Gly205Ser в до 10% [Martín MA, Lucía A и съавт., 1993]. Мускулната биопсия се извършва по-рядко, особено при тези с типична анамнеза и отразява повишено оцветяване с PAS, в резултат на повишената концентрация на интрамускулния гликоген, който не може да се катаболизира. Количествени тестове за ензимната активност показват много ниска или неоткриваема остатъчна активност на миофосфоорилазата.

Терапия: проучванията предоставят известна подкрепа в насока употребата на ниска доза креатин монохидрат преди тренировка. Прилагат се захароза/глюкоза преди започване на по-тежки физически упражнения и диета с високо съдържание на въглехидрати [Quinlivan R, Martinuzzi A и съавт., 2014]. Витамин B6 (пиридоксин) в ниска доза може да бъде полезен.

Най-често срещаното гликолитично разстройство е болестта на Taui, която засяга ензим в гликолитичния път, наречен фосфофруктокиназа. Пациентите с това заболяване имат много подобни симптоми на пациентите с болест на McArdle, както и на други по-редки форми на гликолитични нарушения, които включват дефицит на фосфоглицерат киназа 1, дефицит на фосфоглюкомутаза и други. Повечето пациенти с нарушения на гликолизата/гликогенолизата съобщават за мускулни крампи през първите секунди до минути на физическата активност. Началото на заболяването обикновено е до второто или третото десетилетие от живота, но може да настъпи дори по-късно, поради адаптацията на повечето пациенти към своето разстройство, водеща до избягване на упражнения или извършването им с много ниска интензивност и постепенно увеличаване на интензивността, при което аеробният метаболизъм остава преобладаващ [Mark A. Tarnopolsky, 2016].

Пациенти с болест на McArdle съобщават за по-лека симптоматика след прием на храна с високо съдържание на въглехидрати, а пациентите с дефекти в гликолизата често съобщават, че оплакванията им се влошават след прием на храна с високо въглехидратно съдържание и се чувстват по-добре след продължителен период на гладуване.

Въпреки че разграждането на гликогена се осъществява предимно от гликоген фосфоорилаза, в малки количества се подлага на лизозомно метаболизиране от кисела а-глюкозидаза (GAA) в процеса на автофагия [Nascimbeni AC, Fanin M и съавт., 2012].

Дефицитът на GAA активност при болест на Pompe води до интрализозомно натрупване на гликоген, което от своя страна предизвиква лизозомна дисфункция и разрушаване [Lim JA, Li L, Raben N и съавт., 2014]. Разкъсването на лизозомните мембрани води до освобождаване на хидролитичен материал, причиняващ клетъчна деструкция.

Болестта на Pompe или гликогеноза тип II или дефицит на кисела малтаза е рядко, хронично невромускулно заболяване [Reuser AJ, van der Ploeg AT и съавт., 2019]. Описана за първи път през 1932 г. от холандския лекар Joanne Pompe при 7-месечно дете с обща мускулна слабост, починало от идиопатична сърдечна хипертрофия. През 1954 г. това заболяване е класифицирано като болест на натрупването на гликоген тип II, но връзката между него, лизозомното натрупване и ензимния дефицит е направена през 1963 г., когато биохимикът Hers открива киселата малтаза [Lim JA, Li L и съавт., 2014].

GAA се синтезира като мембранно свързан прекурсор, каталитично неактивен, с аминокиселинен терминален сигнал. Прекурсорът на GAA се открива в ендоплазмения ретикулум [Dasouki M, Jawdat O и съавт., 2014], където е N-гликозилиран в седем места на гликозилиране [Hermans MM, Wisselaar HA и съавт., 1993; van der Horst GT, Hoefsloot EH и съавт., 1987]. Въглехидратната верига се модифицира в апарата на Голджи и се транспортира в лизозомите, където аминокиселините и карбоксилните краища се отделят в поетапен процес. Фосфорилирането на манозните остатъци индуцира ензимен транспорт до лизозомите чрез маноза 6-фосфатен рецептор и в този органел GAA хидролизира  $\alpha$  1→4 глюкозидна връзка в гликогена при кисело рН [Kornfeld S., 1986; Wisselaar HA, Kroos MA и съавт., 1993]. GAA съдържа пет домена: N1 включва аминокиселинни остатъци от 80 до 136, N2 от 137 до 346, C1 от 727 до 820, C2 от 821 до 952. Каталитичното място е съставено от остатъци от 347 до 726 с цилиндрична структура [McCready ME, Carson NL и съавт., 2007; Kohler L, Puertollano R и съавт., 2008].

Мутационният спектър на GAA е много хетерогенен, генетичните варианти често са специфични, открити само в едно семейство или в малка популация [Herzog A, Hartung R и съавт., 2012; Wan L, Lee CC и съавт., 2008]. Тези варианти могат да бъдат: (I) точкови мутации, които могат да повлияят на функционалността и стабилността на протеина или процеса на сплайсинг, (II) малки и големи делеции и инсерции. Те причиняват транскрипция на нестабилни иРНК с последици върху: синтеза на протеини, пост-транслационни модификации, лизозомален транспорт и в протеолитичната природа на GAA. Най-често съобщаваните миссенс мутации при PD се появяват в неекспонирани аминокиселинни остатъци, причинявайки структурно неправилно нагъване, следователно PD може да се

счита за резултат от нарушено нагъване на протеин [Thirumal Kumar D, Umer Niazullah M и съавт., 2019]. През 2002 г. беше съобщено, че GAA мутациите са локализирани в три критични области на гена: екзон 2, който съдържа началния кодон; екзон 10 и 11, които кодират каталитичното място и екзон 14, който кодира силно консервативна област на GAA протеин [Fernandez-Hojas R, Huie ML и съавт., 2002]. Въпреки това се съобщават мутации в целия ген [Turaça LT, de Faria DO и съавт., 2015; Peruzzo P, Pavan E и съавт., 2019]. База данни за вариантите на GAA на болестта на Помпре (<http://www.pomprevariantdatabase.nl/>), последна актуализация през юни 2019 г., отчита 562 варианта на GAA, сред които 422 са свързани със заболяване и 140 се считат за генетични варианти с неизвестна значимост (GVUS) [Niño MY, In 't Groen SL и съавт., 2019].

Най-често срещаната мутация в бялата раса е с.-32-13T>G (IVS1-13T>G). Тя причинява дефектен сплайсинг, който води до пропускане на екзон 2, намалявайки нивата на синтез (10-20%) на нормалния ензим [Raben N, Nichols RC и съавт., 1995]. Huie и др. описват с.-32-13T>G мутация за първи път при пациент, засегнат от LOPD [Huie ML, Chen AS, Brooks SS и съавт., 1994]. Тази мутация е разположена 13 нуклеотида преди акцепторното място на сплайсинг на GAA в интрон 1 и често се свързва с втора мутация в другия алел на GAA, която обикновено е по-тежка. Разпределението на GAA мутациите се различава в зависимост от етническата принадлежност: del525T (екзон 2) и с.925G>A (екзон 5) са по-чести в Холандия, но те също са открити в други популации [Hirschhorn R, Huie ML, 1999]. При тайванските пациенти най-честата мутация е с.1935C>A (екзон 14); докато с.2560C>T (екзон 18) е често срещан в афро-американската популация.

Клиничният спектър на болестта на Помпре зависи от възрастта на началото. Тежестта на клиничните прояви, увреждането на тъканите и възрастта на началото корелират с естеството на мутациите и нивата на остатъчна ензимна активност [Lim JA, Li L и съавт., 2014]. Доказано е, че делецията на ген, кодиращ ангиотензин-конвертиращия ензим (ACE), причинява увеличение на мускулните влакна тип II и е свързана с ранно начало на болестта на Помпре, мускулна болка, високи нива на серумна активност на КК и по-лоша прогноза за пациентите с LOPD [De Filippi P, Saeidi K и съавт., 2017]. Това проучване демонстрира, че ACE полиморфизмите са генетични фактори, способни да модулират клиничния фенотип на пациенти с ПД.

Болестта на Помпре е автозомно рецесивно заболяване, причинено от патогенен вариант в двете копия на GAA гена. GAA е локализиран в дългото рамо на хромозома 17 (17q25.2-q25.3) и се състои от 20 екзона: първият е не кодиращ, останалите 19 екзона

кодират протеин от 952 аминокиселини с молекулно тегло от 105-kDa [ Kuo WL, Hirschhorn R и съавт., 199]. Понастоящем са докладвани повече от 560 мутации в *GAA* гена. *GAA* катализира хидролизата на  $\alpha$ -1,4 и  $\alpha$ -1,6-глюкозидни връзки на гликогена и неговият дефицит води до лизозомно натрупване на гликоген в няколко тъкани, особено в мускулите [Simona Taverna, Giuseppe Cammarata и съавт., 2020]. Хипогликемията не е отличителен белег на това заболяване, тъй като приносът на производството на глюкоза в резултат на лизозомното разграждане на гликогена е незначителен. Инфантилната форма се появява, когато нивата на *GAA* са под 1%. По-късните форми се появяват, когато активността на *GAA* е между 1-30%. Често се наблюдават повишения на креатинкиназата, лактат дехидрогеназата, аспартат аминотрансферазата (АСАТ), аланин аминотрансферазата (АЛАТ), което предполага мускулно увреждане. Формата със забавено начало обикновено се подозира при индивиди с респираторна недостатъчност и прогресивна проксимална мускулна слабост.

Болестта на Pompe се класифицира в две форми: инфантилна болест на Pompe (IOPD), считана за класическа форма и късна или некласическа форма (Болест на Pompe с късно начало, LOPD), която може да се появи в млада или зряла възраст [Toscano A, Rodolico C и съавт., 2019]. IOPD е по-тежка от LOPD. Започва при раждането или през първите няколко месеца от живота. Характеризира се с тежка кардиомиопатия, мускулна слабост и може да причини смърт през първата година от живота [van Capelle CI, van der Meijden JC и съавт., 2016]. Малък процент от пациентите показват клинични признаци на лека кардиомиопатия през първата година от живота- тази форма на болестта на Pompe се нарича некласическа инфантилна форма [Gupta N, Kazi ZB и съавт., 2020]. Признаците и симптомите на IOPD са: забавяне или регресия на двигателното развитие, хепатомегалия и макроглия, хипертрофична кардиомиопатия и ЕКГ с къс PR интервал, висок волтаж на QRS комплекса, аритмия и сърдечносъдова недостатъчност. Пациентите с тежка форма на болест на Pompe се нуждаят от изкуствена белодробна вентилация.

Признаците и симптомите на LOPD включват: (I) пояс-крайник мускулна слабост, непоносимост към упражнения, слабост на мускулите на крайниците и болка в кръста; (II) дихателна недостатъчност, сънна апнея, диспнея и респираторни инфекции [Търнев И., Чамова Т.Гергелчева В., 2013][han J, Desai AK и съавт., 2017]. Макроглия, хепатомегалия, са редки. Пациентите с LOPD също могат да покажат увреждане на централната нервна система с мозъчни промени. Кохортно проучване демонстрира, че при болест на Pompe разпространението на васкулопатия и долихоектазия на вертебробазиларната система е

по-високо с 50% и аневризми се откриват при повече от 10% от пациентите [Musumeci O, Marino S съавт., 2019]. При тези с LOPD най-честият симптом при диагностицирането е мускулно-скелетно увреждане; 58,7% от пациентите проявяват слабост на проксималните мускули на долните крайници [Filosto M, Cotelli MS и съавт., 2014].

Диагностициране: златният стандарт за диагностика на PD е комбинация от ензимен анализ с генно секвениране [van der Ploeg AT и съавт., 2017]. Диагностичните тестове включват оценка на активността на GAA в левкоцитите или фибробластите. Провежда се иглена ЕМГ за доказване на миогенно увреждане. Пациентите показват рестриктивен тип дихателно нарушение при ФИД [Sara S. Ellingwood and Alan Cheng, 2018].

Мускулната биопсия показва вакуолна миопатия с прекомерно натрупване на лизозомален гликоген и също може да се използва за потвърждаване на диагнозата.

При известна фамилна анамнеза за мутация е възможен пренатален генетичен скрининг. В противен случай активността на GAA може да бъде оценена от проби, получени от амниоцити. Наличието на пълни с гликоген лизозоми в периферните лимфоцити, открити чрез електронна микроскопия и техните вакуоли, наблюдавани чрез светлинен микроскоп в кръвни филми на пациенти, се съобщава през 1977 г.

При липса на лечение на заболяването настъпва летален изход [Broomfield A, Fletcher J и съавт., 2016]. През 2006 г. ензим заместителна терапия (ERT) с рекомбинантна човешка кисела алфа-глюкозидаза (rhGAA) беше одобрена за клинична употреба при пациенти с болест на Pompe в Европа и САЩ [Ronzitti G, Collaud F и съавт., 2019]. RhGAA се прилага интравенозно на всеки две седмици при препоръчителна доза от 20 mg/kg, но при пациенти с IOPD се препоръчват режими с по-високи дози (до 40 mg/kg). Друга одобрена ензим заместителна терапия е Авалглюкозидата. Възможна алтернатива на ERT е генната терапия; тъй като PD е моногенно разстройство, то е идеална цел за разработване на стратегии за генно заместване [Ronzitti G, Collaud F и съавт., 2019]. In vivo генната терапия се състои от прилагане на вектор за доставка на ген, вирусен или невирусен, директно в клетките на пациента [Kohler L, Puertollano R и съавт., 2018]. Важно е провеждането на рехабилитация и в частност дихателна гимнастика. Благодарение на тези мероприятия качеството на живот при пациентите е значително подобро.

Магнитно -резинансната томография на мускули има важна роля за проследяване на пациентите. Lollert и съавт. посочват, че количественото определяне на интрамускулната мастна тъкан при пациенти с LOPD чрез конвенционална МРТ е

полезно за дългосрочно проследяване на ензимната заместителна терапия (ERT) [Lollert A, Stihl C, Hötter AM и съавт., 2018].

Липидните миопатии са наследствени автозомно-рецесивни заболявания, причинени от дефицит на ензими, участващи в процеса на метаболизирането им. Липсата на тези ключови ензими води до натрупване на липидни капчици в няколко органа - кожа, черен дроб, сърце и особено в скелетните мускули [Angelini C., Marozzo R и съавт., 2020]. Такива миопатии включват първичен дефицит на карнитин (PCD), дефицит на ацил-коензим А дехидрогеназа (MADD), болест с натрупване на липиди с ихтиоза (NLSD-I) и болест с натрупване на липиди с миопатия (NLSD-M). Дефицитът на карнитин палмитоил трансфераза (CPT II) традиционно попада в тази група.

Мастните киселини представляват основен елемент за енергийната хомеостаза в сърдечния и скелетните мускули. При някои състояния, като гладуване или продължително физическо натоварване, функционирането на мускулните клетки строго зависи от процеса на окисление на мастните киселини за генериране на енергия. Мастните киселини се класифицират според техния размер на късоверижни, средноверижни и дълговерижни [Tarnopolsky M.A , 2016]. Сред тях дълговерижните са основният субстрат на липидния метаболизъм в клетките.

Дефектите на процесът на окислението на мастните киселини причиняват прогресивно натрупване на неразградени липиди в мускулните клетки. Това води до симптоми като миалгия, непоносимост към упражнения и епизоди на масивна рабдомиолиза с миоглобинурия и бъбречна недостатъчност. Интересното е, че острите епизоди на влошаване не се предизвикват от мускулни упражнения с висока интензивност, а от други фактори, като инфекция, гладуване, продължителни упражнения с ниска интензивност, емоционален стрес. Някои лабораторни изследвания могат да насочат към диагнозата като: повишаване на съотношението свободни мастни киселини /кетони в серума (от 1:1 до повече от 2:1), което предполага блок в  $\beta$ -окислението [Jon Andoni Urtizberea, Gianmarco Severa и съавт., 2023].

Липидни миопатии с нарушена толерантност при физически усилия:

1. Дефицит на карнитин палмитоилтрансфераза II (CPT II).
  2. Дефицит на ацил-КоА дехидрогеназа с много дълга верига (VLCAD)
  3. Дефицит на митохондриален трифункционален протеин (MTP или M-TFP)
- и дълговерижен 3-хидроксиацил-КоА дехидрогеназен дефицит (LCHAD)
4. Дефицит на средноверижна ацил-КоА дехидрогеназа (MCAD)

## 5. Дефицит на ацил-КоА дехидрогеназа с къса верига (SCAD)

Липидни миопатии с постоянна мускулна слабост:

1. Първичен дефицит на карнитин
2. Дефицит на множествено дехидрогениране на Асu1-СoА (MADD) / Глутарова ацидурия тип II
3. Миопатия с неутрално натрупване на липиди (NLSD-M) [Margaret Adler, Perry B. Shieh, 2015]

Митохондриалните миопатии са група от прогресивни мускулни заболявания, причинени от увреждане на окислителното фосфорилиране (OXPHOS). OXPHOS е биохимичен процес, чрез който митохондриите произвеждат енергия в клетките под формата на аденозин трифосфат (АТФ). Миопатията е една от най-честите прояви на митохондриални нарушения в зряла възраст, поради високото потребление на енергия от скелетните мускули. Въпреки това, пациентите с митохондриална миопатия често имат дисфункция в множество други органи и системи, което води до вариабилност в клиничния фенотип и прогноза. [Бориславова В., Докторска дисертация, 2013][Gorman GS, Chinnery PF и съавт., 2016]

Митохондриалната функция е под контрола на два генома: митохондриалния геном (mtDNA) и ядрения геном (nDNA). Като такава, митохондриалната миопатия може да бъде причинена от патогенни генетични варианти във всеки от тях. Митохондриалната миопатия се унаследява: от майката (mtDNA), Х-свързано, автозомно рецесивно или автозомно доминантно. В допълнение, някои сравнително чести митохондриални миопатии възникват *de novo*.

Първичните мутации в митохондриалния геном включват точкови мутации, единични големи делеции, които могат или да бъдат унаследени, или да възникнат спорадично по време на ембриогенезата [Shoffner JM, Lott MT и съавт., 1989].

Пациентите с митохондриални миопатии имат различни клинични фенотипове [Gorman GS, Chinnery PF и съавт., 2016].

Хроничната прогресивна външна офталмоплегия (CPEO) е често срещана проява при пациенти с митохондриална миопатия [Чамова Т., Гергелчева В, Черникова С. Търнев И., 2012][Sommerville EW, Chinnery PF и съавт., 2014] и обикновено включва прогресивна птоза и бавно прогресираща офталмоплегия с или без двойно виждане. CPEO може да възникне

или като изолиран симптом, или като част от мултисистемно заболяване като синдром на Kearns-Sayre и обикновено се свързва с проксимална миопатия.

Проксималната миопатия е най-честата форма на миопатия при пациенти с митохондриална болест. Степента на слабост е променлива и обикновено предизвиква бързонастъпваща умора. При някои пациенти тази слабост е прогресивна и може да засегне диафрагмалната мускулатура и останалите дихателни мускули, което да налага изкуствена белодробна вентилация.

Мускулната болка, предизвикана от физическа активност, е често срещан симптом, намаляващ толерантността към движение. Рядко това може да бъде свързано с рабдомиолиза, която трябва да бъде включена в диференциално диагностичния план на митохондриалните миопатии.

Умората е най-често съобщаваният от пациентите симптом [Gorman GS, Elson JL и съавт., 2015].

Диагнозата на митохондриалните миопатии включва мултидисциплинарен подход. Анамнезата и физикалният преглед са от решаващо значение за разпознаване на заболяването и за определяне на диагностичния план. Необходимо е провеждането на следните изследвания: хистологични и имунохистохимични изследвания, ензимен анализ на OXPHOS комплексите и генетичен анализ на mtDNA. Освен това, ако се подозира ядрена генетична патология, може да се използва секвениране на nDNA.

Мускулна биопсия – може да се наблюдават хистохимични промени в скелетните мускули, които отразяват митохондриална дисфункция, въпреки че при някои пациенти мускулната биопсия може да изглежда нормална. Използва се оцветяването на криосекции на скелетни мускули с модифицирания Gomori Trichrome, което подчертава наличието на накъсани червени влакна (RRF) [Moraes CT, Ricci E и съавт., 1992]. Друга важна диагностична характеристика на митохондриалната миопатия е наличието на цитохром С оксидаза (COX, комплекс IV) отрицателни влакна [Bua E, Johnson J и съавт., 2006]. Диагнозата е възможна при наличие на COX-отрицателни влакна с честота > 5%.

Биохимични изследвания- спектрофотометричните ензимни анализи са важен подход към диагностиката на митохондриални миопатии [Bernier FP, Boneh A и съавт., 2002]. Въпреки това, нормалната ензимна активност на дихателната верига не изключва диагнозата митохондриални миопатии.

Молекулярно-генетични изследвания - използва се секвенирането от следващо поколение (NGS) [Taylor RW, Pyle A и съавт., 2014]. За митохондриалната болест са

докладвани патогенни мутации във всичките 37 mtDNA гени и повече от 254 nDNA-гени [Frazier AE, Thorburn DR и съавт., 2017].

Изследване на съотношението лактат-пируват в серум. Лактатът е продукт на анаеробния метаболизъм на глюкозата, който се натрупва, когато метаболизмът е нарушен [Tarnopolsky MA, Baker SK и съавт., 2004].

Фибробластен растежен фактор 21 (FGF-21), който има регулаторна роля в липидния метаболизъм, може също да се използва като биомаркер на кръвния серум за митохондриални заболявания [Lehtonen JM, Forsstrom S и съавт., 2016].

Използването на тест с натоварване. Непоносимостта към физическо натоварване по време на клиничното наблюдение може да бъде демонстрирана чрез вземане на проби от венозна кръв както по време на, така и след физическо натоварване. Тестът подчертава потенциално повишаване на концентрацията на мускулни метаболити (лактат и пируват) във венозното кръвообръщение [Taivassalo T, Abbott A и съавт., 2002].

Понастоящем няма налично модифициращо заболяването лечение за повечето пациенти с митохондриални миопатии. Вместо това, съществуващите терапевтични възможности се фокусират върху симптоматичното лечение на заболяването, което спомага за подобряване на качеството на живот на пациентите.

Петте най-често използвани добавки са CoQ10 (28%), L-карнитин (25%), витамин D (19%), рибофлавин (16%) и витамин C (12%). CoQ10 е най-широко използваната добавка и трябва да се прилага при повечето пациенти с диагноза митохондриална болест, а не само за първичен дефицит на CoQ10 в стандартната доза от 2 до 8 mg/kg на ден, два пъти дневно с храна [Camp K.M., Krotoski D. и съавт., 2016]. Тези добавки могат да се смесват по различен начин в така наречения „мито коктейл“ - силно индивидуализирана смес от добавки, която може да включва коензим Q10,  $\alpha$ -липоева киселина, витамин E, креатин монохидрат, фолат, витамин B12, витамин D и рибофлавин [Tarnopolsky M.A., 2016].

Упражненията са друг важен терапевтичен подход при пациенти с митохондриални миопатии; по-специално аеробното обучение може ефективно да подобри оксидативния капацитет с благоприятен ефект върху умората и толерантността към ежедневните дейности [Jeppesen T.D., Schwartz M. и съавт., 2006].

Провеждат се редица клинични проучвания за други терапевтични възможности: Убиквинон и аналог на убиквинон CoQ10 при пациенти, които имат рядък вроден дефицит на CoQ10 [Horvath R, Czermin B и съавт., 2012].

Идебенон, синтетичен хининов аналог на CoQ10 с потенциал да възстанови клетъчното генериране на АТФ [Giorgio V, Petronilli V и съавт., 2012]. Той също така действа като антиоксидант, като предпазва липидната мембрана и митохондриите от оксидативно увреждане.

Никотинамид рибозид (NR), форма на витамин В3, е обещаваща стратегия за лечение на митохондриална миопатия [Cantó C, Houtkooper RH и съавт., 2012] и други.

Кетогенните диети, които се състоят от ниско съдържание на въглехидрати и високо съдържание на липиди, са предложени като възможно лечение на митохондриални миопатии [Ahola-Erkkila S, Carroll CJ и съавт., 2010].

Разработването на алтернативни стратегии, които действат на молекулярно ниво за коригиране на митохондриалния геном, се предлагат като терапевтични възможности за митохондриални заболявания. Постига се чрез използването на рестрикционни ендонуклеази, проектирани специално за митохондриите. Подходите са проектирани да разпознават и да се свързват със специфични mtDNA последователности, да индуцират двойноверижно прекъсване и да инициират целево разграждане на мутантната mtDNA в хетероплазмена популация [Reddy P, Ocampo A и съавт., 2015].

В диференциално диагностичен план трябва да се вземат в предвид следните заболявания [James B Lilleker, Yann Shern Keh и съавт., 2018]:

Други нарушения, които могат да се появят с „псевдометаболитна“ картина при възрастни

- ▶ Мускулна дистрофия на Бекер;
- ▶ Мускулни дистрофии тип пояс-крайник;
- ▶ „Вродени“ миопатии, напр. RYR миопатия;
- ▶ Миотонична миопатия: проксимална миотонична миопатия
- ▶ Дефицит на витамин D, дисфункция на щитовидната жлеза.

Има голям напредък в диагностицирането на метаболитните миопатии благодарение използването на NGS (секвениране от следващото поколение), включващо генни панели. Използват се още секвениране на целия екзом (WES) и секвениране на целия геном (WGS) [Ng K.W.P., Chin H.-L. и съавт., 2022]. Общо 30 ядрени гена са свързани с метаболитни

миопатии, установени до момента [Benarroch L., Bonne G. и съавт., 2022]. За вариантен анализ е необходимо прилагането на критериите на Американския колеж по медицинска генетика и геномика (ACMG), разработени през 2015 г. [Richards S., Aziz N. и съавт., 2015].

СРК е физиологично променлива дори при здрави индивиди. Нормалните серумни стойности на СРК (100-300 IU/L според местните норми) не изключват диагнозата метаболитна миопатия. СРК е повишена в покой при повечето въглехидратни миопатии, но обикновено е нормална при най-честите нарушения на липидния метаболизъм.

Изследванията на нервната проводимост и ЕМГ рядко имат голям принос при метаболитни миопатии. В повечето случаи те са с нормални резултати. Има няколко изключения- например неврогенни нарушения може да се наблюдават при някои митохондриални нарушения.

Използването на тъканни биопсии остава преобладаващо при неразрешени случаи или когато диагнозата все още не е ясна след NGS [Kerr M., Hume S., Omar F. и съавт., 2020]. PAS оцветяването е особено полезно при GSD, а ензимните реакции на киселата фосфатаза представляват интерес при болестта на Помпе [Malfatti E., Romero N.B, 2018].

Наличието на липидни капчици е отличителен белег при много мускулни липидози. По-трудно за тълкуване е наличието на накъсани червени и/или COX-отрицателни влакна, които могат да бъдат свързани с истинска първична митохондриална дисфункция или просто със стареене. Ултраструктурните изследвания не са от съществено значение за диагностицирането, освен за доказване на наличието на активна автофагия, типична за болестта на Помпе или паракристални включвания при първични митохондриални миопатии [Malfatti E., Romero N.B, 2018].

Спектроскопията с магнитно-резонансна томография (NMR-S) на мускулите, понякога е полезна при FAO и митохондриалните миопатии [Hwang J.-H., Choi C.S, 2015].

Друг важен момент при метаболитните миопатии е терапевтичният напредък, от който нарастващ брой пациенти се възползват [Tarnopolsky M.A, 2016]. Освен симптоматичното лечение, обещаващ напредък е постигнат с клиничното разработване на следващо поколение ензим- заместителна терапия (ERT) и подходи за генно заместване [Guémy C., Laforêt P, 2013; Byrne B., Bratkovic D. и съавт., 2022]. Въз основа на принципа, че ранното лечение е за предпочитане за осигуряване на по-добра ефикасност, няколко метаболитни миопатии сега се изследват рутинно неонатално на много места [Sawada T., Kido J. и съавт., 2020].

Животът обикновено е съвместим с повечето метаболитни миопатии, с изключения като например ранни дефекти на FAO (окислението на мастните киселини); дефицит на липин-1 и животозастрашаващи метаболитни кризи, включително лактатна ацидоза, тежка хипогликемия и рабдомиолиза [ Angelini C., Marozzo R. И съавт., 2020]. Сърдечният арест и внезапната смърт също трябва да се имат предвид при възрастни, диагностицирани със специфични метаболитни нарушения.

## 1.6 Изводи от литературния обзор:

1.6.1. Вродената миотония е рядко заболяване и показва висока степен на генетично обусловена хетерогенност. Установени са редица мутации в *CLCN1* и *SCN4A* гените, причиняващи развитието на вродена миотония: нонсенс, делеции, дупликации. Има над 200 варианта на *CLCN1* мутации, идентифицирани като увреждащи функцията на хлорния канал. Заболяванията се унаследяват по автозомно доминантен или автозомно рецесивен механизъм. Миотония конгенита е непрогресиращо или бавно прогресиращо заболяване със сравнително доброкачествен ход, неповлияващ продължителността на живота.

1.6.2. Вродените миастенни синдроми имат изключително широк клиничен спектър и разнообразен ход на протичане, както и терапевтично повлияване в зависимост от генетичните дефекти, които ги обуславят. До настоящия момент са установени общо 35 гена, мутации в които водят до развитие на вродени миастенни синдроми.

1.6.3. Вродените миопатии имат сравнително сходен фенотип, който не служи като основа за разграничаване на различните видове, тъй като в повечето случаи клиничната картина се характеризира с наличие на хипотония и мускулна слабост (още при раждането или появяващи се в ранна детска възраст).

1.6.4. Клиничният спектър на вродените миопатии варира от тежки неонатални форми с вродена артрогрипоза до леки форми с начало в детска възраст с непрогресивна мускулна слабост и хипотония.

1.6.5. Класификацията на вродените миопатии се основава на хистопатологичните данни. Няма етиологична терапия за заболяването.

1.6.6. Някои от метаболитните миопатии са лечими заболявания, в частност Болест на Помпе. Фенотипът на заболяването зависи от възрастта на началото.

1.6.7. Тежестта на клиничните прояви на болеста на Помпе, увреждането на тъканите и възрастта на началото корелират с естеството на мутациите в *GAA* гена и нивата на остатъчна ензимна активност. През 2006 г. се постави началото на ензим заместителна терапия (ERT) с рекомбинантна човешка кисела алфа-глюкозидаза (rhGAA) при пациентите с болест на Помпе.

## **2. Цели и задачи**

### **2.1 Цели на проучването:**

1. Да се определят генетичните дефекти при българските пациенти, обуславящи развитието на следните невромускулни заболявания: вродени миотонии, вродени миопатии, кавеолинопатии, метаболитни миопатии и вродени миастенни синдроми.
2. Да се изяснят съществуващите генотип-фенотип корелации, при гореописаните заболявания, при български пациенти.

### **2.2 Задачи на проучването:**

За постигането на гореописаните цели са поставени следните задачи:

1. Събиране на кохорти от пациенти със следните клинични характеристики:
  - Миотония, появяваща се след период на покой и преминаваща след раздвижване, както и псевдоатлетичен хабитус при вродени миотонии;
  - Мускулна слабост, мускулна хипотония, както и наличието на редица костни деформитети при вродени миопатии;
  - Прогресивна, проксимална, симетрична мускулна слабост, хипертрофия на прасците, миалгия, миотония, появяваща се след покой, мускулна свръхвъзбудимост, проявяваща се като индуцирана от перкусия бърза контракция; мускулни контракции, които възникват в резултат на механично разтягане на мускула при кавеолинопатии;
  - Прогресираща мускулна слабост, засягаща тазовата, скапуларната, аксиалната мускулатура и мускулатурата на крайниците, миалгия, мускулни спазми и непоносимост към упражнения при метаболитни миопатии.
2. Извършване на генеалогичен анализ на семействата на тези пациенти.

3. Потвърждаване на диагнозата с провеждането на молекулярно-генетичен анализ.
4. Провеждане на подробно клинично изследване на пациентите за прецизно определяне на клиничния им фенотип.
5. Информирание на пациентите относно стандартите на грижа и необходимостта от ежегодно проследяване на дихателната и сърдечната функция.
6. Насочване на пациентите и техните семейства за провеждане на генетично консултиране и информирание за възможността за генетична профилактика в семейството.
7. Включване на пациентите в регистри, за включване в провеждането на бъдещо етиологично и патогенетично лечение.

### 3. Клиничен контингент и методи на изследване

#### 3.1 Контингент

Пациентите са диагностицирани в Експертния център по наследствени неврологични и метаболитни заболявания към УМБАЛ „Александровска“.

В дисертационния труд са включени общо 125 генетично верифицирани пациенти, разпределени както следва:

- 12 пациента с Вродена миотония с автозомно-рецесивно унаследяване - Генерализирана миотония на Бекер;
- 2 пациента с Натриево-канална миотония;
- 1 пациент с Хипокалиемична периодична парализа;
- 1 пациент с Парадоксална миотония;
- 2 пациента с Кавеолинопатия- „Rippling“ миопатия;
- 5 пациента с Миопатия на Bethlem;
- 2 пациента със “Central core” миопатия;
- 1 пациент с алфа-В кристалинопатия;
- 9 пациента с Болест на Помпе;
- 91 пациента с Вроден миастенен синдром.

Шест от пациентите, с диагноза Вродена миопатия, са диагностицирани чрез екзомно секвениране в The John Walton Muscular Dystrophy Research Centre, в университета Нюкасл, Великобритания по международен научен проект My-Seq.

Един пациент, с Вродена миопатия, е диагностициран чрез цялостно екзомно секвениране, последвано от таргетен анализ на 466 гена от панел „Вродена миопатия“ в Генетична и медико-диагностична лаборатория „Cell genetics“.

Един пациент, с Вродена миопатия, е диагностициран чрез генетичен анализ на 143 гена включени в цялостен панел за невромускулни заболявания и допълнителни гени за предварителна оценка за наличие на невромускулно заболяване в генетична лаборатория „Invitae“.

Седемнадесет пациента, с Каналалопатия и Rippling миопатия, са диагностицирани в Медикодиагностична лаборатория „Геника“.

Девет пациента, с болест на Pompe, са диагностицирани в University Medical Centre, metabolic laboratory, Хамбург.

Деветдесет и един пациента, с вроден миастенен синдром, са диагностицирани в Национална генетична лаборатория и Института по генетична медицина, Университет на Нюкасл, Великобритания.

### **3.2 Методи на изследване**

При всички пациенти, с цел поставяне на окончателна диагноза, проследяване на състоянието им в динамика, както и отчитане на ефекта от провежданата терапия, са проведени следните изследвания:

1. Подробна анамнеза, вкл. фамилна;
2. Неврологичен статус;
3. Електромиография (ЕМГ)– за оценка и охарактеризиране на мускулното увреждане;
4. Лабораторни изследвания: креатинкиназа (КК);
5. Функционално изследване на дишането (Спирометрия) за оценка на белодробната функция;
6. Електрокардиография (ЕКГ) и ехокардиография (ЕхоКГ) за оценка на сърдечния статус;
7. Физиотерапевтична оценка- провежда се мануално мускулно тестване за оценка на мускулната слабост в отделните мускулни групи посредством скала MRC (Medical research council)- приложение #1;
8. Молекулярно-генетичен анализ с цел потвърждаване на клиничната диагноза;
9. Специфични въпросници за оценка на тежестта на миотонията и влиянието ѝ върху качеството на живот при пациенти с диагноза Генерализирана миотония на Бекер и Натриево-канална миотония. За клинична оценка на състоянието се използват Timed Up and Go (TUG) тест и Time-stands test (TST).

Timed Up and Go (TUG) тест- Пациентът започва теста в седнало положение на стол с височина 45см., изправя се при команда на лекаря, изминава 3 метра разстояние, обръща се, връща се до стола и сядва. Отчита се времето, за което пациентът се справя със задачата. Пациентите се придвижват с обичайната си скорост. Здравите хора изпълняват теста за по-малко от 10 секунди.

Time-stands test (TST) – използва се стол с височина обикновено 43-45 см. Пациентът се инструктира да стане и да седне 10 последователни пъти, възможно най-бързо. Отчитането на времето завършва, когато пациентът седне на стола след 10-тото повторение. Неспособността да се изпълнят десет повторения без помощ или използване на опора на горен крайник показва неуспех на теста.

10. Скала за тежестта на вродената миастения- за оценка на тежестта на основните клинично проявени симптоми. Всички пациенти са изследвани по скала (Congenital Myasthenic Syndrome Combined Child/Adult form- приложение #2). Пациентите бяха оценени по следните клинични прояви:

1. Очни симптоми (офталмопареза и птоза);
2. Булбарна слабост;
3. Слабост на аксиалните мускули;
4. Слабост на проксималните и дисталните мускули на четирите крайника;
5. Дихателна функция.

За изследване на диплопия, птоза, аксиална, проксимална и дистална мускулна слабост се използват упражнения за различни части на тялото, например следи се за поява на диплопия и птоза след продължително гледане нагоре, измерване на аксиалната сила чрез задържане на главата повдигната на  $45^{\circ}$  от легнало положение, за максимално време 2 минути. Оценка на проксималната слабост на горния крайник чрез задържане на ръката отведена на  $90^{\circ}$  от седнало положение, максимално време 4 минути и задържане на крака на  $45^{\circ}$  от легнало положение, максимално време 100 секунди, всеки крак се изследва поотделно. Аксиалната слабост се измерва чрез времето, необходимо за изправяне от пода преди и след описаните тестове за мускулна сила. Дихателната функция се оценява чрез спирометрия в седнало и легнало положение.

## 4. Резултати и обсъждане

### Генотип-фенотип корелации

#### 4.1 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 12 пациенти с поставена диагноза: Вродена миотония с автозомно рецесивен тип на унаследяване- генерализирана миотония на Бекер

Средната възраст на проява на симптомите при пациентите с Вродена миотония тип Бекер е  $5.5\text{г.} \pm 4.04$ , с вариация от 1г. до 15 г.в.

- За жените-  $5.5\text{г.} \pm 4.7$ , с вариация от 2г.6м. до 11г.в.
- За мъжете-  $5.5\text{г.} \pm 4.1$ , с вариация от 1 до 15г.в.

Средната възраст при поставяне на диагнозата:  $26.9\text{г.} \pm 18.8$ , с вариация от 5г. до 56г.в.

- За жени-  $23\text{г.}6. \pm 25.8$ , с вариация от 4г. до 53г.в.
- За мъже-  $28\text{г.} \pm 17.7$ , с вариация от 5г. до 56г.в.

Средната възраст по време на изследването:  $23.6\text{г.} \pm 20.05$ , с вариация от 3г.6м. до 56г.в.

- За жени:  $25.5\text{г.} \pm 25.1$ , с вариация от 3г.6м. до 53г.в.
- За мъже:  $19.6\text{г.} \pm 17.8$ , с вариация от 5г. до 56г.в.

Периодът на забавяне на диагнозата:  $21.4\text{г.} \pm 19.8$ , с вариация от 1г.6м. до 52г.

- За жени:  $18.2\text{г.} \pm 27.5$ , с вариация от 1г.6м. до 50г.
- За мъже:  $22.5\text{г.} \pm 18.5$ , с вариация от 2г. до 52г.

Клиничните прояви на българските пациенти с вродена миотония тип Бекер са представени на таблица 11.

Таблица 11. Клинични характеристики и резултати от проведените изследвания при пациентите при Вродена миотония тип Бекер.

| Пациент номер     | 1   | 2     | 3    | 4   | 5   | 6    | 7   | 8   | 9      | 10  | 11  | 12  |
|-------------------|-----|-------|------|-----|-----|------|-----|-----|--------|-----|-----|-----|
| Възраст на начало | 4г. | 2.5г. | 11г. | 6г. | 7г. | 15г. | 7г. | 1г. | 2г.6м. | 3г. | 3г. | 4г. |

|                                                      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
|------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Възраст при поставяне на диагнозата                  | 25  | 5   | 14  | 51  | 21  | 17  | 21  | 13  | 4   | 53  | 43  | 56г. |
| Пол                                                  | М   | М   | Ж   | М   | М   | М   | М   | М   | Ж   | Ж   | М   | М    |
| Перкуссионни миотонични феномени                     | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +    |
| Акционни миотонични феномени                         | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +    |
| Warm up-феномен                                      | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +    |
| Псевдоатлетичен хабитус                              | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +   | +    |
| Скъсени Ахилесови сухожилия                          | -   | +   | -   | -   | -   | -   | +   | +   | -   | -   | -   | +    |
| Сухожилна хипорефлексия                              | -   | -   | -   | +   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | +    |
| Намалена мускулна сила в мускулатурата на крайниците | -   | -   | -   | +   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -    |
| Миотония на лицевата мускулатура                     | -   | -   | -   | +   | -   | -   | -   | -   | -   | +   | -   | -    |
| Миалгия                                              | -   | -   | -   | +   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -    |
| Засилване на оплакванията при охлаждане              | Не  | Да  | Не  | Да  | Не  | Не  | Не  | Да  | Не  | Да  | Не  | Не   |
| Фамилна обремененост                                 | Да  | Не  | Не  | Не  | Не  | Не  | Не  | Не  | Да  | Да  | Не  | Не   |
| Прогресия на оплакванията с времето                  | Не  | Да  | Да  | Да  | Да  | Да  | Да  | Да  | Да  | Да  | Не  | Не   |
| СРК норма до 190 U/l                                 | 246 | 162 | 184 | 199 | 685 | 172 | 322 | 717 | 127 | 120 | 427 | 162  |
| ФЕО1                                                 |     | 76% |     |     | 64% | 96% | 98% |     |     | 69% |     |      |
| ФВК                                                  |     | 64% |     |     | 65% | 81% | 83% |     |     | 68% |     |      |

Прояви на заболяването:

При всички болни водещ симптом е усещането за стегнатост на мускулатурата, предимно за проксималните мускули на долните крайници, продължаваща няколко секунди, по-силно изразена е при започване на движение и отзвучава след раздвижване (по-трудно се изправят от седнало положение, изпитват затруднение при инициация на движение- ходене, бягане, изкачване на стълби, трудно отпускат пръстите на ръката след свиването им в юмрук). При всички се установява псевдоатлетичен хабитус (фигура 9 и 10). При един пациент от мъжки пол е налице по-силно развита мускулатура още от неонаталния период. При 4/12- оплакванията се засилват при по-ниска температура на околната среда. Всички пациенти са с нормално моторно и невропсихично развитие. 9/12 съобщават за бавна прогресия на оплакванията във времето. При 3/12 са налице данни за фамилна обремененост по отношение на миотония конгенита. 1/12 пациент съобщава за възникване на преходна мускулна слабост след преминаване на миотонията. 2/12 съобщават за стегнатост, локализирана освен в мускулите на крайниците, и в лицевата мускулатура. При 1/12 е налице миотония на дъвкателната мускулатура, която затруднява преглъщането. 1/12 съобщава за стегнатост на мускулатурата на шиен и лумбален отдел. 1/12 съобщава за наличие на парестезии в долните крайници придружаващи миотонията. При 1/12 миотонията се съпровожда с миалгия.

От неврологичния статус при всички пациенти се установяват изразени перкусионни и акционни миотонични феномени, както и warm up феномен. При 4/12 пациенти е налице скъсяване на Ахилесовите сухожилия. Двама са с генерализирана сухожилна хиперрефлексия. При един от тях се установяват поликинетични Ахилови рефлексии, фин тремор в покой, който се усилва при движение и фин интенционен тремор. При 1/12 обективно се установява намалена мускулна сила в дисталните отдели на ръцете, повишен мускулен тонус в четирите крайника и сухожилна хипорефлексия.

От проведените лабораторни и инструментални изследвания- 6/12 пациенти са със завишени стойности на КК. Средно увеличение на КК- 2.2 пъти над нормата  $\pm 1.2$ . 1/10 пациент е с установена сърдечна патология от ЕхоКГ, в резултат на коморбидитен (Захарен диабет тип 2, дислипидемия, артериална хипертония 3ст., поставен аорто-коронарен байпас) (таблица 12). Девет пациента, при които е проведена ЕКГ са с нормални параметри. При 11/12 пациенти се откриват електрични миотонични

феномени- пациенти #1, #3, #4, #5, #6, #7, #8, #9, #10, #11, #12. При 6/12 пациенти се откриват ЕМГ данни за миогенна увреда- пациенти #2, #3, #7, #10, #11, #12.

Таблица 12- резултати от проведените ЕхоКГ и ЕКГ.

| Пациент | ЕхоКГ                                                                                                                                                                                           | ЕКГ                                                                                                                   |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | Запазени размери на сърдечни кухини. Запазена помпена функция. Пулмонална регургитация- умерена степен. Диастолна дисфункция от типа на удължена релаксация.                                    | Синусов ритъм, индиферентна позиция, без реполяризационни промени.                                                    |
| 3       | ФИ 75%. Ехо данни за лекостепенна митрална регургитация, граничеща с физиологичната. Запазена функция и контрактилитет.                                                                         | Десен позиционен тип, несигнификантна ST- депресия срещу левите отвеждания.                                           |
| 4       | Запазена систолна функция и кинетика.                                                                                                                                                           | Синусов ритъм, вертикална електрична сърдечна ос, СЧ 90уд/мин.                                                        |
| 5       | Лека левокамерна хипертрофия, при запазена функция и кинетика. Органично непроменен клапен апарат.                                                                                              | Синусов ритъм, СЧ 60у/мин, без реполяризационни промени.                                                              |
| 6       | ФИ 67%, морфологично и функционално здраво сърце.                                                                                                                                               | СЧ 60уд/мин, синусов ритъм, вертикална електрична позиция, непълен десен бедрен блок, нормална реполяризация.         |
| 7       | Лява камера (ЛК) с нормални размери и функция, горногранична дясна камера.                                                                                                                      | Синусов ритъм, СЧ 74уд/мин.                                                                                           |
| 8       | Нормална в морфологичен и функционален аспект ЕхоКГ, при съхранена глобална и регионална систолна функция на лява камера.                                                                       | Синусов ритъм, нормално атриовентрикуларно проводно време, полухоризонтална позиция, без ритмично-проводни нарушения. |
| 10      | ФИ 69% Заключение: ЛК със запазени размери и обеми. Запазена систолна и диастолна функция в покой. Без нарушение на миокардната кинетика в покой. Интактен клапен апарат. Без перикарден излив. | Синусов ритъм, лява електрична ос, леки реполяризационни ST-T промени в долните отвеждания, СЧ 86уд/мин.              |
| 11      | ФИ 60%. Запазена ЛК функция и кинетика.                                                                                                                                                         | Синусов ритъм, СЧ 70уд/мин, без реполяризационни промени.                                                             |
| 12      | ФИ 40%. . ЛК- нормални размери, понижена ФИ, диастолна дисфункция. Нискостепенна аортна регургитация. Средностепенна митрална регургитация. Повишено СПН.                                       | Синусов ритъм, лява електрична ос.                                                                                    |



Фигура 9. Хипертрофия на мускулатурата на мишницата при пациент #11, на 43г.в.



Фигура 10. Хипертрофия на мускулатурата на двете подбедрици при пациент #11, на 43г.в.

Timed Up and Go (TUG) тест и Time-stands test (TST) за оценка на миотонията (таблица 13). Изследвани са 9 пациенти.

Таблица 13. Резултати от TUG и TST тестове при българските пациенти с вродена миотония на Бекер.

| Пациент | TUG- тест | TST- тест |
|---------|-----------|-----------|
| 1       | 9s.       | 24s.      |
| 2       | 16s.      | 74s.      |
| 3       | 18s.      | 58s.      |
| 4       | 11.6s.    | 22.5s.    |
| 5       | 5s.       | 21s.      |
| 6       | 7.3s.     | 20.8s.    |
| 7       | 21s.      | 31s.      |
| 11      | 15.9s.    | 31s.      |
| 12      | 17s.      | 33s.      |

6/9 от пациентите изпълняват TUG тест за време повече от 10s. (норма до 10s.)

9/9 от пациентите успяват да изпълнят 10 повторения при TST- теста.

Провежданата терапия при българските пациенти с Вродена миотония тип Бекер е представена на таблица 14.

Таблица 14. Проведена терапия при българските пациенти с вродена миотония на Бекер

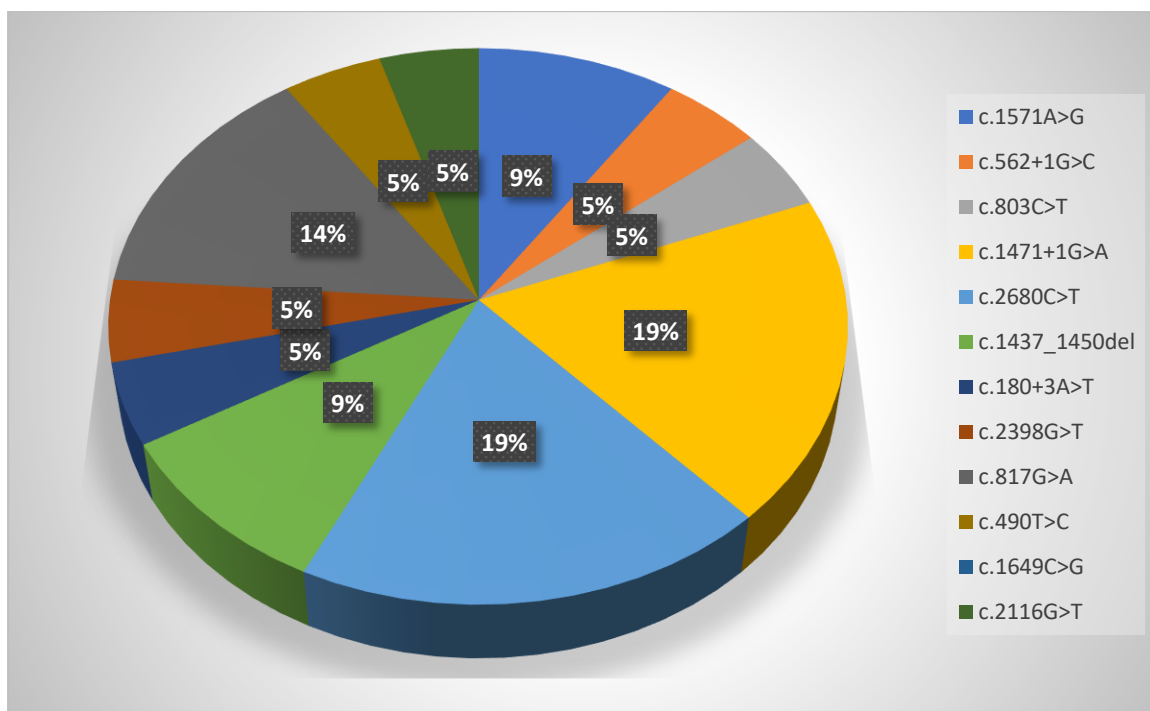
|                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1-ви не провежда терапия.                                                                                            |
| 2-ри пациент – препоръчана терапия с 2x200мг. Карбамазепин.                                                          |
| 3-ти пациент - проведена терапия с Карбамазепин 2x200мг., без задоволителен ефект.                                   |
| 4-ти пациент- препоръчана терапия с Фенитоин 100-400мг. веднъж дневно.                                               |
| 5-ти пациент – проведена терапия с Карбамазепин 2x300мг., без задоволителен ефект. Препоръчана терапия с Мексилетин. |
| 6-ти пациент- препоръчана терапия с Карбамазепин 2x150мг.                                                            |
| 7-ми пациент- проведена терапия с Карбамазепин, без задоволителен ефект. Препоръчана терапия с Мексилетин 3x200мг.   |
| 8-ми пациент- препоръчана терапия с Мексилетин 3x150мг.                                                              |
| 9-ти пациент не провежда терапия.                                                                                    |
| 10-ти пациент – проведена терапия с Карбамазепин 2x300мг. без задоволителен ефект.                                   |

11-ти пациент- насочен за започване на терапия с Карбамазепин 300мг.

12-ти пациент не е провеждал медикаментозна терапия.

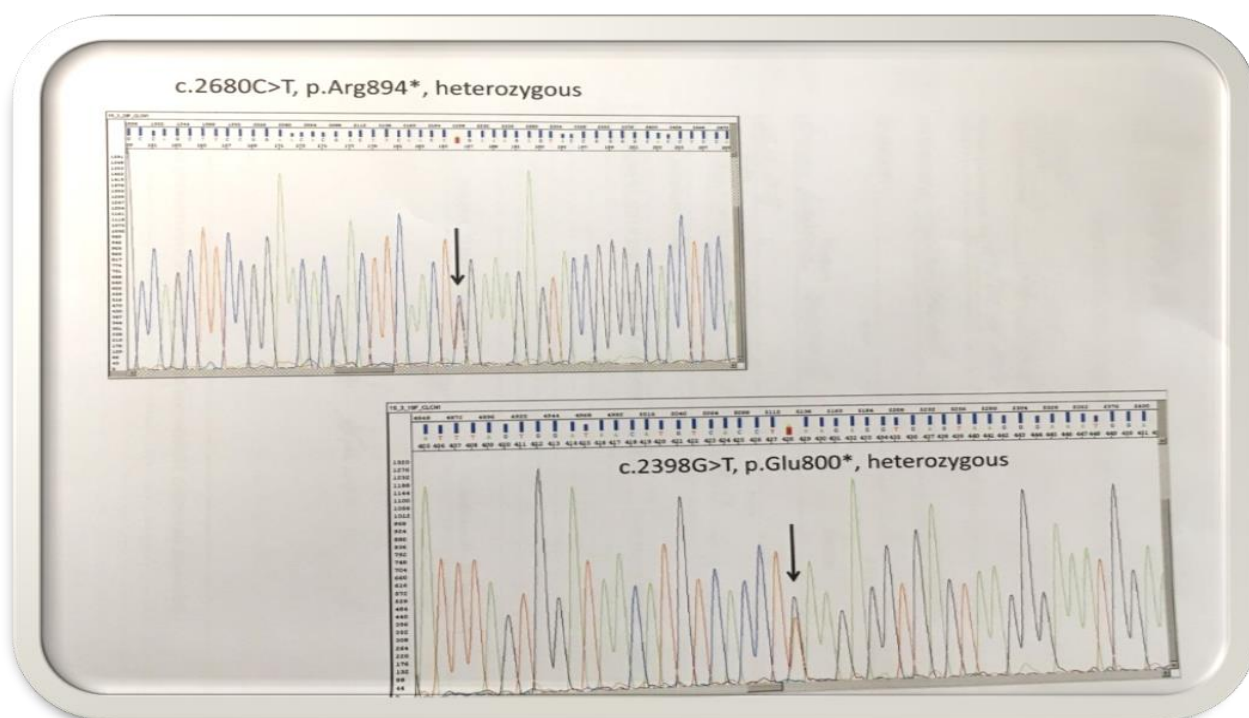
При 4 пациенти е провеждана терапия с Карбамазепин, без задоволителен ефект- 2 жени и 2 мъже. 3/12 не провеждат терапия поради по-лека клинична картина- 1 жена и 2 мъже.

На фигура 11 е представен мутационният спектър при българските пациенти с Вродена миотония тип Бекер.



Фигура 11. Мутационен спектър при пациентите с вродена миотония тип Бекер

От молекулярно-генетичния анализ: при 3/12 пациенти е установена хомозиготна мутация в *CLCN1* гена- 2 мъже и 1 жена, докато 9/12 пациенти са с установени два патогенни варианта в хетерозиготно състояние- 7 мъже и 2 жени (фигури 11 и 12).



Фигура 12. Резултат от молекулярно-генетично изследване на пациент номер 7.

### Обсъждане:

При българските пациенти с Вродена миотония на Бекер не се установява разлика във възрастта на начало на заболяването между мъжкия и женския пол. Тя е изчислена 5.5г. при жените и при мъжете, което е аналогично на предходни описания [Chiara Orsini, Roberta Petillo и съавт., 2020 ; Jorge Andres Olave-Rodriguez, Francisco Javier Bonilla-Escobar и съавт., 2021]. Докладван е случай на пациент с туркменски произход с начало на оплакваният от 1г.в. [Peter Sparber, Margarita Sharova и съавт., 2020]. В кохорта от китайски пациенти е изчислена средна възраст на начало на заболяването  $5,39 \pm 2,74$  години, с вариация от 1 до 17 години [Yan-Xin Meng, PhD, Mei Yu, MS и съавт., 2022]. Съотношение на мъже:жени в българската кохорта е 9:3, докато в китайската кохорта преобладава женският пол. Всички пациенти са с нормално моторно развитие, а при колумбийските болни е описано възможно изоставане в моторното развитие [Jorge Andres Olave-Rodriguez, Francisco Javier Bonilla-Escobar и съавт., 2021]. Едва при трима български пациенти се съобщава анамнеза за фамилна обремененост по отношение на заболяването, останалите са спорадични случаи. При пациента с туркменски произход има данни за кръвно-родствен брак на родителите му- били трети братовчеди [Peter Sparber, Margarita Sharova и съавт., 2020]. Докладван е случай на индийка с родители-втори братовчеди [M R Savitha, B Krishnamurthy и съавт., 2006].

Най-отличителният клиничен белег при всички пациенти, с български, туркменски, колумбийски, китайски, американски и индийски произход е миотонията, локализирана предимно в мускулатурата на крайниците, наблюдавана особено след по-продължителна почивка, както и warm-up феноменът. Феноменът на загряване присъства при 100% от пациентите в други кохорти [[Chiara Orsini](#), [Roberta Petillo](#) и съавт., 2020]. Описан е случай на американски пациент с дебют на заболяването с преходна слабост на мускулатурата на долните крайници, по-късно засягане на горните крайници и едва на по-късен етап се появява миотония [[Michael J Lyons](#)<sup>1</sup>, [Reyna Duron](#), [Isaac Molinero](#) и съавт., 2010]. Само двама от пациентите с български произход, съобщават за миотония, обхващаща и лицевата мускулатура. Мускулна слабост, придружаваща миотонията, се установява при един български пациент, докато в италианската кохорта е налице при 75%, а при китайската кохорта- в 87% от случаите, което може да се свърже с типа на мутациите [[Chiara Orsini](#), [Roberta Petillo](#) и съавт., 2020]. В единични случаи се съобщава за симптоми като миалгия и парестезии в комбинация с мускулната стегнатост при нашите пациенти. По-малко от половината български пациенти (36%) са съобщили за влошаване на оплакванията от ниска температура на околната среда. Всички пациенти, с изключение на двама българи, съобщават за бавна прогресия на оплакванията във времето.

При всички пациенти обективно се откриват акционни и перкуссионни миотонични феномени. Само при един пациент от българската кохорта се обективизира мускулна слабост, локализирана в крайниците, докато тя е налице при седем пациенти от китайски произход и при пациента с американски произход [[Michael J Lyons](#), [Reyna Duron](#), [Isaac Molinero](#) и съавт., 2010]. При четирима от българските пациенти се установяват скъсени Ахилесови сухожилия, както и при трима от седемнадесет пациенти от китайски произход [[Yan-Xin Meng](#), PhD, [Mei Yu](#), MS и съавт., 2022]. При всички пациенти е налице псевдоатлетичен хабитус- наблюдава се добре оформена проксимална мускулатура на горните крайници, проксимални и дистални мускули на долните крайници и аксиалната мускулатура.

При шестима от нашите пациенти от мъжки пол са установени завишени стойности на КК. Средно увеличение на КК 2.2 пъти над нормата. Завишена стойност на КК се установява и при американския пациент [[Michael J Lyons](#), [Reyna Duron](#), [Isaac Molinero](#) и съавт., 2010]. При единадесет от нашите пациенти и при всички останали пациенти от другите кохорти се наблюдава електрична миотония при иглената ЕМГ, а при шестима от българските пациенти се открива миогенна увреда. Засягането на сърцето и дихателната мускулатура не е характерно за пациентите с български, туркменски, колумбийски,

американски и индийски произход, докато при двама от китайската кохорта се установява кардиомиопатия и при двама аритмия [Yan-Xin Meng, PhD, Mei Yu, MS и съавт., 2022].

Мутациите с по-висока честота в България са p.Tyr524Cys (с.1571A>G), p.Pro480Hisfs (с.1437\_1450del), p.Arg894 (с.2680C>T), които са различни от тези в други популации. В италианската популация, се установяват като най-чести: p.His29Pro, p.Phe167Leu, p.Val273Met и p.Val851Met [Chiara Orsini, Roberta Petillo и съавт., 2020], докато сред китайците са: p.V286E, p.R338, p.E422Rfs\*8 [Yan-Xin Meng, PhD, Mei Yu, MS и съавт., 2022]. Докладвани са: случай на италиански пациент с мутация с.1437\_1450del [Gianna Ulzi и съавт., Marzia Lecchi и съавт., 2012], както и италианско семейство с установена мутация с.803C>T; p.(Thr268Met) [Raffaella Brugnoli, Stefania Galantini и съавт., 1999], които са открити и при български пациенти. Наблюдава се сходен фенотип между нашите пациенти и италианските пациенти със същите мутации. Мутациите с.180+3 A>T, с.803C>T (Thr268Met), с.1471+1 G>A, с.1437\_1450del14 (p. Pro480Hisfs\*24) и с.2680C>T p. (Arg894\*) са установени при пациенти от руски произход с фенотип, съвпадащ с този на българските пациенти с посочените мутации [E. A. Ivanova, E. L. Dadalia и съавт., 2012].

При 36% от българските пациенти е проведена терапия с Карбамазепин без ефект, поради което е преустановена. Фенитоинът, прилаган при колумбийски пациенти с вродена миотония, не винаги дава оптимален отговор, но са описани чести НЛР (кожен обрив и прекомерна сънливост през деня) [Jorge Andres Olave-Rodriguez, Francisco Javier Bonilla-Escobar и съавт., 2021]. Трима от българските пациентите не провеждат терапия поради лек фенотип. В китайската кохорта е прилагано комбинирано лечение с карбамазепин (100 mg, 2-3 пъти дневно) с мексилетин (50 mg, 3 пъти дневно), което дава значителни резултати при пациентите и показва клиничните предимства на тези лекарства [Yan-Xin Meng, PhD, Mei Yu, MS и съавт., 2022]. При американския пациент е проведена терапия с Карбамазепин и е отчетен значителен ефект по отношение на мускулната скованост. При индийската пациентка е проведена терапия с Карбамазепин в доза 15mg/kg. дневно, като след 7 месечна терапия симптомите изчезнали напълно [M R Savitha, B Krishnamurthy и съавт., 2006].

## **4.2 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 2 пациенти с поставена диагноза: Натриево-канална миотония**

При индексната пациентка, възрастта на начало на заболяването е 11 г., докато диагнозата е поставена на 12 г., когато е и изследвана.

Прояви на заболяването: скованост и схващане на проксималната мускулатура на долните крайници, след силна мускулна контракция и след продължителна почивка. Липсват преходна мускулна слабост и миалгия. С нормално моторно и невропсихично развитие. Оплакванията не прогресират във времето и не се засилват от ниска температура на околната среда. Фамилно обременена- майка със същото заболяване.

От неврологичения статус са налице акционни и перкусионни миотонични феномени, както и warm up феномен. Не се установява мускулна слабост.

От лабораторните изследвания: креатин киназата (КК) е 115 U/l (норма 20-190).

При иглената ЕМГ от m. biceps brachii dextra се отвеждат миотонични феномени в покой (фигура 13). При ЛМК- АП с нормална А, продължителност и конфигурация.

Функционално изследване на дишането (ФИД)- FVC 65.1%, FE01 75.7% - установява лек рестриктивен тип нарушение на дишането.

Ехокардиографията (ЕхоКГ) установява: структурно и функционално здраво сърце.

Електрокардиографията (ЕКГ) е с данни за синусов ритъм, без ритмично-проводни нарушения.

Майката на момичето е с начало на оплакванията от 12 годишна възраст, но диагнозата е поставена на 40 г., когато е проведено изследването на дъщеря ѝ.

Първи прояви на заболяването са скованост и схващания на проксималните мускули, предимно на долните крайници, проявяващи се при инициране на бързи движения, траещи няколко секунди и преминаващи след раздвижване (след продължителни упражнения), и многократни повторения на едно и също движение. След раждането на първото дете се засилили схващанията на мускулите, като обхванали мускулите на цялото тяло, появили се схващания на езика при говорене, затруднило се преглъщането и фините движения на ръцете, поради сковаността и чувството за стегнатост на мускулатурата.

Малко по-късно оплакванията са стационарни. Липсват преходна мускулна слабост и миалгия. Оплакванията не се повлияват от ниска температура на околната среда.

От неврологичния статус са налице акционни и перкусионни миотонични феномени, както и warm up феномен, изразена хипертрофия на мускулатурата на горни и долни крайници - псевдоатлетичен хабитус.

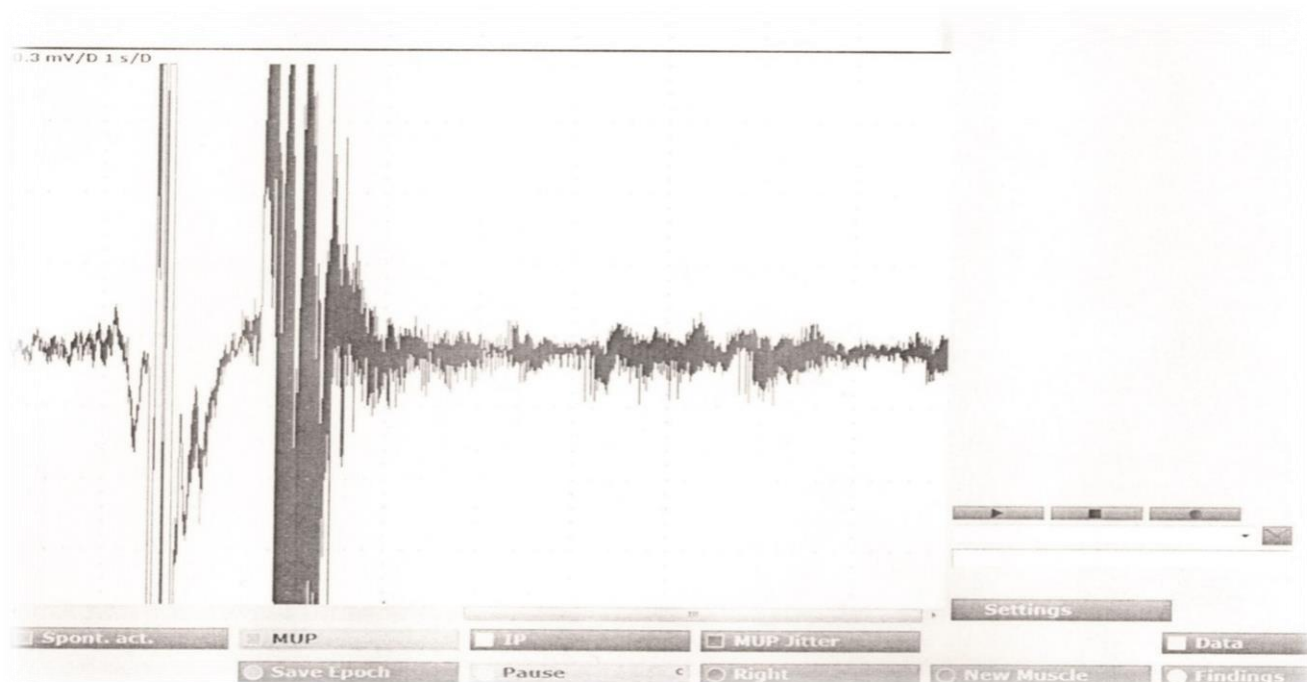
КК- в серума е 1700 U/l - 9 пъти над нормата ( норма 20-190).

От иглената ЕМГ от мускули- m.deltoideus, m.biceps brachii, m.tibialis anterior в покой- от всички изследвани мускули се регистрират миотонични феномени. От проксималните мускули- миогенни промени.

ЕхоКГ установява структурно и функционално здраво сърце.

ЕКГ е с данни за синусов ритъм, без ритъмни и проводни нарушения.

Молекулярно-генетичният анализ установява патогенен хетерозиготен вариант - c.1333G>A (NM\_000334.4) в *SCN4A* гена водещ до замяна на аминокиселината валин с метионин на позиция 445 в аминокиселинната последователност, кодирана от *SCN4A* гена. Директното секвениране по Sanger при пациентката потвърждава варианта c.1333G>A в *SCN4A* гена в хетерозиготно състояние. Вариантът е унаследен от майката на пациентката, която има подобна клинична симптоматика. Бащата на пациентката не е наличен за генетични изследвания.



Фигура 13. Иглена ЕМГ- при пациент 1 на 12 г. миотоничен феноменот от m. biceps brachii dextra.

Проведена е терапия с Карбамазепин 2x50мг. при пациент 1 и Карбамазепин 2x200мг. при пациент 2 с добър субективен ефект. Пациентките съобщават за намаляване на сковаността и схващанията на мускулатурата, и подобряване на движението.

#### Обсъждане:

Представените болни са с клинична картина, характеризираща се с непрогресираща скованост на мускулатурата, най-силно проявена в проксималните мускули на долните крайници и дисталните отдели на ръцете, без наличието на преходна слабост, преминаваща след раздвижване, без съществена разлика в началото на заболяването между майката и дъщерята. Описани са случаите на петима членове на американско семейство със същата мутация в *SCN4A* гена. Всички болни в семейството са диагностицирани на възраст между 3 и 6 години. При всички американци се установява страбизъм, при всички е налице миотония на крайниците, а при четири от тях и миотония на лицевата мускулатура [H Du<sup>1</sup>, S R Grob, L Zhao и съавт., 2012]. Увеличеният брой натриеви канали в лицевите мускули, в сравнение с другите скелетни мускули, може да обясни по-силното засягане на лицевата мускулатура при Натриво-каналната вродена миотония. Посочена мутация е докладвана и при двама пациенти от две семейства в Нидерландия. Пациентите са с клинични признаци на миотония, особено в мускулите на

клепачите, както и с warm up феномен [[Jeroen Trip](#)<sup>1</sup>, [Gea Drost](#), [Dennis J Verbove](#) и съавт., 2008]. Клинично тежестта на симптоматиката, при българските пациенти е по-изразена при майката, обхващаща повече мускулни групи- проксимални и дистални отдели на крайниците, и дъвкателната мускулатура. Единствено при майката се наблюдава псевдохипертрофия на мускулатурата на крайниците. При нито една от пациентките не е налице страбизъм. КК е 9 пъти над нормата при майката, а при дъщеря е с нормални стойности. И при двете пациентки са налице акционни и перкусионни миотонични феномени, както и при всички останали докладвани пациенти с тази мутация. И при двете български пациентки, както и при американците и нидерландците се регистрира електрическа миотония, но при майката на нашата пациентка има и ЕМГ данни миогенна увреда. При нито един пациент с посочената мутация не е диагностицирано сърдечно засягане.

Наблюдава се значителна клинична вариабилност при пациентите с мутация в *SCN4A*-гена, водеща до развитието на Натриево-канална вродена миотония [[Stephen C Cannon](#), 2015; [Huang, C., Lai, H.](#), и съавт., 2015]. Една част от пациентите са безсимптомни, въпреки че имат електромиографски данни за вродена миотония. Най-честият симптом е миотония в долните крайници, влошаваща се от ниски температури, и се изразява в намалена способност за бягане, забавена походка, чести падания, миотония на клепачите, двойно или замъглено зрение, страбизъм, епизоди на стридор или задушаване, което е близко до клиничната картина на нашите пациенти. При някои пациенти е налице постоянна проксимална мускулна слабост, изолирана дистална слабост и болезненост на мускулатурата [[Huang, C., Lai, H.](#), и съавт., 2015]. Макар и рядко, при някои пациенти се срещат преходни паралитични епизоди. Оплакванията не прогресират във времето, но е възможно умерено влошаване на симптомите.

От проведения молекулярно-генетичен анализ, цялостно екзомно секвениране, се установи патогенен хетерозиготен вариант в *SCN4A* гена, кодиращ скелетен мускулен натриев канал, който е известен и описан и при други пациенти с американски и нидерландски произход, причиняваща Натриево-канална вродена миотония със страбизъм [[Huang, C., Lai, H.](#), и съавт., 2015]. Вариантът е откриван сред 138 000 контроли по проекта gnomAD, като неговата популационна честота е оценена на 0.0004% (няма докладвани хомозиготни носители). В съответствие с препоръките на ACMG/AMP за интерпретация на вариантите ([Richards et al. 2015](#)) този вариант се класифицира като патогенен (категория: PM2, PP5, PP2 и PP3). Патогенните хетерозиготни варианти в

*SCN4A* гена са доказана причина за развитието на автозомно-доминантна Хиперкалиемична периодична парализа тип 2 (OMIM: 170500), Атипична вродена миотония, която се повлиява от Ацетазоламид (OMIM: 608390), Парамииотония конгенитата (OMIM: 168300). Фенотипните различия на заболяванията, причинени от мутации в *SCN4A* гена, а именно отсъствието на типичните епизоди на мускулна слабост, характерни за хиперкалиемичната периодична парализа, както и липсата на парадоксална миотония, задълбочаваща се от неколнократни мускулни съкращения, предполагат изключване на тези заболявания в диференциално диагностичен план и поставяне на диагноза Натриево-канална вродена миотония.

#### **4.3 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при пациент с поставена диагноза: Хипокалиемична периодична парализа**

Диагностициран е един болен на 62 г., с начало на заболяването на 17 годишна възраст. Възрастта при поставяне на клиничната диагноза Хипокалиемична периодична парализа, когато е започнато симптоматично лечение с калиеви препарати (Панангин 3x2г.) е 37 г.

Първите прояви на заболяването се изразяват във внезапна поява на пристъпна, бързо засилваща се мускулна слабост, която обхваща четирите крайника. Първоначално е засегната проксималната мускулатура, след което се разпространява към дисталната. Понякога е наблюдавано асиметрично разпределение на мускулната слабост с преобладаване в левите или съответно в десните крайници. За кратък период от време симптомите се засилват и достигат до степен за невъзможно извършване на активни движения. Пациентът е напълно прикован към легло. Основен тригерен фактор за настъпване и по-бързо влошаване на пристъпите е тежкото физическо натоварване. Други провокиращи фактори са емоционалният стрес и понижаването на температурата на околната среда. Пристъпната слабост е с продължителност от няколко часа, но в повечето случаи до 2 дни. Честота на пристъпите варира около 3-4 годишно. Налице е фамилна обремененост за заболяването.

Обективно по време на пристъпа са наблюдавани:

Ограничени по обем активни и пасивни движения в четирите крайника с асиметрично ангажиране, по-тежко засягане на десните крайници, по-силно изразена проксимална мускулна слабост. Намалена мускулна сила и мускулна хипотония. Походка вяло-паретична. След извършване на краткотрайно физическо усилие се наблюдава бързо засилване на слабостта, водещо до развитие на тежка квадрипареза. Стилорадиална, коленна и Ахилова хипорефлексия. Повърхностната и дълбоката сетивност са несмутени.

От лабораторните изследвания са установени ниски стойности на серумния калий 2.8 mmol/l (норма 3.3-5.1mmol/l) и завишени стойности на КК – 337 U/l (1.7 пъти над нормата) по време на пристъпа (норма до 190).

Иглената ЕМГ установява - в покой от изследваните мускули на четирите крайника се отвеждат остри положителни вълни и фибрилационно акционни потенциали (АП) /++++/, както и миотонични феномени, по-изразени за проксималната мускулатура. При контракция - къси, на места полифазни, МАП. Намалена е амплитудата на М-отговорите от m. abductor pollicis brevis dexter.

ЕКГ е с данни за синусов ритъм, индиферентна електрична позиция. Липсват данни за хипокалиемия.

Молекулярно-генетичният анализ установява наличие на патогенен хетерозиготен вариант c.4774A>G, p. Met1592Val, потвърждаващ диагнозата Хипокалиемична периодична парализа с автозомно доминантен тип на унаследяване.

Болният провежда терапия с Панангин 3x2г. по време на пристъп. Поради протрахирания ефект, понякога в съчетание с по-тежък клиничен ход, се налага провеждането на венозна инфузия на KCL 0.3-0.5% разтвор в 5% глюкоза, извършена при мониториране на ЕКГ и серумния калий.

### **Обсъждане:**

Хипокалиемичната периодична парализа е хетерогенно в генетично отношение заболяване, като 60% от семействата имат миссенс мутация в гена, кодиращ калциевия канал на скелетните мускули (CaV1.1 кодиран от *CACNA1S* гена) и 20% имат миссенс

мутация в *SCN4A* гена, кодиращ NaV1.4. а субединица. Всички описани до този момент 12 мутации в гена за NaV1.4а субединица и 8/9 мутации, засягащи функционирането на калциевите канали са миссенс замествания в аргининови остатъци в S4 сегменти от домените на рецептора за напрежение [Stephen C Cannon, 2018]. Началото на заболяването е по-късно при пациенти с мутация в *SCN4A* гена в сравнение с мутация в *CACNA1S* гена [J Finsterer, 2008].

Клиничните оплаквания при нашия пациент датират от 17 годишна възраст и се изразяват в появата на епизодична мускулна слабост, започваща от проксималните мускули на крайниците и достигаща до тежка квадрипареза. Основни тригерни фактори са: тежко физическо натоварване, емоционален стрес и ниска температура на околната среда. Честотата на пристъпите е 3-4 годишно. Обективно: данни за вяла квадрипареза и генерализирана хипорефлексия. От лабораторните изследвания се установява хипокалиемия и завишени стойности на КК. Без отклонения в ЕКГ. Молекулярно-генетичният анализ установява мутация в *SCN4A* гена.

Клиничните характеристики на описания български болен са сходни на 33 годишен мъж от Шотландия с диагностицирана Хипокалиемична периодична парализа [Liam J Stapleton, 2018], както и на 25-годишен мъж от Китай с анамнеза за преходна квадрипареза от 15-годишна възраст. При молекулярно-генетичния анализ е установена мутация с.2024G>A (R675Q) в *SCN4A* гена [Xiao-li Liu, Xiao-jun Huang и съавт., 2015]. Оплакванията при двамата пациенти се появяват сутрин след събуждане от сън, при продължително гладуване или прием на богата на въглехидрати храна. От неврологичния статус, при китайския пациент се установява слабост на крайниците с отслабени до липсващи рефлексии. От лабораторните изследвания е установена хипокалиемия (2,78 mmol/L) по време епизода. Креатинкиназата е с леко завишена стойност- 276 IU/L (реф. 22–269 IU/L). Пристъпите се появяват около 3 до 4 пъти месечно и имат тенденция за спонтанно преминаване след почивка или прием на храна богата на калий. Предразполагащите фактори за инициране на слабостта са недостатъчно сън, емоционална възбуда или раздразнителност, почивка след усилено физическо натоварване. Не е установена миотония. Мускулната слабост се облекчават значително след еднosedмичен орален прием на калиев препарат. При шотландеца е описана вяла квадрипареза, слабост на лицевата мускулатура, отслабени сухожилни рефлексии в долните крайници и норморефлексия в горните [Liam J Stapleton, 2018]. От лабораторните изследвания са установени ниски стойности на серумния калий серумния <1,5 mmol/l; КК 857 U/l. ЕКГ по време на пристъпа е с данни за синусова брадикардия с

удължен QT интервал и видими U вълни, които изчезват след приложението на калий заместващ препарат.

Мутацията, установена при китайския пациент, е докладвана като причиняваща нормокалиемична парализа при семейства с китайски (2015г.) и френски произход (2004г.), и хиперкалиемична периодична парализа при семейство с корейски произход (2015г.) [Xiao-li Liu , Xiao-jun Huang и съавт., 2015].

Мутацията с.4774A>G, р. Met1592Val, в SCN4A гена, установена при българския пациент е установена в шест немски семейства с диагноза Хиперкалиемична парижодична парализа [R Heine<sup>1</sup>, U Pika, F Lehmann-Horn, 1993] и в китайски семейства с Хипокалиемична парижодична парализа, със сходен на нашите пациенти фенотип [Sushan Luo, Minjie Xu и съавт., 2019]

#### **4.4 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при пациент с поставена диагноза: Парадоксална миотония**

Представяме болен на 18 г., с начало на болестта от кърмаческа възраст, като възрастта при поставяне на диагнозата е 9 г.

Първите прояви на заболяването са провокиращи се от студ спазми на лицевата мускулатура, характеризиращи се със затруднено отваряне на очите. По-рядко са наблюдавани преходни спазми в мускулите на ръцете. Посочените оплаквания се засилват при по-ниска температура на околната среда и при неколкратно повторение на едно и също действие. Налице е пристъпна слабост в четирите крайника, по-силно изразени за дисталната мускулатура на долните крайници, появяваща се в сутрешните часове. Пълното възстановяване е до 7-ия ден. Наблюдават се епизоди на слабост в пръстите на ръцете, без предхождащи спазми, провокиращи се от студ в часове по физическо възпитание, с продължителност около 50 -60 мин., преминаващи обикновено при затопляне. От 14 годишна възраст има периодична парализа на проксималната мускулатура, продължаваща един ден, провокираща се от глад, с честота 1-2 пъти годишно.

Липсва фамилна обремененост за подобни клинични прояви.

От неврологичния статус се установява парадоксален миотоничен феномен в околоочната мускулатура - с всяко последващо затваряне на очите се затруднява тяхното отваряне.

От лабораторните изследвания са налице са нормална стойност на КК – 168 U/l и горногранични стойности на серумен калий по време на пристъпната слабост.

Иглена ЕМГ от m. tibialis anterior е с данни за спонтанна активност от чести миотонични залпове. При лека мускулна контракция - акционни потенциали в норма.

Молекулярно-генетичният анализ описва наличие на хетерозиготна мутация - R1148P в 24 екзон на SCN4A гена. При родителите не са установени патологични варианти в SCN4A гена.

Проведената терапия с Фенитоин в миналото е без ефект. Пациентката успява да намали изявата на стегнатостта на мускулатурата, като избягва престой при ниски температури, а епизодичната слабост – с избягване на гладуване, както и с повтарящи се упражнения за съответните мускулни групи.

#### **Обсъждане:**

Оплакванията при българската пациентка датират още от кърмаческа възраст. Основен симптом е парадоксална миотония, локализирана в околоочната мускулатура. Пациентката съобщава за пристъпна слабост в четирите крайника. КК е с нормална стойност. От иглената ЕМГ се установява миотоничен феномен. Този случай е близък до други описани в литературата.

В Китай е докладван случай на 20-годишно момиче (2014г.) с оплаквания от парадоксална миотония, засилваща се при всяко последващо мускулно съкращение, датиращи от 7 годишна възраст [Xiao-li Liu , Xiao-jun Huang и съавт., 2015]. Симптомите са предизвикани от физическа активност, емоционален стрес и умора. Миотонията е по-силно изразена през зимните месеци. Нейният баща, леля и баба също са имали подобни симптоми, когато са били млади, но честотата и тежестта на оплакванията са намалели след 40 годишна възраст. Стойностите на КК са нормални при всички пациенти от семейството, аналогично на българския болен. Няма влошаване на симптомите след прием на богата на калий храна. Неврологичният статус е нормален. ЕМГ отразява изразени миотонични разряди, както в дисталните, така и в проксималните мускули на горните и долните крайници. Пациентите не провеждат терапия. Молекулярно-

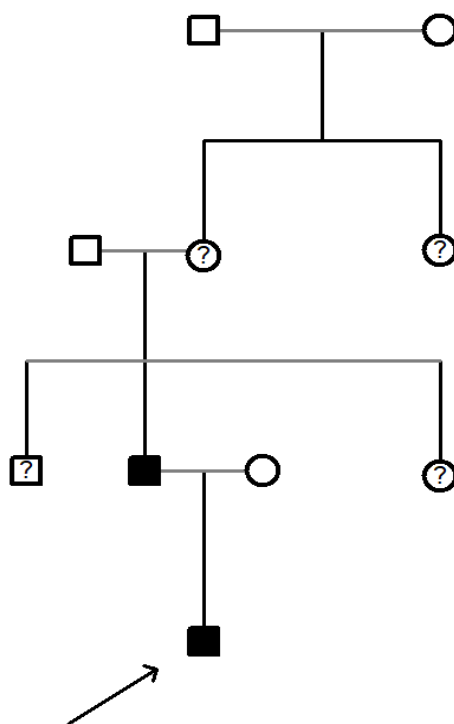
генетичният анализ установява мутация с.1333G>A (V445M) в гена *SCN4A*. Случаи на конгенитална парамитония с посочената мутация са докладвани в американски [Rosenfeld J, Sloan-Brown K и съавт., 1997] и френско-канадски семейства [Dupre N, Chrestian N и съавт., 2009]. Пациентите от американското семейство са с начало на оплаквания от 16 годишна възраст, изразяващи се в парадоксална миотония, засилваща се от ниски температури, засягаща и интеркосталните мускули. Пациентите съобщават за мускулна слабост и миалгия като допълнение към парадоксалната миотония. Посочените оплаквания са налице и при френско-канадските семейства [Xiao-li Liu, Xiao-jun Huang и съавт., 2015]. Описани са три случая на пациенти с японски произход с парадоксална миотония на крайниците и лицевата мускулатура, мускулна слабост и хипотрофии с мутация p.T1313M в *SCN4A* гена. При един от пациенти се установява атрофия на дъвкателната мускулатура и мускулите на предмишницата двустранно, както и перманентна дистална мускулна слабост в долните крайници и по-силно изразена проксимална мускулна слабост в горните крайници [Tomoya Taminato<sup>1</sup>, Madoka Mori-Yoshimura и съавт., 2020]. При втория японски пациент се установява слабост в дисталните мускулни групи на ръцете, слабост на дъвкателната мускулатура с хипотрофия на същите и парадоксална миотония. При третия случай, с японски произход, се наблюдава единствено парадоксална миотония, без наличие на мускулна слабост и хипотрофия. При всички пациенти клиничната картина се влошава при понижаване на температурата на околната среда.

#### **4.5 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 2 пациенти с поставена диагноза: Кавеолинопатия- “Rippling” миопатия**

Представяме семейство, с шестима засегнати, от което двама болни са изследвани. Възрастта при начало на заболяването при индексния пациент е 2 години. Възрастта при поставяне на диагнозата е 5 години, като при последното клинично изследване момчето е на 6 години.

Основните прояви на заболяването при пациента са по-бързо настъпваща умора при ходене. Има по-силно развита мускулатура, което се наблюдава и при бащата, в съчетание със затруднена мускулна релаксация след силна контракция. Затруднено е изкачването на стълби и изправянето от клекнало положение, поради схващане на

мускулатурата на крайниците. Той е с нормално моторно развитие, но забавено невропсихично - проговорил е на 3г. Пациентът е с фамилна обремененост – баща с генетично потвърдена кавеолинопатия, баба по бащина линия, сестра на бабата, сестра и брат на бащата са със същите оплаквания.



Фигура 15. Родословие на семейство с Кавеолинопатия- „Rippling“ миопатия.

От неврологичния статус се установява проксимална мускулна слабост на m. iliopsoas 4/5, псевдоатлетичен хабитус, лумбална хиперлордоза. Scapulae alata са налице двустранно. Установяват се перкусионни феномени на повишена мускулна възбудимост от тенара, rippling muscle phenomenon в горни крайници след перкусия.

Лабораторни изследвания:

- КК (2012г.) 708;
- КК (2015г.) 1844;
- КК (2017г.) 1175
- КК (2018г.) 591

Най- ниските установени стойности на КК са 3.1 пъти над нормата, докато най-високите достигат до 9,7 пъти над нормата.

Иглената ЕМГ от *m. tibialis anterior dexter* отвежда М-отговори с нормална амплитуда, времетраене и форма. ЕМГ е от интерферентен патерн, но не са налични миотонични феномени.

ФИД е в норма (ФВК- 101.8%, ФЕО1 120%).

ЕхоКГ установява нормални размери на сърдечните кухини, нормална дебелина на стената на лявата и дясната камера. Запазена е левокамерната систолна и диастолна функция. Клапният апарат е интактен, а ФИ е 60%.

Бащата на момчето е на 30 г., с начало на заболяването на 5 годишна възраст. Възрастта при поставяне на диагнозата е 30 години.

Основните прояви на заболяването са болки и схващания в мускулите на четирите крайника, по-изразени след физически усилия. Трудно отпуска мускулите след силна контракция. Налице са нормално моторно и невропсихично развитие. Посочените оплаквания се засилват при по-ниска температура на околната среда. Заболяването има бавно прогресиращ ход. Фамилно обременен е с майка със същите оплаквания.

От неврологичния статус се установяват: лека проксимална мускулна слабост в долните крайници, както и перкусионни феномени на повишена мускулна възбудимост от мускулите на горни, долни крайници и език. Налице е “Rippling” muscle феномен след перкусия и контракция. Болният е с псевдоатлетичен хабитус с добре развита проксимална мускулатура на крайниците, пекторални и аксиални мускули.

Иглената ЕМГ от *m. abductor pollicis brevis* и *m. biceps brachii dexter* установява провокирана от почукване, продължителна, много нискоамплитудна активност от фибрилации и слабо към умерено изразена миотонична реакция. Липсват миогенни промени.

Молекулярно-генетичният анализ показва наличие на патологичен вариант в екзон 2 - с.136G>A, p.Ala46Thr в *Cav3* гена.

### Обсъждане:

Началото на заболяването е в по-ранна възраст при сина в сравнение с тази на бащата. Основни находки, при двамата пациенти, са миотония на мускулите на крайниците и Rippling” muscle феномен, които са основни прояви и при семейство от Швеция с 23 засегнати членове, на възраст от 13 до 67г., със същата установена мутация [Ahmed Aboumoussa, Jessica Hoogendijk и съавт., 2008]. При двадесет от болните основно оплакване е стегнатост на мускулатурата на долните крайници, а при дванадесет болни се наблюдава Rippling” muscle феномен. Същата мутация е докладвана при норвежко семейство с 12 клинично засегнати членове с основни клинични находки отново от миотония и Rippling” muscle феномен [Luigi Fulizio, Anna Chiara Nascimbeni и съавт., 2005]. Посочената мутация е установена в седем италиански семейства с общо 8 идентифицирани болни (в едно от семействата са засегнати майка и дъщеря). Автозомно-доминантен модел на унаследяване е докладван при пет от седем семейства. Първият симптом е мускулна слабост, която се появила на възраст от 7 до 37 години (средно 19,1 години), като ангажира проксималните или дисталните мускули на крайниците [Luigi Fulizio, Anna Chiara Nascimbeni и съавт., 2005]. Докладвани са четирима болни от две семейства от Великобритания със същата мутация. При двама от пациентите се установява Rippling” muscle феномен, един от пациентите съобщава за миалгия, при един се установява проксимална и дистална мускулна слабост на крайниците, а при двама проксимална мускулна слабост, локализирана единствено в долните крайници [Jimmy Sundblom<sup>1</sup>, Erik Stålberg и съавт., 2010]. При бащата на нашия пациент миотонията е в съчетание с миалгия и значително се засилва при понижаване на температурата на околната среда. Петима от болните в шведското семейство съобщават за аналогични оплаквания - миалгия в комбинация с миотонията, при двама болни е налице бързо настъпваща умора, а при един пациент мускулни крампи, докато трима са без оплаквания [Ahmed Aboumoussa<sup>1</sup>, Jessica Hoogendijk и съавт., 2008]. Мускулни крампи и миалгия са често срещано оплакване при италианската кохорта [Luigi Fulizio<sup>1</sup>, Anna Chiara Nascimbeni и съавт., 2005]. Кардиомиопатия не е докладвана при нито един пациент от Италия. При двамата български пациенти е налице псевдоатлетичен хабитус и проксимална мускулна слабост в долни крайници. При всички пациенти от италианското семейство се наблюдава генерализирана мускулна хипертрофия. При девет от пациентите в шведското семейство се установява хипертрофия на подбедриците, а при двама генерализирана мускулна хипертрофия. При трима се установява генерализирана мускулна хипертрофия, а при един от тях хипертрофия на подбедриците и хипотрофия

на мускулатурата на ръцете [[Ahmed Aboumoussa, Jessica Hoogendijk](#) и съавт., 2008]. При двадесет от шведските пациентите се установяват завишени стойности на КК. Установено е, че серумното ниво на КК е повишено при всички пациенти с италиански произход, увеличението варира от трикратно до над 40-кратно.

#### **4.6 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 2 пациенти с поставена диагноза: “Central core” миопатия**

Представяме пациент #1 с начало на оплакванията от 59 години, като възрастта при поставяне на диагнозата е 63 години, когато е и изследван.

Първите прояви на заболяването са слабост в проксималните мускули на долните крайници, съпроводена от миалгия в проксималните и дисталните мускули на долните крайници. Пет месеца по-късно, аналогични оплаквания от мускулна слабост и стягане се добавили и в проксималните мускули на горните крайници. Оплакванията се засилват след физическо натоварване. Посочените оплаквания не прогресират във времето. Липсва анамнеза за фамилна обремененост за неврологични заболявания.

От неврологичния статус са налице данни за миопатен синдром – мускулна слабост, по- силно изразена за проксималните мускули на долните крайници и аксиалната мускулатура, мускулна хипотония- по-изразена за мускули на долните крайници, сухожилна хипорефлексия за стилорадиални и коленни рефлексии, арефлексия за Ахилови рефлексии двустранно, симптом на Gowers (+) (таблица 15).

Таблица 15. Резултати от мануално мускулно тестване при пациент #1.

| Слабост на горни крайници                                                                                                 | Слабост на долни крайници                                                                                        | Слабост на аксиална мускулатура                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| абдукция 4+/5, аддукция 5-/5 и флексия в раменни стави в ляво 5-/5; флексия 5/5 и екстензия в лакътна става 5/5; Флексия, | абдукция 4/5 в ТЗБС; аддукция в ТЗБС 4/5; флексия 3/5, екстензия в ТЗБС 3/5; флексия и екстензия в колянна става | Флексия в шия 5/5; екстензия в шия 4+/5; Затруднено изправяне от легнало положение |

|                                     |                                                       |  |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------|--|
| екстензия в гъривнени стави<br>5/5; | 4-/5; Плантарна флексия<br>5/5; дорзална флексия 5/5; |  |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------|--|

От лабораторните изследвания се установяват завишени стойности на КК- 427 U/I- 2.2 пъти над нормата (норма 20-190).

При иглената ЕМГ от m. deltoideus, m. biceps brahii, m. quadriceps femoris, m. tibialis anterior се наблюдава полифазия от изследваните мускули, отделни миогенни АП- предимно от m. biceps brahii.

ФИД е с данни за лек рестриктивен тип дихателна слабост ( ФВК- 64%, ФЕО 1- 81%).

ЕхоКГ е с данни за лека хипертрофия на лява камера, лекостепенни клапни регургитации, запазена функция и контрактилитет на сърдечните кухини, с ФИ 62%.

Рентгенографията на лумбални прешлени установява дясноконвексна сколиоза.

Молекулярно-генетичното изследване установява мутация с.5002C>T, p.Leu1668Phe в RyR1 гена, локализиран в 19q12-13.2 хромозома, водеща до развитието на “Central core” миопатия и повишен риск от развитие на малигнена хипертермия.

Пациентът провежда терапия с Креатин 5 грама дневно и системна рехабилитация.

При пациент #2 началото на болестта е от 7 години, като възрастта при поставяне на диагнозата е 20 години, когато е и изследван.

Първите прояви на заболяването са мускулна слабост предимно за проксималните отдели на долните крайници и аксиалната мускулатура, изразяващи се в затруднено изкачване на стълби, затруднено изправяне от легнало и клекнало положение. Липсва анамнеза за фамилна обремененост за неврологични заболявания.

От неврологичния статус е налице леко ограничен обем на пасивни движения в глезенните стави със затруднена дорзална флексия на ходилата и затруднено ходене на пети. Мускулната сила при флексия в горни крайници е съхранена и е намалена при екстензия, налице е аксиална мускулна слабост - затруднено изправяне от легнало положение, проксимална мускулна слабост в долните крайници- затруднено изправяне от клекнало положение, симптом на Gowers (+). Установяват се хипотрофии на мускулите на раменния пояс, проксималните мускули на горните крайници, мускулите на тазовия пояс и проксималните и дисталните мускули на долните крайници. *Scapulae alate* се установяват двустранно. *Pes cavus* е налице двустранно.

От лабораторни изследвания се установяват нормални стойности на КК 138 U/I.

При иглена ЕМГ от *m. tibialis anterior dexter*, *m. quadriceps femoris*, *m. biceps brachii dexter* в покой не се отвежда спонтанна активност. При волево съкращение от проксимално разположените мускулни групи в долни и горни крайници се отвеждат АП с намалена продължителност, ниски, полифазни с бърз рекрутмънт при максимално мускулно съкращение с характер на миогенни, от бедрените мускули, при волево съкращение се отвеждат АП с нормален характер. ЕМГ данни за неактивна миогенна увреда.

От молекулярно-генетичения анализ се установява мутация с.14582G>A, p.Arg4861His в *RyR1* гена, локализиран в 19q12-13.2 хромозома, водеща до развитието на “Central core” миопатия и повишен риск от развитие на малигнена хипертермия.

Пациентът не провежда медикаментозна терапия, единствено системна рехабилитация.

### **Обсъждане:**

Наблюдава се голяма вариабилност във възрастта на начало на “Central core” миопатия при българските пациенти - при пациент #1 на 59 годишна възраст, при пациент #2 на 7 годишна възраст, което би могло да се свърже с различния функционален ефект на двете мутации. Докладвани са два случая на бразилски пациенти с начало на болестта още в неонаталния период, с тежка дихателна недостатъчност, изискваща изкуствена белодробна вентилация (при пациент #1- установени 2 мутации p.Phe41Ser и

p.Try1121Cys; при пациент #2- установени 2 мутации p.Arg614Cys и Thr4980Ala\*fs) [Leonardo Galleni Leão<sup>1</sup>, Lucas Santos Souza, 2020]. В алжирско семейство е докладван синдром на фетална акинезия, като най-ранна проява на „Central core“ миопатията [Rachel Robinson, Danielle Carpenter и съавт., 2006]. Докладван е случай на немец, с начало на заболяването още вътреутробно с установена вродена тазобедрена дисплазия и тежка сколиоза, мускулна слабост, локализирана предимно в долните крайници (p.Arg4893Gln) и на ирландец с начало от раждането с мускулна хипотония при раждането и страбизъм. Установена е мутацията (p.Asp4918Asn) в *RyR1* гена [Natalia Kraeva, Elena Zvaritch и съавт., 2013] Българските пациенти са с нормално моторно и невропсихично развитие. При двамата пациенти с бразилски произход се установява забавяне в моторното развитие, а при един от тях и в невропсихичното развитие. Забавено е моторното развитие и при пациентите от Германия и Ирландия [Natalia Kraeva, Elena Zvaritch и съавт., 2013]. Основни клинични характеристики при българските пациенти са слабост предимно в проксималните мускули на долните крайници и аксиална мускулна слабост, горните крайници се засягат на по-късен етап. Докладван е случай на бразилец с лека клинична картина, сходна на нашите пациенти, характеризираща се единствено с проява на лека мускулна слабост и затруднение при изкачване на стълби. При трима италианци отново оплакванията са предимно от мускулна слабост (p.Arg2435Leu, p.Leu4647Pro, p.Phe4808Leu) [Natalia Kraeva, Elena Zvaritch и съавт., 2013]. Един от българските пациенти съобщава за миалгия, придружаваща мускулната слабост, при един е установено гръбначно изкривяване. Оплакванията не прогресират във времето, но се засилват при по-тежко физическо натоварване. Една англичанка е асимптоматична, при последния преглед е на 32 годишна възраст (p.Arg2435His). При всички описани пациенти от иглената ЕМГ се установяват данни за миогенна увреда. КК е повишена при италианците, ирландските, немските и при един от българските пациенти.

От молекулярно-генетичното изследване при българските пациенти се установяват мутация p.Leu1668Phe при пациент #1 и мутация p.Arg4861His при пациент #2. Мутация p.Arg4861His е установена още в две бразилски семейства със сходен на българските пациенти фенотип.

Наблюдава се широк фенотипен спектър при пациентите с диагноза “Central core” миопатия, както по отношение на началото на болестта, така и по клиничната находка и прогресията на заболяването, вероятно поради разнообразието от установените мутации.

Пациентите с мутация p.Arg4861His в *RyR1* гена, каквато е установена при нашите пациенти се свързва с по-доброкачествен ход на заболяването, но също могат да доведат до развитие на доминантна наследствена предразположеност към развитие на малигнена хипертермия. Общите анестетици трябва да се прилагат с повишено внимание, при пациенти с вродени миотонии, особено на деполяризиращи мускулни релаксанти като Суксаметоний.

#### **4.7 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при българските пациенти с поставена диагноза миопатия на Bethlem**

Съотношението мъже-жени е 3:2.

Средната възраст на проява на симптомите при пациентите с миопатия на Bethlem е 5.0 г.  $\pm$  5.07, с вариация от 6 месеца до 13 години.

Средна възраст на проява на симптомите при женски пол - 10г.  $\pm$  4.2, варираща от 7 г. до 13г.в.

Средна възраст на проява на симптомите при мъжки пол - 1.7г.  $\pm$  1.2, с вариация от 6 месеца до 3 години.

Средна възраст при поставяне на диагнозата: 21.8 г.  $\pm$  17.2, с вариация от 6 г. до 43г.

- За жени- 25 г.  $\pm$  18.3, съответно 12г. и 38 г.
- За мъже- 19.6 г.  $\pm$  20.3, с вариация от 6г. до 43 г.

Средна възраст по време на изследването: 20.8 г.  $\pm$  16.5, с вариация от 6 г. до 41 г.

- За жени: 24.5 г.  $\pm$  20.5, съответно 10 г. и 39 г.
- За мъже: 18.3 г.  $\pm$  19.6, с вариация от 6 г. до 41 г.

Периодът на забавяне на диагнозата: 16.8 г.  $\pm$  16.1, с вариация от 6 м. до 37 г.

- За жени: 22 г.  $\pm$  21.2, съответно 37 г. и 7 г.
- За мъже: 18 г.  $\pm$  320.3, с вариация от 6 м. до 41.6 г.

На таблица 16 е представен клиничният фенотип на болните с миопатия на Bethlem

Таблица 16. Основни клинични прояви и резултати от проведени изследвания при български пациенти с миопатия на Bethlem.

| Пациент номер                              | 1                                                                                                                                                                                                                                                                    | 2                                                                                                                                                                                                                                                                   | 3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 4                                                                                                                                                                                              | 5                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Възраст на начало на оплакванията          | 3г.                                                                                                                                                                                                                                                                  | 7г.                                                                                                                                                                                                                                                                 | 1г. 6м                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 13г.                                                                                                                                                                                           | 6м.                                                                                                                                                                                                                                     |
| Възраст при поставяне на диагнозата        | 9г.                                                                                                                                                                                                                                                                  | 12г.                                                                                                                                                                                                                                                                | 43г.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 38г.                                                                                                                                                                                           | 7г.                                                                                                                                                                                                                                     |
| Пол                                        | М                                                                                                                                                                                                                                                                    | Ж                                                                                                                                                                                                                                                                   | М                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Ж                                                                                                                                                                                              | М                                                                                                                                                                                                                                       |
| Първи прояви на заболяването               | Леко забавено моторно развитие- по-късно прохождение с нестабилна походка и чести падания. Постепенно се затруднява изкачването на стълби, изправянето от клекнало положение поради слабост в мускулатурата на долните крайници. Походка - клатушкаща се, на пръсти. | Леко забавено моторно развитие- по-късно прохождение с нестабилна походка и чести падания. Постепенно се затруднява изкачването на стълби, изправянето от клекнало положение поради слабост в мускулатурата на долните крайници. Походка - клатушкаща се, на пръст. | Леко забавено моторно развитие- по-късно прохождение с нестабилна походка и чести падания. Постепенно се затруднява изкачването на стълби, изправянето от клекнало положение поради слабост в долните крайници. По-късно се появила деформация на дясното стъпало, вследствие на което започнал да стъпва на външната му повърхност и това допълнително затруднило ходенето. | По-тромава походка, стъпва на пръсти поради слабост в мускулатурата на долните крайници и аксиалната мускулатура. Трудно се изравяла от клекнало и легнало положение, трудно изкачвала стълби. | На 6м.в е установен слаб контрол на главата, генерализирана мускулна хипотония, не можел да седи самостоятелно без подкрепа и изоставал в невропсихичното развитие. Установени контрактури на тазобедрените стави и лява колянна става. |
| Възраст на загуба на самостоятелна походка | Придвижва се самостоятелно.                                                                                                                                                                                                                                          | Придвижва се самостоятелно.                                                                                                                                                                                                                                         | От 16г.в. започнал да използва помощно средство за придвижване - инвалидна количка. Постепенно се добавила слабост и в проксималните мускули на ръцете, и в аксиалната мускулатура. До 20 годишна възраст се премествал самостоятелно от                                                                                                                                     | От 37г.в не може да се придвижва самостоятелно                                                                                                                                                 | От 6г.в. се придвижва с двустранна подкрепа.                                                                                                                                                                                            |

|                                                 |         |         |                                                                                                                                              |                                                                                                                                            |                                                        |
|-------------------------------------------------|---------|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|                                                 |         |         | леглото в инвалидната количката. От 30г.в. не може да се изправя от легнало положение, както и да повдига ръцете над хоризонталната равнина. |                                                                                                                                            |                                                        |
| Прогресия на оплакванията                       | -       | -       | +                                                                                                                                            | +                                                                                                                                          | +                                                      |
| Фамилна обремененост                            | +       | +       | -                                                                                                                                            | -                                                                                                                                          | -                                                      |
| КК                                              | 319 U/l | 813 U/l | 173 U/l                                                                                                                                      | 121 U/l                                                                                                                                    | 276 U/l                                                |
| ФЕО 1                                           | 93.3%   | 94.5%   | 71%                                                                                                                                          |                                                                                                                                            | 62%                                                    |
| ФВК                                             | 78.8%   | 82.1%   | 58%                                                                                                                                          |                                                                                                                                            | 52.4%                                                  |
| ЕхоКГ                                           |         |         | Ехография в седнало положение. ФИ 51%. Ехо данни: гранични систолна функция на лява камера камера, лека хипертрофия на дясна камера.         | Данни за малка митрална регургитация. Запазена функция и контрактилитет на сърдечните кухини. Останалите структури в границите на нормата. |                                                        |
| Рентгенография на торакални и лумбални прешлени |         |         |                                                                                                                                              | Без рентгенологични данни за сколиоза.                                                                                                     | Лека дясноконвексна сколиоза с punctum maximum на Th9. |

При четирима от българските пациенти се установява забавено моторно развитие, а при един пациент и изоставане в невропсихичното развитие. При един пациент заболяването започва още от кърмаческа възраст. Основно оплакване при всичките пациенти е мускулна слабост, локализирана основно в проксималните мускули на долните крайници, затрудняваща походката (таблица 16). При двама пациенти липсва съществена прогресия на оплакванията през годините - 1 мъж и 1 жена. При двама пациенти има данни за фамилна обремененост за вродена миопатия- 1 мъж и 1 жена. 3/5 пациенти с прогресията на заболяването са загубили възможността за самостоятелно придвижване. Средната възраст на загуба на самостоятелна походка: 19.6 г.  $\pm$  15.8.

3/5 пациенти имат завишени стойности на КК (2 мъже; 1 жена). Средно увеличение на КК 2.4 пъти  $\pm 1.5$ . При един от изследваните пациенти е установено сърдечно увреждане. При един пациент е установена дясноконвексна сколиоза /мъж/.

От неврологичния статус при всички пациенти се наблюдава миопатен синдром с различна тежест на изява (таблица 17), затруднено изправяне от клекнало положение, симптом на Gowers положителен, затруднено изкачване на стълби, затруднено изправяне от легнало положение. При част от пациентите се установяват допълнителни клинични прояви като деформитети на гръбначния стълб, контрактури, *scapulae alate* (таблица 18).

Таблица 17. Данни от неврологичен статус при българските пациенти с вродена миопатия на Bethlem.

| Пациент | СР                                                                              | Мускулна слабост                                                                                                          | хипотрофии                                                  |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1-ви    | хипорефлексия за стило-радиални, бицепсови, трицепсови и коленни рефлексии.     | проксимални мускули на долните крайници, аксиална слабост,                                                                | липсват                                                     |
| 2-ри    | СНР-хипорефлексия за стило-радиални, бицепсови, трицепсови и коленни рефлексии. | проксимални мускули на четирите крайника, аксиална слабост,                                                               | липсват                                                     |
| 3-ти    | Генерализирана арефлексия                                                       | проксимална мускулна слабост за четирите крайника и аксиална мускулна слабост                                             | Хипотрофии на проксималните мускули на четирите крайника    |
| 4-ти    | Сухожилна хипорефлексия за горни и арефлексия за долни крайници                 | аксиална мускулна слабост и по-силно изразена мускулна слабост за проксимални отдели на четирите крайника                 | липсват                                                     |
| 5-ти    | Сухожилна арефлексия за четирите крайника                                       | генерализирана мускулна слабост, по-силно изразена за проксималните мускули на четирите крайника и аксиалната мускулатура | Хипотрофия на мускулатурата на подбедрицата двустранно Д>Л. |

Таблица 18. Допълнителни клинични характеристики при българските пациенти с вродена миопатия на Bethlem.

|                                                                                                                    |                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Scapulae alate – 3/5                                                                                               | Среща се при: 1-ви, 2-ри, 5-ти<br>/2 мъже; 1 жена/ |
| Ригиден гръбнак- 4/5                                                                                               | 1-ви, 2-ри, 3-ти, 5-ти<br>/3 мъже; 1 жена/         |
| Лумбална хиперлордоза 2/5                                                                                          | 4-ти, 5-ти<br>/1 мъж; 1 жена/                      |
| Скъсени Ахилесови сухожилия – 3/5                                                                                  | 1-ви, 2-ри, 5-ти<br>/2 мъже; 1 жена/               |
| Деформации на стъпалата – 2/5<br>Еквиноварусно ходило                                                              | 3-ти, 5-ти<br>/2 мъже/                             |
| Лявоконвексна сколиоза- 2/5                                                                                        | 1-ви, 2-ри<br>/1 мъж, 1 жена/                      |
| Когнитивен дефицит 1/5                                                                                             | 5-ти<br>/ 1 мъж/                                   |
| Пектус екскаватус- 1/5                                                                                             | 1-ви<br>/1 мъж/                                    |
| Флексионни контрактури в раменни, лакътни, киткови, интрерфалангиални, тазобедрени, коленни и глезенни стави – 1/5 | 3-ти /1 мъж/                                       |
| Контрактура на колянна става, сублуксация на тазобедрена става двустранно 1/5                                      | 5-ти /1 мъж/                                       |

При пациентите е проведено е мануално мускулно тестване за оценка на мускулната слабост в отделните мускулни групи посредством скала MRC (Medical research council) (таблица 19).

Таблица 19. Резултати от проведеното ММТ при пациентите с миопатия на Bethlem.

| Пациент | Слабост в горни крайници                                                                                                                                            | Слабост в долни крайници                                                                                                                                   | Аксиална слабост                      |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 1-ви    | абдукция и аддукция в раменна става 4-/5, флексия и екстензия 4-/5 в раменна става, флексия 4/5 и екстензия 4-/5 в лакътна става; 4-/5 дорзална и палмарна флексия, | флексия и екстензия 4-/5 в ТБС, абдукция 5-/5 и аддукция 4/5 в ТБС, флексия 4/5 и екстензия в коленни стави 4/5, дорзална флексия и плантарна флексия 4-/5 | флексия 4/5 и екстензия в шията 4+/5, |
| 2-ри    | абдукция и аддукция в раменна става 4+/5, абдукция, флексия и екстензия 4-/5 в раменна става 3/5, флексия 4/5 и екстензия 4-/5 в                                    | флексия 4-/5 и екстензия 4/5 в ТБС, абдукция 5/5 и аддукция 4/5 в ТБС, флексия 4/5 и екстензия в коленни стави 4/5, дорзална                               | флексия 4/5 и екстензия в шията 4+/5  |

|      |                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                |                                 |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
|      | лакътна става; 4/5 дорзална и палмарна флексия,                                                                                       | флексия и плантарна флексия 4-/5.                                                                                                                              |                                 |
| 3-ти | абдукция, флексия и екстензия 2/5 в раменна става 3/5, флексия 2/5 и екстензия 2/5 в лакътна става; 3+/5 дорзална и палмарна флексия, | флексия 3+/5 и екстензия 3+/5 в ТБС, абдукция 3/5 и аддукция 1/5 в ТБС, флексия 2/5 и екстензия в коленни стави 2/5, дорзална флексия и плантарна флексия 3/5. | флексия и екстензия в шията 3/5 |
| 4-ти | липсва                                                                                                                                | Дистални мускули на долните крайници 3/5                                                                                                                       | липсва                          |

Резултатите от проведената иглена ЕМГ при пациентите с миопатия на Bethlem са представени на таблица 20.

Таблица 20. Резултати от проведената иглена ЕМГ при пациентите.

|                                                       |
|-------------------------------------------------------|
| 1-ви пациент – ЕМГ данни за миогенна увреда.          |
|                                                       |
| 2-ри пациент- ЕМГ данни за миогенна увреда.           |
|                                                       |
| 3-ти пациент- ЕМГ- данни за дифузна миогенна увреда.  |
|                                                       |
| 4-ти пациент- ЕМГ данни за неактивна миогенна увреда. |
|                                                       |
| 5-ти пациент- ЕМГ данни за миогенна увреда.           |

При всичките пациенти от иглената електромиография се установяват данни за миогенна увреда.

Мускулна биопсия е проведена при пациент #4

Място на ексцизия- m. quadriceps femoris dexter.

Оцветяване- H&E, van Gieson, NADH, Gomori trichrome, PAS, Sudan III, LCA, Vimentin, CD68, Dystrophin 1, gamma- Sarcoglycan, Spectrin, slow Myosin.

#### Микроскопско изследване:

Замразен материал: В изследвания материал се намират единични групи от напречно-набраздени мускулни влакна, с изразени вариации в калибъра, сред мастна и фиброзна тъкан - напреднала липоматоза и фиброза. Налице са атрофични и хипертрофични миофибри, леко повишено количество интернализирани ядра. Не се открива възпалителна инфилтрация. Не се попада на некротични или регенераторни миофибри. Не се намират абнормни акумулации или дефицит на оксидативни ензими, при оцветяване с NADH. Не се откриват сигурни патологични акумулации на PAS (+) субстанции или липиди. При оцветяване с трихром по Гомори не се намират “ragged red” мускулни влакна или rimmed вакуоли.

Имунохистохимично се наблюдава ярко и непрекъснато маркиране на сарколемата с антитяло срещу дистрофин-1. Маркирането с антитела срещу гама-саркогликан и контролния белтък спектрин е по-бледо поради артефициално увреждане на материала. При изследването с антитяло срещу бавен миозин липсва гранулиране.

Фиксиран материал: Наблюдава се силно изразена липоматоза и фиброза с единични миофибри, с изразени вариации в калибъра. Налице са хипертрофични и атрофични мускулни влакна. Изразената пери- и ендомизиална фиброза е добре видима при оцветяване по ван Гизон.

Имунохистомично не се откриват LCA- имунореактивни възпалителни клетки, нито CD68 (+), макрофаги- липсват данни за възпаление. Не се откриват Виментин (+) регенерирани миофибри.

Заклучение: Силно изразени, напреднали миопатни изменения с екстремна липоматоза и фиброза.

#### Терапия:

Пациент #1 провежда терапия с Креатин 5 грама дневно, Витамин С 100мг. 3x1, системна рехабилитация- аналитични упражнения за крайници, за коремна и гръбна мускулатура, упражнения на уреди и дихателна гимнастика.

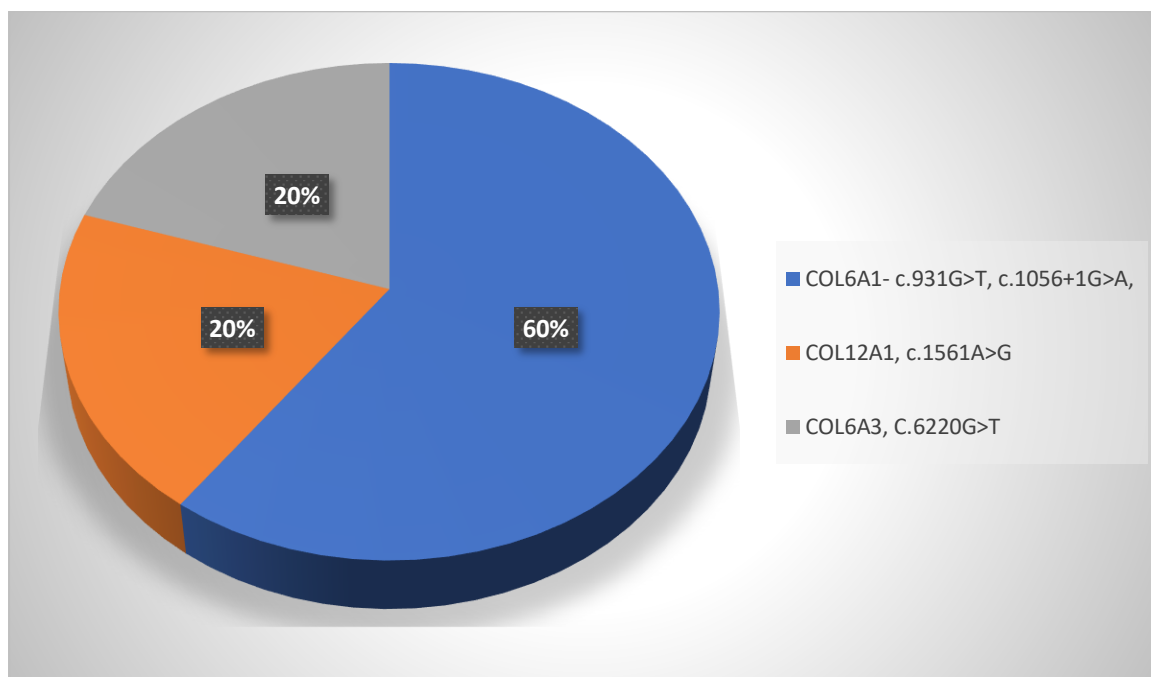
Пациент #2 провежда терапия с Креатин 5 грама дневно и системна рехабилитация- аналитични упражнения за крайници, за коремна и гръбна мускулатура, упражнения на уреди и дихателна гимнастика.

Пациент #3 провежда терапия с Креатин 5 грама дневно 6 дни в седмицата, на седмия ден почива, курсове по 3 месеца, както и системна рехабилитация,

аналитични упражнения за горни крайници с помощ, пасивни упражнения за долни крайници, обучение в седане.

Пациент #4 провежда единствено системна рехабилитация.

Пациент #5 провежда терапия с Креатин 5 грама дневно, суроватъчен белтък, Пюрвитал аденозин трифосфат 1т. дневно и системна рехабилитация.



Фигура 15. Резултати от молекулярно-генетичното изследване при българските пациенти с миопатия на Bethlem.

При всички пациенти се открива хетерозиготна мутация, съответваща на автозомно доминантно унаследяване на заболяването.

#### Обсъждане:

Средната възраст на проява на симптомите при българските пациенти с миопатия на Bethlem е 5.0 г.  $\pm$  5.07, с вариация от 6 м. до 13 г., като липсват пациенти с начало в зрялата възраст [Luísa Panadés-de Oliveira, Claudia Rodríguez-López и съавт., 2019] Съотношение мъже-жени - 3:2. Докладвани са случаите на шестнадесет пациенти от Италия с поставена диагноза миопатия на Bethlem - десет мъже и шест жени- шестима пациенти са със симптоми от детството (37%) и пет от зряла възраст (31%), останалите пет са с несигурно начало на заболяването поради липсата на клинични прояви [Luísa Panadés-de Oliveira, Claudia Rodríguez-López и съавт. 2019]. Описан е случай на китайка с начало на оплакванията от 5 годишна възраст, изразяващи се в слабост на лицевата

мускулатура [[Maohua Li](#) [Jiandi Huang](#) и съавт., 2023], което не се установява сред нашите болни. При трима от нашите пациенти се наблюдава забавено моторно развитие, докато при нито един от останалите пациенти не е докладвано нарушение в моторното развитие. Основна клинична проява при българските пациенти е мускулна слабост, локализирана предимно в проксималните мускули на долните крайници и аксиалната мускулатура (таблица 19). В италианската кохорта мускулната слабост е налице при 13 от 16 пациенти (81%), варираща от лека до тежка. По подобие на нашите пациенти тя е най-силно изразена за проксималните мускули на долните крайници. При 30% от италианските пациенти се установява аксиална мускулна слабост и слабост на дисталните мускулни групи на долните крайници, като само един пациент показва дистална слабост без проксимално засягане. При китайска болна на 30-годишна възраст се установява асиметрична проксимална мускулна слабост в долните крайници и по-лека асиметрична проксимална мускулна слабост в горните крайници, както и лека слабост в лумбален отдел [[Maohua Li](#), [Jiandi Huang](#) и съавт., 2023]. Прогресията на мускулната слабост е бавна. При един от българските пациенти се наблюдава мускулна хипотония още от 6 месечна възраст, забавно невропсихично развитие и контрактури. Всички с изключение на двама пациенти с италиански произход имат контрактури, най-често локализирани в интерфалангеалните и глезенните стави [[Luís Panadés-de Oliveira](#), [Claudia Rodríguez-López](#) и съавт. 2019]. Характерни кожни и респираторни симптоми са докладвани в три случая в Италия, за разлика от българските пациенти, при които отсъстват кожни и респираторни прояви. При пациентката от Китай не се установява засягане на дихателната функция и сърцето. При нашите пациенти от мъжки пол по-често се наблюдават допълнителни клинични характеристики, като криловидни лопатки, ригиден гръбнак, лумбална хиперлордоза, скъсени Ахилесови сухожилия, еквиноварусно стъпало, сколиоза и контрактури. Трима от българските пациентите съобщават за бавна прогресия на оплакванията във времето до степен на невъзможна самостоятелната походка. Средната възраст на загуба на самостоятелна походка е 19.6 г. при българските пациенти. Нарушение на походката в италианската кохорта се наблюдава в пет случая. Двама пациенти се нуждаят от помощни средства за ходене. При трима от българските пациенти се установяват завишени стойности на КК - средно увеличение е 2.4 пъти над нормата, докато при единадесет от италианските пациенти (69%) са установени леки до умерено повишени нива на КК, които варират между 220 и 4000 IU/L. По отношение на МРТ на мускулите, типичен модел се наблюдава при 13 италиански пациенти (81%), докато трима показват нормален образ. Мускулната биопсия, която е проведена при 10

от 16 случая (62%) показва леки до умерени дистрофични промени. Само при един пациент от български произход е проведена мускулна биопсия с установени силно изразени, напреднали миопатни изменения с екстремна липоматоза и фиброза. При трима от българските пациенти е установена мутация в COL6A1, която е с подоброкачествен ход на протичане, при един в COL6A3 и при един в COL6A12 (фигура 15). При девет от италианските пациенти са установени мутации в ген COL6A1, при един пациент е установена мутация в COL6A2 и седем случая с мутации в COL6A3 гена [Luísa Panadés-de Oliveira, Claudia Rodríguez-López и съавт. 2019], а при китайката мутация в COL6A3 гена.

#### **4.8 Пациент с Вродена миопатия в резултат на мутация в CRYAB гена, водеща до развитието на алфа-В кристалинопатия**

Представяме болен на 34 години, с начало на болестта от кърмаческа възраст, като възрастта при поставяне на диагнозата е 31 години.

Първите прояви на заболяването са хипомимичен фациес, носов говор, мускулна хипотония, мускулна слабост предимно за проксималните мускули на горните крайници и по-слабо изразена за проксималните мускули на долните крайници, без съществена прогресия на оплакванията във времето.

От неврологичния статус се установяват данни за миопатен синдром- по-силно изразен за лицевата мускулатура и проксималната мускулатура на горните крайници, миопатен фациес със слабост на m. frontalis, m. orbicularis oculi, m. orbicularis oris, както и булбарна слабост с носов говор. Сухожилните рефлексии са запазени. Налице е мускулна хипотония, по-изразена за проксималните мускули на горните крайници, както и лумбална хиперлордоза, хипотрофии на мускулите на раменния пояс и мишниците, и двустранно криловидни лопатки, по-изразени вдясно.

При мануалното мускулно тестване се установява абдукция в раменна става 4/5. Флексия, аддукция в раменна става 4/5. Флексия 5/5 и екстензия 5/5 в лакътна става. Флексия и екстензия в киткова става 5/5. Абдукция и аддукция в ТЗБС 4/5. Флексия и

екстензия в ТЗБС 4/5. Флексия и екстензия в колянна става 5/5. Плантарна и дорзална флексия 5/5. Висок свод на стъпалата.

От лабораторни изследвания е налице леко завишена стойност на КК 230 U/I /норма до 190/.

ЕхоКГ е с данни за запазена систолна функция и кинетика на сърдечните кухини с ФИ 58%. Налице е нискостепенна трикуспидална регургитация.

ФИД установява рестриктивен тип вентилаторна недостатъчност- ФЕО 1 73%, ФВК 65%.

От невроофтальмологичния преглед не се установява патология.

Молекулярно-генетичното изследване установява хетерозиготна missense c.245A>C (p.Lys82Thr) мутация в *CRYAB* гена.

Обсъждане:

Мутациите в посочения ген са асоциирани с развитието на Миофибриларни миопатии (MFM). Те са група от доминантни, наследствени, дегенеративни заболявания на скелетния и сърдечния мускул, характеризирани се с вътреклетъчно натрупване на протеин, разпадане на миофибрили, десмин-реактивна агрегация на разградени нишки в плеоморфни гранулирани или хиалинни включвания, и ектопична експресия на множество свързани с Z-диск и други протеини. Молекулярната основа на MFM е хетерогенна и са идентифицирани мутации в гени, кодиращи саркомерни Z-диск протеини, включително десмин (DES), алфа-В кристалин (CRYAB), миотилин (TTID), ZASP (LDB3), филамин C (FLNC) и Bcl-2-свързан атаноген-3 протеин (BAG3) [Schroder R, Schoser B и съавт., 2009]. Alpha-B Crystallin е шаперон, който се свързва с разгънати протеинови вериги, в условия на стрес, за предотвратяване на синтезиране на аномални вторични структури. Описано е, че мутациите в гена *CRYAB* причиняват специфичен форма на миофибриларна миопатия, наречена алфа-В кристалинопатия.

Досега тринадесет различни мутации в *CRYAB* гена са идентифицирани, не само в изолирани случаи на MFM, но и във връзка с вродена катаракта, кардиомиопатия и мултисистемни фенотипове, включващи някои или всички от изброените патологии.

[Jiaox X., Khan S.Y., и съавт., 2015], [Inagaki N., Hayashi T. И съавт., 2006], [Vicart P., Caron A. И съавт., 1998].

Клиничните характеристики на MFM са разнообразни. Възрастта на началото на болестта варира от ранна детска възраст до осмото десетилетие от живота, но по-голямата част от MFM започват през четвъртото и петото десетилетие [Schröder R., Schoser B и съавт., 2009]. При българския пациент болестта започва от кърмаческа възраст. Пациентите обикновено се представят с бавно прогресираща мускулна слабост, която често започва от дисталните мускули и се разпространява проксимално, но може да се наблюдава и ранно засягане на проксималната мускулатура на крайниците [Pruszczyk P., Kostera-Pruszczyk A и съавт., 2007]. При нашия пациент клинично се наблюдава хипомимичен фациес, булбарна слабост, мускулна хипотония, мускулна слабост предимно за проксималните мускули на горните крайници и по-слабо изразена за проксималните мускули на долните крайници. Съобщени са случаи от Германия, с *CRYAB* мутации, с оплаквания от мускулна слабост за проксималните и дисталните мускули на четирите крайника, аксиална слабост, булбарна слабост, кардиомиопатия и катаракта [Vicart P, Caron A и съавт., 1998], както и слабост на диафрагмалната мускулатура, и атрофия на мускулатурата на подбедрицата (464delCT) [Selcen D, Engel AG, 2003]. Докладван е един случай на пациент от немски произход с данни за булбарна слабост, бавно прогресираща дистална слабост на долните крайници и атрофия, с двустранна слабост на екстензора на стъпалото и флексорите на пръстите. Не се установява слабост на лицевите мускули (p.Gly154Ser) [Peter Reilich, Benedikt Schoser и съавт., 2010], както и на пациентка на 63-годишна възраст от Полша, с данни за прогресираща слабост на долните крайници и мултисистемно засягане, включващо катаракта и кардиомиопатия. На 56 години болната от полски произход е диагностицирана с хронична дихателна недостатъчност и към днешна дата е на изкуствена белодробна вентилация. При българския пациент е установена рестриктивен тип дихателна недостатъчност, но към момента на изследването без необходимост от изкуствена белодробна вентилация, а пациентът с немски произход е без данни за респираторно увреждане. Кардиомиопатията е асоцииран симптом в 15-30 % от случаите в световен мащаб, но липсва при българския пациент и при пациента с немски произход. Хронична сърдечна недостатъчност при полската болна е диагностицирана на 55-годишна възраст като резултат от дилатативна кардиомиопатия. От неврологичния статус при полякията, както и при нашия пациент се установяват булбарна слабост, слабост и атрофия най- силно изразени в проксималните отдели на горните крайници.

Компютърната томография на долните крайници на пациентката с полски произход установява пълна мускулна атрофия на двете подбедрици и бедрата с относително запазване на m. adductor magnus и полумембранозните мускули. МРТ на цяло тяло на пациента с германски произход показва симетрична мастна дегенерация и атрофия на m.vastus intermedius, m.medialis и m.lateralis, както и m.rectus femoris, m.tensor fasciae latae и m.sartorius [Pilotto A, Marziliano N и съавт., 2006]. И при тримата пациенти има лекостепенно завишение на КК. Поради свързаните фенотипни характеристики и патоморфологичната хетерогенност, диференциалната диагноза между MFM и други миопатии представлява клинично предизвикателство.

#### **4.9 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 9 пациенти с поставена диагноза: Болест на Помпе**

Съотношение на мъже:жени- 7:2

Средната възраст на проява на симптомите при пациентите с Болест на Помпе е 27.9 г.  $\pm$  18.5, с вариация от 8 месеца до 49 г.

- За жените- 29.5 г.  $\pm$  13.4, съответно на 20 г. и 39 г.
- За мъжете- 27.4 г.  $\pm$  21.1, с вариация от 8 м. до 49 г.

Средна възраст при поставяне на диагнозата: 35.7г.  $\pm$  19.2, с вариация от 1г. 4м. до 54г.в.

- За жени- 51.5 г.  $\pm$  7.7, съответно на 57 г. и 46 г.
- За мъже- 31.2 г.  $\pm$  19.4, с вариация от 1 г.4 м. до 54 г.

Средна възраст по време на изследването: 40.3 г.  $\pm$  20.8, с вариация от 3 г.6 м. до 52 г.

- За жени: 61 г.  $\pm$  8.4, съответно на 67 г. и 55 г.
- За мъже: 34.4 г.  $\pm$  19.5, с вариация от 2 г.9 м. до 55г.

Изминало време от проява на първите симптоми до поставяне на диагнозата: 9.8 г.  $\pm$  12.3, с вариация от 8 м. до 37 г.

- За жени: 22 г.  $\pm$  21.2, съответно 37 г. и 7г.
- За мъже: 4.8 г.  $\pm$  3.3, с вариация от 8 м. до 10 г.

Таблица 21. Основни клинични прояви при българските пациенти с болест на Помпе.

| Пациент номер                     | 1                                                                                                                                                           | 2                                                                                                            | 3                                                                                                           | 4                                                                      | 5                                                                                                                                                                                                     | 6                                                                      | 7                                                                                                                                                                                                                                                                      | 8                                                                                                                                          | 9                                                                                                                                               |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Възраст на начало                 | 20г.в.                                                                                                                                                      | 8м.                                                                                                          | асимпто матичен                                                                                             | 40г.                                                                   | 39г.                                                                                                                                                                                                  | 35г.                                                                   | 8м.                                                                                                                                                                                                                                                                    | 39г.                                                                                                                                       | 49г.                                                                                                                                            |
| Възраст при поставяне на диагноза |                                                                                                                                                             | 1г.4м.                                                                                                       | 33г.                                                                                                        | 42г.                                                                   | 35г.                                                                                                                                                                                                  | 45г.                                                                   | 8г.                                                                                                                                                                                                                                                                    | 46г.                                                                                                                                       | 54г.                                                                                                                                            |
| Първи прояви на заболяването      | болка в лумбалната област, слабост в проксималните мускули на долните крайници, затруднено изправяне от клекнало положение и затруднено изкачване на стълби | забавено моторно и невропсихично развитие. Не е проходил самостоятелно. Придвижва се с помощта на походилка. | асимптоматичен носител. Изследван молекулярно-генетично, след като заболяването било установено при брат му | затруднено вдигане на тежки предмети и изправяне от легнало положение. | пациентът е с поставена диагноза Множествена склероза, цереброспинална форма, пристъпно-ремитентен ход на протичане през 2004г., от 3г. е с постоянна, бавно прогресираща слабост в долните крайници. | болка в лумбалната област и затруднено изправяне от легнало положение. | забавено ранно моторно развитие - започнал да се обръща самостоятелно към 8-9 месеца. Проходил на 2 год. възраст, трудно се изкачвал по стълби, не можел да се изправя от клекнало положение, клатушкар се при ходене. Невропсихичното развитие било забавено до 5г.в. | слабост в проксималните мускули на долните крайници, затруднено изкачване на стълби и изправяне от клекнало положение. Промене на походка. | слабост в мускулите около гръбначния стълб, като се навеждал не можел да се изправи. Впоследствие забелязал, че изпитва затруднение при тичане. |
| ФЕО1                              | 29%                                                                                                                                                         | Под 5г.в.                                                                                                    | 92%                                                                                                         | 54%                                                                    | 103%                                                                                                                                                                                                  | 71%                                                                    | 16.3%                                                                                                                                                                                                                                                                  | 89%                                                                                                                                        | 51%                                                                                                                                             |
| ФВК                               | 25%                                                                                                                                                         |                                                                                                              | 85%                                                                                                         | 47%                                                                    | 84%                                                                                                                                                                                                   | 65%                                                                    | 14.5%                                                                                                                                                                                                                                                                  | 76%                                                                                                                                        | 41%                                                                                                                                             |

Най-честите клинични характеристики при българските пациенти са слабост в проксималните мускули на долни крайници (таблица 21) и в по-лека степен на горни крайници, затруднено изкачването на стълби и изправянето от клекнало положение; аксиална мускулна слабост със затруднено изправяне от легнало положение (таблица 22); отслабване на мускулите на тазовия пояс и бедрената мускулатура, с болка в лумбален отдел; променена походката- миопатна; бавно-прогресиращ ход на заболяването.

Наблюдават се и допълнителни прояви на заболяването при пациент #1 съобщава за епизодичен задух, който постепенно станал постоянен, по-силно изразен в легнало положение. Поради намаляване на сатурацията в легнало положение до 70 и установената хиповентиляция от проведената полисомнография, при пациентката е включена неинвазивна белодробна вентилация. При пациент #2 е установено забавено невропсихично развитие. Пациент #7 има сестра, която е 10 години по-голяма от него и към настоящия момент е асимптоматична, за разлика от брат си, при който началото на заболяването датира още от кърмаческия период със забавено моторно и невропсихично развитие.

От неврологичен статус при всички пациенти е налице миопатен синдром, по-изразен за аксиална мускулатура и проксимални мускули на долни крайници (таблица 23); мускулна хипотония- по-изразена за мускули на долните крайници; миопатна походка; невъзможно/затруднено изправяне от легнало положение; затруднено/ невъзможно самостоятелно изправяне от клекнало положение; симптом на Gowers- положителен.

Таблица 22. Резултати от ММТ при българските пациенти с болест на Pompe.

| Пациент | Слабост в горни крайници                                                                                                                                                                                                                 | Слабост в долни крайници                                                                                                                                                             | Аксиална слабост                                                                    |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1-ви    | абдукция в раменни стави- 4-/5;<br>Флексия, аддукция в раменна става 4-/5; флексия 5-/5 и екстензия в лакътна става 5/5;<br>Флексия, екстензия в гъривнени стави 5-/5;                                                                   | абдукция 4-/5 и аддукция 3+/5 в ТЗБС; флексия 4-/5, екстензия 3+/5 в ТЗБС; флексия 4/5 и екстензия в колянна става 4-/5; Плантарна флексия 4/5; дорзална флексия 4+/5;               | Флексия в шия 3+/5; екстензия в шия 4-/5; Невъзможно изправяне от легнало положение |
| 2-ри    | Проксимална слабост                                                                                                                                                                                                                      | Проксимална слабост                                                                                                                                                                  | Затруднено изправяне от легнало положение                                           |
| 3-ти    | Липсва                                                                                                                                                                                                                                   | Липсва                                                                                                                                                                               | Липсва                                                                              |
| 4-ти    | раменна става: флексия 4/5, екстензия 4-/5, абдукция 4-/5 възможна до 90 градуса; флексия с абдукция 4-/5; аддукция 4+/5; Външна ротация 4+/5; вътрешна ротация 5-/5; лакътна става: флексия 4+/5, екстензия 4/5; дистални мускули 5-/5; | ТБС: флексия 3+-4/5, абдукция 4+/5, аддукция 3-/5, вън.ротация 3/5, вътр.ротация 3+/5; колянна става: флексия 4/5, екстензия 4/5; глезенна става: пл.флексия 5/5, дорз.флексия 4-/5. | Флексия в шия 4-/5; екстензия в шия 4-/5; затруднено изправяне от легнало положение |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                    |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 5-ти | абдукция 5/5, флексия в раменни стави 5/5; флексия в лакътна става 5/5, екстензия в лакътна става 5/5; Флексия, екстензия в гъривнени стави 5/5;                                                                                                                | абдукция 4+/5 и аддукция в ТЗБС 4-/3; флексия 5-/4+/5, екстензия в ТЗБС 3+/5; флексия 4-/4-/5 и екстензия в колянна става 4+/5; Плантарна флексия 5-/5-; дорзална флексия 5-/5-;                                                                                                                                                                                                    | Флексия в шия 5-/5; екстензия в шия 5/5; затруднено изправяне от легнало положение |
| 6-ти | раменни стави- 5/5; Флексия, аддукция в раменна става 4/5; флексия и екстензия в лакътна става 5/5; Флексия, екстензия в гъривнени стави 5/5;                                                                                                                   | абдукция в абдукция и аддукция в ТЗБС 4+/5; флексия, екстензия в ТЗБС 4I/5; флексия и екстензия в колянна става 4+/5; Плантарна флексия 5/5; дорзална флексия 5/5                                                                                                                                                                                                                   | Флексия в шия 4+/5; екстензия в шия 5/5; затруднено изправяне от легнало положение |
| 7-ми | раменна става флексия Д 4-/5 ,екстензия 3/5, абдукция 3/5, външна ротация 3/5, вътрешна ротация 4-/5, лакътна става: флексия Д 3+/5, екстензия 4-/5, киткова става супинация 4/5, пронация 4/5, флексия в МТФ 3+/5, флексия в ИФС 3+/5, екстензия в пръсти 3/5. | флеския в ТБС 3/5, екстензия в ТБС 4-/5, аддукция в ТБС 4/5, абдукция 2-/5, външна ротация 4-/5, вътрешна ротация 3+/5, флексия в коленни стави 3+/5, екстензия в коленни стави 4-/5, плантарна флексия 3-/5, дорзална флексия 4-/5, плантарна флексия 4-/5; флексия и екстензия в МТФ стави 3-/5,                                                                                  | Невъзможно изправяне от легнало положение                                          |
| 8-ми | Раменна става флексия Д 5-/5, Л 5-/5 екстензия Д 5-/5, Л 5-/5, абдукция 4+/5, флексия с абдукция Д 5-/5, Л 5-/5; външна ротация Д 5-/5, Л 5-/5, вътрешна ротация 5-/5, лакътна става: флексия 5-/5, екстензия 5+/5                                              | флеския в ТБС Д 4+/5, Л 4+/5; екстензия в ТБС Д 3+/5, Л4-/5; аддукция в ТБС Д 4+/5, Л 4+/5; абдукция Д 4/5, Л 4/5; външна ротация Д 4-/5, Л 4-/5; вътрешна ротация Д 4-/5, Л 4-/5; флексия в коленни стави Д 5-/5, Л 4+/5; екстензия в коленни стави Д 4+/5, Л 4+/5. Глезенна става - дорзална флексия 5-/5, плантарна флексия и супинация 5-/5, плантарна флексия и пронация 5-/5. | Затруднено изправяне от легнало положение.                                         |
| 9-ти | Раменна става флексия Д 4/5, Л 4/5 екстензия Д 4/5, Л 4/5, абдукция Д 4-/5, Л 4/5, флексия с абдукция Д 4/5, Л 4+/5; външна ротация Д 4-/5, Л 4-/5, вътрешна ротация 4+/5, лакътна става: флексия 5-/5, екстензия 4/5.                                          | флеския в ТБС Д 3+/5, Л 3+/5; екстензия в ТБС Д 3+/5, Л3+/5; аддукция в ТБС Д 3+/5, Л 3+/5; абдукция Д 4+/5, Л 4+/5; външна ротация Д 4/5, Л 4/5; вътрешна ротация Д 4/5, Л 4/5; флексия в коленни стави Д 4/5, Л 4/5; екстензия в коленни стави Д 4+/5, Л 4+/5. Глезенна става - дорзална флексия 4+/5, плантарна флексия и супинация 4/5, плантарна флексия и пронация 4+/5.      | Затруднено изправяне от легнало положение                                          |

При двама пациенти е налице тежка аксиална мускулна слабост, водеща до невъзможно изправяне от легнало положение. /1 мъж; 1 жена/

Таблица 23. Резултати от неврологичния статус при българските пациенти с болест на Rompre.

| Пациент | СР                                                                         | Походка                  | Хипотрофии                                                                                        |
|---------|----------------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1-ви    | липсват бицепсови, трицепсови, коленни и отслабени ахилови двустранно      | Възможна с проходилка    | Хипотрофии на пекторални мускули, мускули на мишници, глутеална мускулатура, бедрена мускулатура. |
| 2-ри    | Генерализирана арефлексия                                                  | Самостоятелна-невъзможна | липсват                                                                                           |
| 3-ти    | Нормолефлексия                                                             | Несмутена                | Липсват                                                                                           |
| 4-ти    | Коленна арефлексия двустранно                                              | Миопатна                 | Хипотрофии на проксимални мускули на горни крайници; глутеална мускулатура, бедрена мускулатура.  |
| 5-ти    | Общо оживени с разширени рефлексогенни зони $D > L$                        | Спастично-атактична      | липсват                                                                                           |
| 6-ти    | Отслабени Ахилови рефлекс двустранно                                       | Миопатна                 | Хипотрофии на мускули на раменен пояс, глутеална мускулатура, бедрена мускулатура.                |
| 7-ми    | Генерализирана арефлексия                                                  | Самостоятелна-невъзможна | Генерализирани                                                                                    |
| 8-ми    | Арефлексия за коленни и Ахилови двустранно                                 | Миопатна                 | Хипотрофии на глутеална мускулатура, бедрена мускулатура.                                         |
| 9-ти    | Хипорефлексия в горни крайници, арефлексия за коленни и Ахилови двустранно | Миопатна                 | Хипотрофии на глутеална мускулатура, бедрена мускулатура.                                         |

При двама от пациентите е невъзможна самостоятелната походка. /1 мъж; 1 жена/. При 5/9 пациенти се наблюдава мускулна хипотрофия. /3 мъже; 2 жени/

Таблица 24. Допълнителни находки, установени при прегледи на пациентите с болест на Rompre.

| Пациент | Scapulae alate | Лумбална хиперлордоза | Сколиоза |
|---------|----------------|-----------------------|----------|
| 1-ви    | +              | +                     | +        |
| 2-ри    |                |                       |          |
| 3-ти    |                | +                     |          |

|      |     |   |   |
|------|-----|---|---|
| 4-ти | Л>Д |   |   |
| 5-ти |     | + |   |
| 6-ти | +   | + |   |
| 7-ми |     |   | + |
| 8-ми | Л>Д | + |   |
| 9-ти | +   | + |   |

При 5/9 пациенти се установяват двустранно scapulae alate /3 мъже и 2 жени/. При 6/9 пациенти се установява лумбална хиперлордоза /4 мъже, 2 жени/. При 2/9 пациенти се установява сколиоза /1мъж; 1 жена/ (таблица 24).

При пациент #2 от неврологичния статус се установява още- миопатен фациес-слабост на m.frontalis, m. orbicularis oculi, m. orbicularis oris; булбарна слабост с дизартрия и дисфагия; отслабени фарингеални рефлексии. Контрактури - флексиионни в лява ТЗБС, коленни стави предимно вляво и контрактури на двете Ахилесови сухожилия.

При пациент #7 се установяват флексиионни контрактури на 90 градуси в коленни стави двустранно, флексиионни контрактури в тазобедрени стави двустранно, флексиионни контрактури в лакътните стави, скъсени Ахилесови сухожилия двустранно.

Таблица 25. Резултати от лабораторните изследвания при българските пациенти с болест на Ромре.

| Пациент | ASAT /до 50 норма м<br>до 40 норма ж | ALAT/ 50 норма м<br>до 40 норма ж | КК/ до 190 |
|---------|--------------------------------------|-----------------------------------|------------|
| 1-ви    | 51                                   | 41                                | 216        |
| 2-ри    | 537                                  | 340                               | 2418       |
| 3-ти    | 16                                   | 13                                | 106        |
| 4-ти    | 54                                   | 33                                | 707        |
| 5-ти    | 17                                   | 23                                | 100        |
| 6-ти    | 57                                   | 91                                | 928        |
| 7-ми    | 22                                   | 17                                | 47         |
| 8-ми    | 31                                   | 21                                | 277        |
| 9-ми    | 33                                   | 33                                | 365        |

При 4/9 пациенти стойностите на ASAT са над нормата /3 мъже; 1 жена/. Средно увеличение на ASAT е 3.4 пъти  $\pm$ 4.8.

При 3/9 пациенти стойностите на ALAT са над нормата /2 мъже; 1 жена/. Средно увеличение на ALAT е 3.1 пъти  $\pm$  3.1

При 6/9 пациенти стойностите на КК са над нормата /4 мъже; 2 жени/.

Средно увеличение на КК е 4.2 пъти  $\pm$  4.3.  
 Средно увеличение при жените 1.2 пъти  $\pm$  0.2.  
 Средно увеличение при мъжете 5.7 пъти  $\pm$  4.7

Таблица 26. Резултати от проведената иглена ЕМГ при пациентите с болест на Pompe.

|                                                                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1-ви пациент- ЕМГ данни за миогенна увреда.                                                             |
| 2-ри пациент- изразена миотонична реакция от m. deltoideus dexter.                                      |
| 3-ти пациент- ЕМГ данни за миогенни промени, най-изразени за m. deltoideus и m. quadriceps femoris.     |
| 4-ти пациент- от m. vastus lateralis dexter, m. tibialis anterior dexter- ЕМГ данни за миогенна увреда. |
| 5-ти пациент-ЕМГ данни за миогенна увреда.                                                              |
| 6-ти пациент- ЕМГ без данни за миогенна увреда.                                                         |
| 7-ми пациент- ЕМГ данни за миогенна увреда.                                                             |
| 8-ми пациент- ЕМГ данни за миогенна увреда.                                                             |
| 9-ти пациент- ЕМГ данни за миогенна увреда.                                                             |

При 8/9 пациенти при иглена ЕМГ се установява миогенна увреда (таблица 26).

Таблица 27. Резултати от проведената ЕхоКГ при пациентите с болест на Pompe.

|                                                                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1-ви пациент- ФИ 53%. Заключение: Запазена глобална систолна функция. Диастолна дисфункция. Дегенеративни клапни промени.                          |
| 2-ри пациент- морфологично здраво сърце, ЛК 25/16 мм. ФИ 69 %, септум и задна стена - 5 мм, септум 6 мм- горна граница на нормата.                 |
| 4-ти пациент – ФИ-56%. Заключение: левокамерна хипертрофия, запазена систолна функция и кинетика, диастолна дисфункция, дилатация на аортен корен. |
| 5-ти пациент- ФИ 56%. Заключение: гранична систолна функция, запазени обеми и размери, интактен клапен апарат.                                     |
| 6-ти пациент- ФИ 64%. Лекостепенна левокамерна хипертрофия. Нарушена левокамерна релаксация.                                                       |
| 8-ми пациент- ФИ 60% Заключение: Запазена систолна функция и кинетика.                                                                             |
| 9-ти пациент- ФИ 55% Заключение: запазена систолна функция, диастолна дисфункция, леки митрална и трикуспидална регургитация.                      |

3/7 пациенти се установява ФИ < 60%. /2 мъже; 1 жена/

Допълнителни изследвания са проведени при пациент #3 - МРТ на мускули на раменен пояс, от която се установяват данни за хипотрофия на мускулите, както и на

гърдните мускули, и другите мускули в обема на изследването. МРТ на мускули на тазов пояс и бедра е с нормален образ.

При пациент #7 е проведена лицева графия на торакални и лумбални прешлени с данни за дясноконвексна сколиоза с пунктум максимум на Th11.

Патогенетична ензимзаместителна терапия с Myozyme се провежда при всички симптоматични български пациенти.

1-ви пациент – терапия от 10 години, на фона на която съобщава за стабилизиране на състоянието.

2-ри пациент- терапия от 3 години, на фона на която започнал да пълзи.

3-ти пациент е асимптоматичен и не провежда терапия.

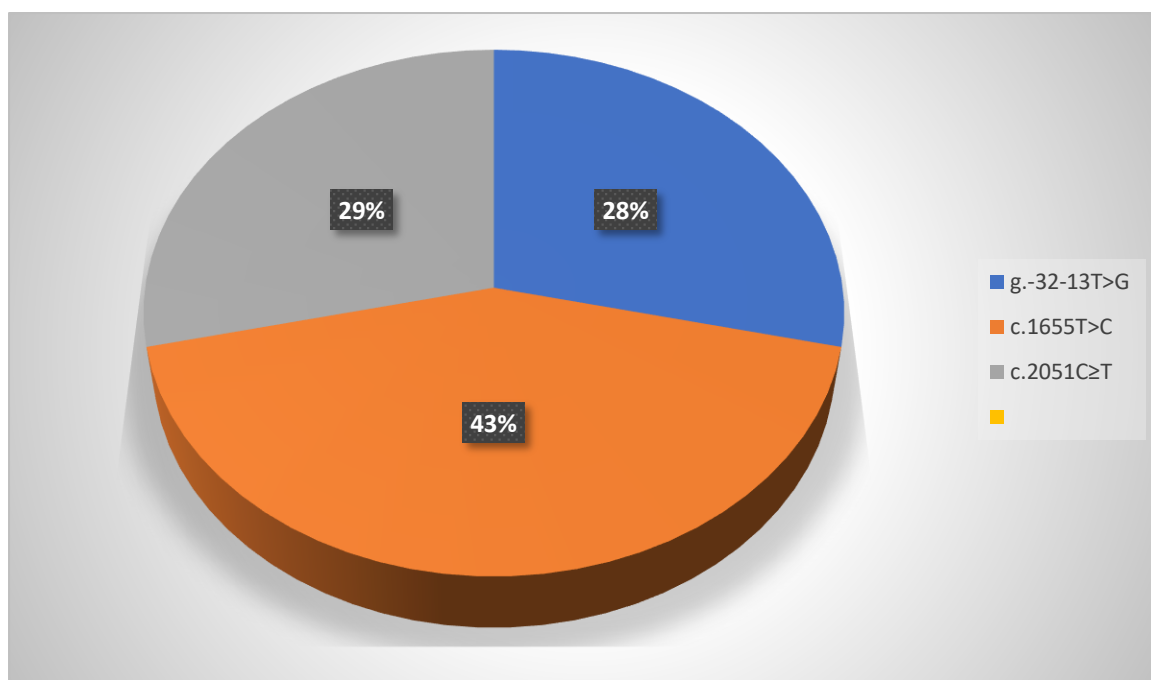
4-ти пациент - терапия от 8 години, на фона на която съобщава за бавно засилване на слабостта в проксималните мускули на долните крайници и аксиалните мускули.

5-ти пациент- терапия от 5 години, на фона на която съобщава за бавно засилване на слабостта в долните крайници.

7-ми пациент - терапия от 9 години, първоначално в рамките на клинично изпитване. Отчетен е добър първоначален ефект – подобрение на мускулната сила и намалено чувство за умора. В значителна степен намаляла тахикардията. От 7 години има постепенна прогресия на оплакванията.

8-ми пациент - терапия от 10 години с бавна прогресия на слабостта в проксималните мускули на краката и аксиалната мускулатура на фона на терапията.

9-ти пациент- терапия от 1 година.



Фигура 16. Мутационен спектър при българските пациенти с болест на Помпе.

Най-честата мутация, която се установява при нашите пациенти е g.32-13T>G.

#### Обсъждане:

Учени от Холандия обобщават 225 случая с Болест на Помпе, докладвани от 19 държави- от САЩ (30 %), Франция (16 %), Холандия (15 %), Япония (6 %) и Южна Африка (2 %). Най-честата мутация, открита в гена на алфаглюкозидазата, g.-32-13T>G, се установява при 28% от нашите болни. Четиридесет и три проценти от пациентите са от женски пол [Léon P F Winkel, Marloes L C Hagemans и съавт., 2005], докато едва 22% от българските пациенти са жени. Началото на симптомите варира от 0 до 71 годишна възраст. Установено е почти равно разпределение мъже-жени при поява на симптоми над 18 години, но под 18 години има повече засегнати мъже, отколкото жени. Средната възраст на проява на симптомите при българските пациенти с Болест на Помпе е 27.9 г.  $\pm$  18.5, с вариация от 8 месеца до 49 години. Двама от нашите пациенти от мъжки пол са с неklasическа инфантилна форма. Първо и основно оплакване при всички български пациенти е мускулна слабост, локализирана в аксиалната мускулатура и в проксималната мускулатура на долните крайници (таблица 22). При 95% от пациентите от обобщените данни, основен клиничен симптом е мускулната слабост. Тя включва: миопатна походка, затруднено изкачване на стълби, забавено двигателно развитие и мускулна хипотония. Вторият най-чест симптом е свързан с дихателното нарушение – то е описано при 44 % от случаите. Дихателната недостатъчност е първи симптом в 2% от случаите.

Необходимост от изкуствена белодробна вентилация е документирано при 28% от всички случаи, спрямо 1 случай от нашите пациенти. Некласическата инфантилната форма при българските пациенти се проявява с мускулна хипотония и забавено моторно развитие, като един от пациентите не е проходил самостоятелно. На по-късен етап и при двамата пациенти с неklasическа инфантилна форма, се развиват контрактури. Допълнителни клинични находки при българските пациенти са криловидни лопатки, лумбална хиперлордоза и сколиоза, които се наблюдават при двете жени и при приблизително половината от мъжете (таблица 24). Мускулна хипотония и сколиоза в обобщените данни се съобщават предимно при пациенти с начало на симптоми преди навършване на една година. Един от нашите пациенти от мъжки пол е с проява на булбарна слабост – дизартрия и дисфагия. При 44% от пациентите се установява завишена стойност на ASAT, при 33% завишение на ALAT, при 66% завишени стойности на КК (таблица 25), докато от обобщените данни КК, LDH, ASAT, ALAT в повечето случаи са над нормата, но не винаги. КК е повишена в 91 %, LDH в 96 %, ALAT в 94 % и ASAT в 95 % от описаните случаи. Хепатомегалия е докладвана при пациенти с развили се първи симптоми преди 6-годишна възраст, докато единствено при една пациентка от български произход е налице хепатомегалия и е с начало на заболяването след 6 годишна възраст. Сърдечно засягане се наблюдава в 42% от българските случаи (таблица 27). Най-честата мутация при българските пациенти е g.-32-13T>G в интрон 1, която е най-често срещаната мутация изобщо в бялата раса (фигура 16). В обобщените данни като допълнителни находки са описани церебрални аневризми, които са открити в 6 случая (3 %). Тридесет и шест пациенти са починали на средна възраст 24,5 години (варираща между 0,9–66). Най-честата причина за смърт е дихателна недостатъчност (72 %, възраст 0,9–66 години). При шест пациенти като причина за развитие на дихателна недостатъчност е посочена пневмония. [Léon P F Winkel, Marloes L C Hagemans и съавт., 2005] Други причини за смърт са: руптура на церебрална аневризма (при 4 пациенти на възраст 16-41 години), сърдечна недостатъчност (при един пациент, възраст 35 години). Втората най-честа причина за смърт е разкъсване на церебрална аневризма (4 от 36). Докладваното разпространение на церебрална аневризма сред описаните пациенти с болест на Pompe е 2,7% (6 от 225), което изглежда малко по-високо от разпространението в общата популация- 1,9 % [Rinkel GJ, Djibuti M и съавт., 1998]. По-висока честота на аневризмите може да се обяснят с натрупването на гликоген в гладкомускулните клетки. Пациентите с по-късна изява на симптомите са с по-добра прогноза [Bijvoet AG, Van Hirtum H, 1999].

Двама от българските пациенти съобщават, че на фона на терапия с Myozyme, имат стационаране на състоянието, а един от тях е с отчетливо подобрене по отношение на мускулната слабост. Четирима от нашите пациенти са с бавна прогресия на заболяването въпреки прилаганото лечение, като при един от тях е имало първоначално подобрене на състоянието, след което започнала постепенна прогресия. При проучване в САЩ са наблюдавани 60 пациента на терапия с Myozyme за срок от 78 седмици, при което е отчетено значително увеличение на изминатото разстояние при теста за 6-минутно ходене (средно увеличение с 25,1 m), както и подобряване на резултатите, получени при функционалното изследване на дишането [[Ans T van der Ploeg](#), [Paula R Clemens](#) и съавт., 2010]. Десетгодишно проследяване на тридесет пациенти с болест на Pompe, които провеждат терапия с Myozyme, в Париж отчита подобрене на резултатите от 6MWT през първите 3 години. След този период се наблюдава вторичен спад, като след 10-годишно лечение на пациентите, средният резултат от 6MWT е по-нисък, отколкото този изчислен в началото на лечението [[Laurike Harlaar](#), [Jean-Yves Hogrel](#) и съавт., 2019]

#### **4.10 Клинична картина и молекулярно-генетичен резултат при 91 пациенти с поставена диагноза: Вроден миастенен синдром**

Представени са 91 пациенти, от ромски произход, с генетично потвърдена диагноза Вроден миастенен синдром.

При всички изследвани пациенти от ромски произход е установена хомозиготна мутация в *CHRNE* гена – с.1267delG в 12 екзон, кодиращ ε- субединицата на ацетилхолиновия рецептор (AChR), водеща до намалена AChR експресия. Първото семейство с ВМС е открито в Ракитово в България от Търнев и съавт. (1997).

За оценка на тежестта на основните клинично проявени симптоми, всички пациенти са изследвани по скала (Congenital Myasthenic Syndrome Combined Child/Adult form-приложение #2). Пациентите са оценени по следните клинични прояви:

1. Очни симптоми (офталмопареза и птоза);
2. Булбарна слабост;
3. Слабост на аксиалните мускули;
4. Слабост на проксималните и дисталните мускули на четирите крайника;

## 5. Дихателна функция.

Въз основа на получените резултати пациентите са класифицирани в три групи, в зависимост от тежестта на изявените клинични симптоми: лека, умерена и тежка.

Таблица 28. Процентно разпределение на българските пациенти с ВМС.

| Общ брой пациенти с ВМС | Жени | Мъже |
|-------------------------|------|------|
| 91                      | 43   | 48   |
| %                       | 47   | 53   |

Таблица 29. Разпределение на пациентите по пол в трите основни групи – лека, умерена и тежка.

| Клинична форма | Брой на пациентите в групата | Мъже | Жени |
|----------------|------------------------------|------|------|
| лека           | 44                           | 24   | 20   |
| умерена        | 26                           | 16   | 10   |
| тежка          | 21                           | 8    | 13   |

Таблица 30. Процентно разпределение по пол в трите основни групи – лека, умерена и тежка.

| Клинична форма | Общ брой % | Мъже % | Жени % |
|----------------|------------|--------|--------|
| Лека           | 48         | 55     | 45     |
| Умерена        | 29         | 62     | 38     |
| Тежка          | 23         | 38     | 62     |

Пациентите с лека форма на протичане на заболяването се характеризират с наличието на птоза на клепачите (едностранна или двустранна), офталмопареза, леко изразена проксимална мускулна слабост на крайниците, при някои е налице булбарна слабост.

Пациентите, категоризирани като умерена форма на тежест на ВМС, са с оплаквания от проксимална мускулна слабост на крайниците и булбарна слабост.

Към тежката форма са причислени пациенти с променена походка, включително загуба на способността за самостоятелно придвижване и булбарна слабост.

Разпределение на пациентите с ВМС по групи:

С лека форма са общо 44 пациенти, от които 20 жени и 24 мъже.

Средна възраст на пациентите при провеждане на изследването е  $23.7 \text{ г.} \pm 12.2$ , медиана 23.5 с вариация от 2 г. до 52 г.

Средна възраст на жените  $21.65 \text{ г.} \pm 12.9$ , медиана 18, с вариация от 2 г. до 52 г.

Средна възраст на мъжете  $25.4 \text{ г.} \pm 11.6$ , медиана 27.5, с вариация от 8 г. до 49 г.

С умерена форма са общо 26 пациенти, от които 10 жени и 16 мъже.

Средна възраст на пациентите при провеждане на изследването е  $20.1 \text{ г.} \pm 14.1$ , медиана 19, с вариация от 1 г.9 м. до 59 г.

Средна възраст на жените  $16.6 \text{ г.} \pm 11.5$ , медиана 15.5, с вариация от 2 г.5 м. до 36 г.

Средна възраст на мъжете  $22.3 \text{ г.} \pm 15.5$ , медиана 20.5, с вариация от 1 г.9 м. до 59 г.

С тежка форма на заболяването са общо 21- 13 жени и 8 мъже.

Средна възраст на пациентите при провеждане на изследването е  $38.8 \text{ г.} \pm 16.6$ , медиана 41, с вариация от 10 г. до 64 г.

Средна възраст на жените  $39.5 \text{ г.} \pm 14.8$ , медиана 41, с вариация от 16 г. до 62 г.

Средна възраст при мъжете  $37.6 \text{ г.} \pm 20.3$ , медиана 38.5, с вариация от 10 г. до 64 г.

Основни клинични прояви при българските пациенти са мускулна слабост в проксимални отдели на четирите крайника и аксиална мускулна слабост, булбарна слабост, респираторни нарушения, двустранна офталмопареза, двустранна птоза на клепачите.

При една от жените, с лека форма, се наблюдава единствено офталмопареза като клинична изява на заболяването. При друга пациентка се наблюдава аксиална мускулна слабост и булбарна слабост, без засягане на проксималната мускулатура на крайниците.

При един от мъжете, с умерена форма, е установена вродена артрогрипоза. При един от мъжете и една от жените, с умерена форма, се установява единствено проксимална мускулна слабост в крайниците, без наличие на друга симптоматика.

При един от мъжете, с тежка форма на ВМС, се е наложило трахеостомиране и прилагане на изкуствена белодробна вентилация за срок от 1 месец. При една от жените, с тежка форма на протичане, се установява наличие на сколиоза.

### Булбарна слабост

За оценка на булбарната слабост се използва скала, оценяваща възможността за преглъщане на храна с различна текстура и различно количество. Максималната стойност на скалата е 9 точки, което отразява напълно невъзможно преглъщане (дори и на слюнка).

При пациентите с лека форма на ВМС, булбарната функция е оценена от 0 т. до 5 т. при жените; 0 т. до 4 т. при мъжете.

Таблица 31. Оценка на булбарната слабост при жените с лека форма.

|           |     |     |
|-----------|-----|-----|
| 9/20 жени | 45% | 0т. |
| 3/20 жени | 15% | 1т. |
| 2/20 жени | 10% | 2т. |
| 5/20 жени | 25% | 3т. |
| 1/20 жени | 5%  | 5т. |

45% от жените с лека форма на заболяването са без булбарна слабост.

55% от жените, които са без булбарна слабост, не провеждат медикаментозна терапия, а 44% са на терапия с Калимин.

Средна стойност за жени: 1.35 т.  $\pm$  1.5, медиана 1, с вариация от 0 до 5 т.

Таблица 32. Оценка на булбарната слабост при мъжете с лека форма.

|            |         |      |
|------------|---------|------|
| 10/24 мъже | 42 %    | 0 т. |
| 3/24 мъже  | 12.50 % | 1 т. |
| 6/24 мъже  | 25 %    | 2 т. |
| 4/24 мъже  | 17 %    | 3 т. |
| 1/24 мъже  | 4 %     | 4 т. |

42% от мъжете, които са с лека форма на заболяването, са без булбарна слабост.

60 % от мъжете, които са без булбарна слабост, не провеждат медикаментозна терапия и 40 % са на терапия с Калимин.

Средна стойност за мъже: 1.2 т.  $\pm$  1.3, медиана 1, с вариация от 0 до 4 т.

Средна стойност за всички пациенти в групата 1.3 т.  $\pm$  1.3, медиана 1, с вариация от 0 до 5 т.

43% от всичките пациенти, които са с лека форма на заболяването, нямат булбарна слабост.

При пациенти с умерена форма на ВМС, булбарната функция е оценено от 0 т. до 6 т. при жените; 0 т. до 5 т. при мъжете.

Таблица 33. Оценка на булбарната слабост при жените с умерена форма.

|           |      |      |
|-----------|------|------|
| 3/10 жени | 30 % | 0 т. |
| 3/10 жени | 30 % | 2 т. |
| 2/10 жени | 20 % | 3 т. |
| 1/10 жени | 10 % | 5 т. |
| 1/10 жени | 10 % | 6 т. |

30 % от жените, които са с умерена форма на протичане на ВМС, са без булбарна слабост.

33 % от жените, които са без булбарна слабост, са без медикаментозна терапия, а 66 % са на терапия с Калимин.

Средна стойност при жени са: 2.3 т.  $\pm$  2.05, медиана 2, с вариация от 0 до 6 т.

Таблица 34. Оценка на булбарната слабост на мъжете с умерена форма

|           |         |      |
|-----------|---------|------|
| 6/16 мъже | 37.50 % | 0 т. |
| 3/16 мъже | 19 %    | 1 т. |
| 1/16 мъже | 6 %     | 2 т. |
| 3/16 мъже | 19 %    | 3 т. |
| 3/16 мъже | 19 %    | 5 т. |

37.5 % от мъжете, които са с умерена форма на протичане на ВМС, са без булбарна слабост.

33 % от мъжете, които са без булбарна слабост, не провеждат медикаментозна терапия, а 66 % са на терапия с Калимин.

Средна стойност при мъже са: 1.8 т.  $\pm$  1.9, медиана 1, с вариация от 0 до 5 т.

35 % от пациентите, които са с умерена форма, нямат булбарна слабост.

Средна стойност на всички пациенти с умерена форма 2 т.  $\pm$  1.9, медиана 2, с вариация от 0 до 6 т.

При пациенти с тежка форма на ВМС, булбарната функция е оценено от 0 т. до 7 т. при жените; 0 т. до 5 т. при мъжете.

Таблица 35. Оценка на булбарната слабост при жените с тежка форма.

|           |         |      |
|-----------|---------|------|
| 4/13 жени | 30,76 % | 0 т. |
| 2/13 жени | 15.38 % | 1 т. |
| 1/13 жени | 7.69 %  | 2 т. |
| 3/13 жени | 23.07 % | 3 т. |
| 1/13 жени | 7.69 %  | 4 т. |
| 1/13 жени | 7.69 %  | 5 т. |
| 1/13 жени | 7.69 %  | 7 т. |

31 % от жените, които са с тежка форма на протичане, нямат булбарна слабост.

25 % от жените, които са без булбарна слабост, са без медикаментозна терапия и 75 % са на терапия с Калимин.

Средна стойност за жени: 2.2 т.  $\pm$  2.2, медиана 2, с вариация от 0 до 7 т.

Таблица 36. Оценка на булбарната слабост при мъжете с тежка форма.

|          |         |      |
|----------|---------|------|
| 1/8 мъже | 12.50 % | 0 т. |
| 1/8 мъже | 12.50 % | 1 т. |
| 5/8 мъже | 62.50 % | 3 т. |
| 1/8 мъже | 12.50 % | 5 т. |

12.50 % от мъжете, които са с тежка форма, няма булбарна слабост и са на терапия с Калимин.

Средна стойност за мъже 2.6 т.  $\pm$  1.5, медиана 3, с вариация от 0 до 5 т.

Средна стойност за всички пациенти с тежка форма 2.3 т.  $\pm$  1.9, медиана 3, с вариация от 0 до 7 т.

36% от всички пациенти, с ВМС, нямат булбарна слабост.

Булбарната слабост присъства при пациентите от трите групи.

Таблица 37. Птоза при пациентите с лека форма на ВМС от женски пол.

| Брой жени | Птоза | Терапия<br>Калимин | Средна<br>стойност | SD   | Вариация от<br>до |
|-----------|-------|--------------------|--------------------|------|-------------------|
| 9/19      | +     | +                  | 42.7 sec.          | 18.4 | 10-60 sec.        |
| 6/19      | +     | -                  | 37.3 sec.          | 11.5 | 21-48 sec.        |

|      |   |   |   |   |   |
|------|---|---|---|---|---|
| 2/19 | - | + | - | - | - |
| 3/19 | - | - | - | - | - |

При една пациентка не е проведено изследване.

26 % от жените са без птоза- 40 % са на терапия с Калимин и 60 % без медикаментозна терапия.

Таблица 38. Птоза при пациентите с лека форма на ВМС от мъжки пол.

| Брой мъже | Птоза | Терапия с Калимин | Средна стойност | SD   | Вариация от до |
|-----------|-------|-------------------|-----------------|------|----------------|
| 12/24     | +     | +                 | 36.9 sec        | 21.7 | 1-60 sec.      |
| 8/24      | +     | -                 | 42.3 sec.       | 19.2 | 1-60 sec.      |
| 1/24      | -     | +                 | -               | -    | -              |
| 4/24      | -     | -                 | -               | -    | -              |

21 % от мъжете са без птоза- 80 % са на терапия с Калимин, 20 % без медикаментозна терапия.

Средна стойност на всички пациенти с лека форма е 39.4 sec.  $\pm$  20.1, с вариация от 1-60 sec.

Таблица 39. Диплопия при пациентите с лека форма с ВМС от женски пол.

|                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------|
| 9/19 от жените са без диплопия и са на терапия с Калимин           |
| 8/19 от жените са без диплопия -и не са на медикаментозна терапия. |
| 1/19 е с диплопия (8 sec.) и е на терапия с Калимин.               |
| 1/19 с диплопия (16 sec.) и е без медикаментозна терапия.          |

Всички мъже в групата са без данни за диплопия.

Диплопията и птозата, в резултат на умора на екстраокуларните мускули, имат постоянни характеристики, независимо от тежестта на заболяването или възрастта.

Таблица 40. Птоза при пациентите с умерена форма от женски пол.

| Брой жени | Птоза | Терапия с Калимин | Средна стойност | SD    | Вариация от до |
|-----------|-------|-------------------|-----------------|-------|----------------|
| 5/10      | +     | +                 | 44.4 sec.       | 16.04 | 22-60 sec.     |
| 4/10      | +     | -                 | 27 sec.         | 9.5   | 18-38 sec.     |
| 1/10      | -     | -                 | -               | -     | -              |

10 % жените са без птоза и без терапия с Калимин.

Таблица 41. Птоза при пациентите с умерена форма от мъжки пол.

| Брой мъже | Птоза | Терапия с Калимин | Средна стойност | SD   | Вариация от до |
|-----------|-------|-------------------|-----------------|------|----------------|
| 9/16      | +     | +                 | 38.8 sec.       | 14.3 | 20-58 sec.     |
| 4/16      | +     | -                 | 23.5 sec.       | 25.8 | 1-60 sec.      |
| 2/16      | -     | +                 | -               | -    | -              |
| 1/16      | -     | -                 | -               | -    | -              |

19 % от мъжете са без птоза, от които 67 % са на терапия с Калимин, 33 % са без медикаментозна терапия.

Средна стойност на всички пациенти- с умерена форма е 23.5 sec.  $\pm$  25.8, с вариация от 1 до 60 sec.

Всички мъже и жени в групата са без диплопия.

Таблица 42. Птоза при пациентите с тежка форма на ВМС от женски пол.

| Брой жени | Птоза | Терапия с Калимин | Средна стойност | SD   | Вариация от до |
|-----------|-------|-------------------|-----------------|------|----------------|
| 8/13      | +     | +                 | 31.5 sec.       | 13.3 | 17-60 sec.     |
| 4/13      | +     | -                 | 23.5 sec.       | 15.7 | 9-45 sec.      |
| 1/13      | -     | +                 | -               | -    | -              |

8 % от жените са без птоза и са на терапия с Калимин.

Таблица 43. Птоза при пациентите с тежка форма на ВМС от мъжки пол.

| Брой мъже | Птоза | Терапия с Калимин | Средна стойност | SD   | Вариация от до |
|-----------|-------|-------------------|-----------------|------|----------------|
| 3/8       | +     | +                 | 35.3 sec.       | 16.5 | 17-49 sec.     |
| 3/8       | +     | -                 | 29.3 sec.       | 24.8 | 15-58 sec.     |
| 1/8       | -     | -                 | -               | -    | -              |
| 1/8       | -     | +                 | -               | -    | -              |

25 % от мъжете са без птоза, от които 50 % на терапия с Калимин, 50 % без медикаментозна терапия.

Средна стойност за всички пациенти в групата е 30 sec  $\pm$  15.4, с вариация от 9 до 51 sec.

Диплопия:

2/13 (15.38%) от жените са с диплопия и са на терапия с Калимин.

Един от мъжете е с диплопия и е на терапия с Калимин и един е с диплопия, и е без медикаментозна терапия.

Таблица 44. Аксиална слабост, измерена чрез необходимо време за изправяне от пода, преди започване на изследването - при лека форма.

| Жени на терапия | Жени без терапия | Мъже на терапия | Мъже без терапия |                |
|-----------------|------------------|-----------------|------------------|----------------|
| 5.7 sec.        | 6.6 sec.         | 4.1 sec.        | 3.6 sec.         | Ср. стойност   |
| 2.9             | 4.04             | 2.08            | 1.5              | SD             |
| 2.9-12.9 sec.   | 4-16.4 sec.      | 1-8.3 sec.      | 2.2-7.8 sec.     | Вариация от до |

Таблица 45. Аксиална слабост, измерена чрез необходимо време за изправяне от пода, след приключване на изследването- при лека форма.

| Жени на терапия | Жени без терапия | Мъже на терапия | Мъже без терапия |                |
|-----------------|------------------|-----------------|------------------|----------------|
| 5.5 sec.        | 5.5 sec.         | 4.4 sec.        | 3.1 sec.         | Ср. стойност   |
| 2.8             | 2.7              | 1.5             | 0.47             | SD             |
| 3-12.5 sec.     | 2.2-12 sec.      | 2.9-7.3 sec.    | 2.6-4.2 sec.     | Вариация от до |

Таблица 46. Аксиална слабост, измерена чрез необходимо време за изправяне от пода, преди започване на изследването- при умерена форма.

| Жени на терапия | Жени без терапия | Мъже на терапия | Мъже без терапия |                |
|-----------------|------------------|-----------------|------------------|----------------|
| 5.9 sec.        | 3.4 sec.         | 5.4 sec.        | 6.5 sec.         | Ср. стойност   |
| 3.3             | 0.5              | 2.1             | 4.07             | SD             |
| 3.5-12.7 sec.   | 3-4 sec.         | 2.4-9.9 sec.    | 3.9-11.2 sec.    | Вариация от до |

За един мъж е невъзможно изправянето от легнало положение- той не провежда медикаментозна терапия.

Таблица 47. Аксиална слабост, измерена чрез необходимо време за изправяне от пода след приключване на изследването -при умерена форма.

| Жени на терапия | Жени без терапия | Мъже на терапия | Мъже без терапия |                |
|-----------------|------------------|-----------------|------------------|----------------|
| 6.6 sec.        | 4.6 sec.         | 6.3 sec.        | 5.2 sec.         | Ср. стойност   |
| 4.04            | 1.01             | 3.5             | 2.03             | SD             |
| 4-14.8 sec.     | 4-5.8 sec.       | 1.8-14 sec.     | 2.6-8.2 sec.     | Вариация от до |

За един мъж е невъзможно изправянето от легнало положение- той не провежда медикаментозна терапия.

Таблица 48. Аксиална слабост, измерена чрез необходимо време за изправяне от пода, преди започване на изследването - при тежка форма.

| Жени на терапия | Жени без терапия            | Мъже на терапия | Мъже без терапия |                |
|-----------------|-----------------------------|-----------------|------------------|----------------|
| 13.4 sec.       | 14.9 sec.<br>само пациентка | 4.2 sec.        | 4.5 sec.         | Ср. стойност   |
| 7.4             |                             | 1.6             | 0.4              | SD             |
| 5.3-28 sec.     |                             | 2.8-6 sec.      | 4-4.9 sec.       | Вариация от до |

За 2/13 жени, които не провеждат терапия, е невъзможно изправянето и за една жена, която провежда медикаментозна терапия.

За един мъж, който провежда медикаментозна терапия, е невъзможно изправянето.

Таблица 49. Аксиална слабост, измерена чрез необходимо време за изправяне от пода, след приключване на изследването - при тежка форма.

| Жени на терапия | Жени без терапия            | Мъже на терапия | Мъже без терапия |                |
|-----------------|-----------------------------|-----------------|------------------|----------------|
| 15.1 sec.       | 19.2 sec.<br>само пациентка | 5.65 sec.       | 5.6 sec.         | Ср. стойност   |
| 9.08            |                             | 0.07            | 1.6              | SD             |
| 6-32 sec.       |                             | -               | 4-7.5 sec.       | Вариация от до |

За 3/13 жени, които не провеждат терапия, е невъзможно изправянето и за една жена, която е на терапия с Калимин.

За 1/8 мъж, който провежда терапия с Калимин, е невъзможно изправянето от легнало положение.

Таблица 50. Задържане на главана изправена на 45гр., при легнало положение- лека форма (норма над 2мин.).

| Жени с терапия | Жени без терапия | Мъже с терапия | Мъже без терапия |                |
|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| 49.6 sec.      | 90.2 sec         | 61.1 sec.      | 66.02 sec.       | Ср. стойност   |
| 26.2           | 26.4             | 18.7           | 37.2             | SD             |
| 26-92 sec.     | 52-112 sec.      | 30-83 sec.     | 26.1-108 sec.    | Вариация от до |

6/20 жени, които провеждат терапия с Калимин, задържат главата повече от 2 мин.

3/20 жени, които не провеждат медикаментозна терапия, задържат главата повече от 2 мин.

6/24 мъже, които са на терапия с Калимин, задържат главата повече от 2 мин.

8/24 мъже, които не провеждат медикаментозна терапия, задържат главата повече от 2 мин.

Таблица 51. Задържане на главата изправена на 45 градуса, при легнало положение- умерена форма (норма над 2 мин.).

| Жени с терапия | Жени без терапия  | Мъже с терапия | Мъже без терапия |                |
|----------------|-------------------|----------------|------------------|----------------|
| 70.3 sec.      | 26 sec. една жена | 48.4 sec.      | 85.5 sec.        | Ср. стойност   |
| 30.5           |                   | 38.3           | 83               | SD             |
| 41-102 sec.    | -                 | 6-100 sec.     | 65-106 sec.      | Вариация от до |

2/10 жени, които са на терапия с Калимин, задържат главата повече от 2 мин.

3/10 жени, които не провеждат медикаментозна терапия, задържат главата повече от 2 мин.

5/16 мъже, които провеждат терапия с Калимин, задържат главата повече от 2 мин.

3/16 мъже, които не провеждат медикаментозна терапия, задържат главата повече от 2 мин.

Таблица 52. Задържане на главата изправена на 45 градуса, при легнало положение

| Жени с терапия | Жени без терапия | Мъже с терапия | Мъже без терапия |                |
|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| 37.8 sec.      | 25 sec           | 44.6 sec.      | 65.2 sec.        | Ср.стойност    |
| 29.6           | 13.5             | 12.5           | 18.4             | SD             |
| 13-80 sec.     | 12-44 sec.       | 33-58 sec.     | 47-90 sec.       | Вариация от до |

Таблица 53. Задържане на крак на 45 градуса от легнало положение - лека форма (норма над 100 sec.).

| Жени с терапия | Жени без терапия   | Мъже с терапия | Мъже без терапия |                |
|----------------|--------------------|----------------|------------------|----------------|
| 35.4/35.7 sec. | 55.06/46.86 sec    | 40.3/32.5 sec. | 24/24.5 sec.     | Ср.стойност    |
| 29.9/30.4      | 39.05/35.07        | 26.7/30.5      | 16.3/17.7        | SD             |
| 1.4-55/1.3-61  | 0.3-87/0.3-92 sec. | 2-70/2-90 sec. | 1-39/1-44 sec.   | Вариация от до |

5/20 жени, които са на терапия с Калимин, задържат всеки крак повече от 100 sec.

3/20 жени, които не приемат медикаментозна терапия, задържат всеки крак повече от 100 sec.

6/24 мъже, които са на терапия с Калимин, задържат всеки крак повече от 100 sec.

8/24 мъже, които не приемат медикаментозна терапия, задържат всеки крак повече от 100 sec.

Таблица 54. Задържане на ръка на 90 градуса от седнало положение -лека форма (норма над 4мин.).

| Жени с терапия    | Жени без терапия    | Мъже с терапия  | Мъже без терапия     |                |
|-------------------|---------------------|-----------------|----------------------|----------------|
| 35.4/35.7 sec.    | 70.8/70.8 sec       | 59.3/60.5 sec.  | 24.2/ 24.4 sec.      | Ср.стойност    |
| 52.5/53.1         | 81.4/81.4           | 49.3/50.3       | 49.6/50.07           | SD             |
| 2.3-96/2.3-97sec. | 1.2-160/1.2-160sec. | 1-110/1-110sec. | 1.2-113/1.2-114 sec. | Вариация от до |

5/20 жени, които са на терапия с Калимин, задържат всяка ръка повече от 4 мин.

5/20 жени, които не приемат медикаментозна терапия, задържат всяка ръка повече от 4 мин.

5/24 мъже, които са на терапия с Калимин, задържат всяка ръка повече от 4 мин.

7/24 мъже, които не приемат медикаментозна терапия, задържат всяка ръка повече от 4 мин.

Таблица 55. Задържане на ръка на 90 градуса от седнало положение - умерена форма (норма над 4 мин.).

| Жени с терапия    | Жени без терапия   | Мъже с терапия       | Мъже без терапия     |                |
|-------------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------|
| 44/94 sec.        | 139.5/140 sec      | 65/55.6 sec.         | 52.4/51.7 sec.       | Ср.стойност    |
| 22.6/93.3         | 127.9/127.2        | 72.8/84.3            | 52.6/52.7            | SD             |
| 28-60/28-160 sec. | 49-230/50-230 sec. | 1.2-210/1.2-240 sec. | 3.3-108/3.3-108 sec. | Вариация от до |

4/10 жени, които са на терапия с Калимин, задържат всяка ръка повече от 4мин.

2/10 жени, които не приемат медикаментозна терапия, задържат всяка ръка повече от 4мин.

4/16 мъже, които са на терапия с Калимин, задържат всяка ръка повече от 4мин.

2/16 мъже, които не приемат медикаментозна терапия, задържат всяка ръка повече от 4мин.

Таблица 56. Задържане на крак на 45гр. от легнало положение - умерена форма (норма над 100sec.).

| Жени с терапия  | Жени без терапия     | Мъже с терапия      | Мъже без терапия       |                |
|-----------------|----------------------|---------------------|------------------------|----------------|
| 33.5/29 sec.    | 53.6/45.3 sec        | 34.9/38.6 sec.      | 24.8/31.3 sec.         | Ср.стойност    |
| 12.02/18.3      | 49.7/42.5            | 27.2/22.4           | 22.4/28.03             | SD             |
| 25-42/16-42 sec | 1.1-100/1.07-86 sec. | 12.7-67/1.3-67 sec. | 1.3-46.1/1.3-56.8 sec. | Вариация от до |

4/10 жени, които са на терапия с Калимин, задържат всеки крак повече от 100 sec.

1/10 жена, която не приемат медикаментозна терапия, задържа всеки крак повече от 100 sec.

7/16 мъже, които са на терапия с Калимин, задържат всеки крак повече от 100 sec.

2/16 мъже, които не приемат медикаментозна терапия, задържат всеки крак повече от 100 sec.

Таблица 57. Задържане на ръка на 90 градуса от седнало положение -тежка форма (норма над 4 мин.).

| Жени с терапия       | Жени без терапия | Мъже с терапия   | Мъже без терапия     |                |
|----------------------|------------------|------------------|----------------------|----------------|
| 45.05/45.1 sec.      | 24.5/24 sec      | 60/60 sec.       | 36.7/37.5 sec.       | Ср.стойност    |
| 49.9/49.9            | 10.8/10.5        | 59.02/59.02      | 23.3/23.8            | SD             |
| 1.5-170/1.5-170 sec. | 14-37/14-37 sec. | 2-120/2-120 sec. | 2.04-52/2.04-52 sec. | Вариация от до |

Един мъж, който е на терапия с Калимин, задържа всяка ръка повече от 4 мин.

Таблица 58. Задържане на крак на 45 градуса от легнало положение - тежка форма (норма над 100 sec.).

| Жени с терапия | Жени без терапия | Мъже с терапия  | Мъже без терапия    |                |
|----------------|------------------|-----------------|---------------------|----------------|
| 13.2/11.9 sec. | 18.4/15.5 sec    | 40.7/51.5 sec.  | 41.7/47.1 sec.      | Ср.стойност    |
| 14.5/14.4      | 7.8/8.6          | 29.3/40.8       | 30.4/43.7           | SD             |
| 1-37/1-34 sec  | 12-29/8-28 sec.  | 1-72/1-100 sec. | 1.1-74/1.4-100 sec. | Вариация от до |

Една жени, която е на терапия с Калимин, задържа всеки крак повече от 100 sec.

Терапия с Калимин.

51/91 пациента /56.04 %/ с ВМС са на терапия с Калимин в различни дози (таблици 59, 60).

Таблица 59. Процентно разпределение на пациентите на терапия с Калимин.

| На терапия | %     | Мъже  | %     | Жени  | %     | Форма   |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| 21/44      | 47.72 | 11/24 | 45.83 | 10/20 | 50.00 | Лека    |
| 17/26      | 65.38 | 11/16 | 68.75 | 6/10  | 60.00 | Умерена |
| 13/21      | 61.90 | 4/8   | 50.00 | 9/13  | 69.23 | Тежка   |

Таблица 60. Минимална и максимална доза, при лечение с Калимин, във всяка една от трите групи

|                 | Лека форма | Умерена форма | Тежка форма |
|-----------------|------------|---------------|-------------|
| Минимална доза  | 4x7.5 мг.  | 2x15 мг.      | 4x15 мг.    |
| Максимална доза | 6x30 мг.   | 5x60 мг.      | 6x120 мг    |

Обсъждане:

В ромското население на Югоизточна Европа има повишена честота на мутацията с.1327delG в гена *CHRNA*. Увеличеното разпространение на мутацията с.1353duplG в гена *CHRNA* е докладвано в Алжир и Тунис. В Испания и Португалия мутацията *CHRNA*-

с.130dupC е преобладаваща. Свързаният с *CHRNA* гена BMC обикновено се смята като най-често срещаната форма. В Западна и Централна Европа мутациите в *RAPSN* гена-с.264C > A и DOK7 - с.1124\_1172dupTGCC са най-разпространени [Josef Finsterer, 2019].

Middleton и съавт. изследват няколко семейства от ромски етнически произход с BMC от Гърция и Турция и установяват обща хомозиготна мутация (съвпадаща с мутацията установена при българските пациенти) в екзон 12 на AChR ε субединица сред тези пациенти. Същата мутация е открита в 11 семейства в Унгария, Сърбия, Косово, Македония и Турция.

Въпреки наличието на един генетичен дефект при всичките пациенти, се наблюдава широка фенотипна хетерогенност, която вероятно е обусловена от комбинираното влияние на гени модификатори и външни фактори.

От посочените 91 пациента - 47% са от женски пол и 53% от мъжки пол (таблици 28, 29). По-голяма част от пациентите са с лека форма на заболяването- 48%, умерена форма са приблизително 29% и тежка форма 23%. В леката и умерената форма по-голям процент от пациентите са от мъжки пол /съответно с 4 повече за леката и с 6 повече за умерената/, докато в тежката група по-голям е дялът на пациентите от женски пол /с 5 пациента повече/ (таблица 30).

Пациентите с лека форма на протичане на заболяването, се характеризират с наличието на птоза на клепачите (едностранна или двустранна), офталмопареза, леко изразена проксимална мускулна слабост на крайниците, при някои е налице булбарна и аксиална слабост. 45% от жените с лека форма на заболяването са без булбарна слабост (таблица 31). Малко повече от половината от тези пациенти не провеждат терапия с Калимин /56%/. Почти същият дял от мъжете /42%/ с лека форма нямат булбарна слабост- като 60% от тях не провеждат медикаментозна терапия с Калимин (таблица 32). При 26 % от жените с лека форма, не се наблюдава птоза /60 % са без медикаментозна терапия/ (таблица 37), при по-малък брой от мъжете /21 %/, птозата отсъства- като 20% не провеждат медикаментозна терапия (таблица 38). 89 % от жените и 100 % от мъжете са без данни за двойно виждане (таблица 39). При 45 % от жените не се наблюдава аксиална слабост, налице е единствено слабост в проксималните мускулни групи /33% от тях не провеждат медикаментозна терапия/ (таблици 44, 45, 50). При 56% от мъжете отсъства аксиална слабост /57 % не провеждат медикаментозна терапия/. При 40 % от жените и 50 % от мъжете се наблюдава проксимална слабост единствено в горните крайници, но не и в долните. При половината от мъжете и жените в групата отсъства

проксималната мускулна слабост в горните крайници, а е налице аксиална слабост в проксималните мускули на долните крайници. При 1/20 от жените с лека форма, се наблюдава единствено офталмопареза като клинична изява на заболяването. При 1/20 от жените с лека форма, се наблюдава аксиална мускулна слабост и булбарна слабост, без засягане на проксималната мускулатура на крайниците (таблици 53, 54).

При умерената форма булбарната слабост е по-често срещана клинична характеристика в сравнение с леката форма - наблюдава се при 70 % от жените (таблица 33) и 62.5 % от мъжете (таблица 34). Птозата се среща при почти всички пациенти в групата- 90 % от жените и 81 % от мъжете (таблици 40, 41). При нито един пациент в групата не се наблюдава диплопия. При половината от жените и мъжете не се наблюдава аксиална мускулна слабост или тя е дискретно проявена (таблици 46, 47, 51). 60 % от жените и 37 % от мъжете нямат слабост в горните крайници. Половината от пациентите в групата са без слабост в долните крайници (таблици 55, 56).

При тежката форма 69 % от жените (таблица 35) и 87.5 % от мъжете са с прояви на булбарна слабост (таблица 36). 93 % жените и 75 % от мъжете са с птоза (таблици 42, 43). Диплопия се наблюдава при 15 % от жените и при 25 % от мъжете. При всички пациенти се регистрира аксиална мускулна слабост (таблици 48, 49, 52). При 88 % от мъжете и при 100 % от жените се наблюдава проксимална слабост в горните крайници. При 100 % от мъжете и при 99 % от жените се наблюдава слабост в долните крайници (таблици 57, 58)

От посочените данни се вижда, че основни клинични характеристики при пациентите с ВМС от ромски произход са: офталмопареза, птоза, булбарна, аксиална и проксимална мускулна слабост. Всички пациенти са с нормално моторно развитие. Описани са случаи на седем пациенти от Китай с мутация в същия ген, като при шестима от болните е налице забавено моторно развитие [[Yawen Zhao<sup>1</sup>, Ying Li](#) и съавт., 2021]. Докладвани са седем случая от Германия, всички от които са със забавено моторно развитие. При един от немските пациенти се съобщава за намалени движения на плода още по време на бременността [[Adela Della Marina, Eva Wibbeler](#) и съавт., 2020]. Булбарната слабост е най-често срещана при тежката форма на ВМС- 78 % при българските пациентите, при 66 % в умерената форма и при 51 % от леката форма, докато при китайската и немската кохорта булбарна слабост не се наблюдава при нито един пациент. Описани са 14 случая на пациенти с турски произход, като при всички е налице булбарна слабост [[Uluc](#)

Yiş, Kerstin Becker, 2017]. Диплопия се среща единствено в леката и тежката форма на болестта при нашите пациенти, съответно: в 11% от жените с лек фенотип и 25 % от пациентите с тежък фенотип. Птозата се среща най-често при умерената форма – 85 %, след това при тежката форма -84 % и най-малко при леката форма -76.5 %, докато в Китай е налице при всички пациенти, като при шест от тях тя е първият клиничен белег. Птозата и офталмопарезата са налице и персистират при всички пациенти с немски произход. Птозата и офталмопарезата са персистиращи оплаквания и при всички пациенти с турски произход. Описани са 13 случая на пациенти от Австралия с лека клиничната картина на заболяването, с преобладаване на очни симптоми, включително офталмопареза при 12/13 пациенти и птоза при 13/13 пациенти [Martin Krenn, Merve Sener и съавт., 2023]. Докладван е случай на 17-годишна жена от Малдиви с двустранна частична птоза, пълна външна офталмоплегия, проксимална мускулна слабост и булбарна слабост [Thashi Chang, Judith Cossins, 2016]. Степенната на аксиална, проксимална и дистална мускулна слабост се различава между пациентите от отделните групи с ВМС с български произход. Аксиалната и проксималната мускулна слабост са най-честите симптоми за пациентите от тежката форма. При всичките пациенти от китайската кохорта се наблюдава слабост на мускулатурата на крайниците. При всички турски пациенти се установява единствено проксимална мускулна слабост. Генерализирана мускулна слабост се установява в 3 от случаите с китайски произход. Офталмопареза в комбитация с проксимална мускулна слабост се установява в 5/7 случая в Китай, слабост на лицевата мускулатура в 3/7, аксиална слабост при 3/7, мускулна атрофия се установява при 1 пациент. Аксиалната мускулна слабост е по-силно изразена в сравнение с проксималната и дисталната слабост на крайниците при пациентите с немски произход. Флуктуация на оплаквания е наблюдавана при 5/7 от пациентите в Китай. При турските пациенти, не се наблюдава прогресия на заболяването.

Увреждането на дихателната функция е по-изразено при пациентите с тежка форма на ВМС с български произход, което е резултат от слабост на дихателната мускулатура. Не се установява засягане на дихателната мускулатура при случаите от Китай. Дихателна слабост изобщо не е наблюдавана при пациенти от Австралия, както и при пациентите от Турция.

От посочените данни се вижда, че при всички пациенти с ВМС, дължащ се на мутация в *CHRNA* гена, клинично се наблюдават: птоза, офталмопареза, булбарна, аксиална

слабост и слабост на проксималната мускулатура на крайниците, но с различна степен на проява.

## 5. Изводи

1. Вродените миотонии в България са клинично и генетично хетерогенни.
2. Автозомно рецесивната миотония тип Бекер е значително по-честа в България, от останалите форми на заболяването.
3. Най-честата мутация, установена при пациентите с Вродена миотония тип Бекер е c.2680C>T.
4. Пациентите с Парадоксална миотония, Хипокалиемична периодична парализа и „Rippling” миопатия са с типична клинична картина, която е описана при пациенти с посочените диагнози в световен мащаб.
5. Наблюдава се широк спектър на генотип/фенотип корелациите при българските пациенти с Вродена миопатия.
6. При българските пациенти с диагноза “Central core” миопатия са установени мутации p.Leu1668Phe и p.Arg4861His в *RYR1* гена с АД тип на унаследяване, който е най-често засегнатият ген в световен мащаб.
7. Мутациите в *COL6A1* гена са най-честите при българските пациенти - 60% от случаите с миопатия на Bethlem.
8. Основни клинични прояви при българските пациенти с болест на Pompe са аксиалната и проксималната мускулна слабост. Клиничната симптоматика включва миопатна походка, затруднено изкачване на стълби, забавено двигателно развитие и мускулна хипотония.
9. Дихателно нарушение, налагащо използване на изкуствена белодробна вентилация, засягане на сърдечната функция, както и завишени стойности на АСАТ, АЛАТ и КК са докладвани значително по-рядко при българските пациенти в сравнение с пациентите в световен мащаб.
10. Най- честите мутации, при българските пациенти с болест на Pompe, са g.-32-13T>G в интрон 1 и c.1655T>C в екзон 12, които са най-често срещани изобщо в бялата раса.
11. Всички български пациенти с Вродена миастения са от ромски произход и с установена хомозиготна мутация в *CHRNA* гена - 1267delG в 12 екзон, кодиращ ε-субединицата на ацетилхолиновия рецептор (AChR), водеща до намалена AChR експресия.

12. По-голямата част от пациентите с ВМС, дължащ се на хомозиготна мутация в *CHRNE* гена, са с лека форма на заболяването.
13. При леката и умерената форма на ВМС по-голям процент от пациентите са от мъжки пол, докато в тежката група по-голям е дялът на пациентите от женски пол.
14. Основни клинични характеристики при пациентите с ВМС от ромски произход са: офталмопареза, птоза, булбарна, аксиална и проксимална мускулна слабост. Булбарната слабост е най-често срещана при тежката форма.
15. Аксиалната и проксималната мускулна слабост са най-честите симптоми за пациентите от тежката форма. Увреждането на дихателната функция е по-изразено при пациентите с тежка форма, което е резултат от слабост на дихателната мускулатура.

## 6. Приноси

### Научно-теоритични:

1. Описан е клиничният фенотип на автозомно рецесивна вродена миотония тип Бекер, причинена от мутации с.2398G>T, с.490T>C, с.817G>A в *CLCN1* гена, недокладвани до този момент.
2. Описан е клиничният фенотип на семейство с Натриево-канална вродена миотония, дължаща се на мутация с.1333G>A в *SCN4A* гена.
3. Описан е клиничният фенотип на семейство с Кавеолинопатия- “Rippling” миопатия, причинена от мутация с.136G>A, р.Ala46Thr в *Cav3* гена.
4. Описан е клиничният фенотип на пациент със “Central core” миопатия, причинена от нова мутация с.5002C>T, в *RyR1* гена.
5. За първи път е описан пациент с хетерозиготна missense мутация с.245A>C в *CRYAB* гена, водеща до развитието на алфа-В кристалинопатия.
6. Описани е клиничният фенотип на вродена миопатия на Bethlem, причинена от мутации -с.931G>T в *COL6A1* гена, с.1561A>G в *COL12A1* гена и с.6220G>T в *COL6A3* гена.
7. Описана е клиничната вариабилност на мутацията 1267delG, причиняваща Вродена миастения тип Ia като е изследвана голяма кохорта от болни.

## **Приложни:**

1. Събрана е голяма кохорта от пациенти с някои редки невромускулни заболявания: вродени миотонии, вродени мускулни дистрофии, вродени миастении и метаболитни миопатии.
2. Клинико-генетичното проучване на тези заболявания ще бъде използвано при бъдещи терапевтични възможности за провеждане на етиологично и патогенетично лечение.

## **7. Литература:**

1. Асенова А. Дисертация за присъждане на образователно научна степен „Доктор“ на тема: „Миастения в детска възраст- клинични характеристики, еволюция и прогноза“, София, 2018г.
2. Бориславова В. Дисертация за присъждане на образователно научна степен „Доктор“ на тема: "Невроофталмологична симптоматика при невромускулни заболявания“, София, 2013г.
3. Гергелчева В., Търнев И. Конгенитални миастенни синдроми. Неврологична и психиатрична практика, 2007, 1, 2-5.
4. Гергелчева,В., Литвиненко И., Черникова С., Божинова В., Михайлова В., Ишпекова Б., Ангелова Л., Иванов И., Димова П., Оскар А., Йорданова А., Емар Б., Енгел А., Локмюлер Х., Калайджиева Л., Търнев И. Конгенитален миастенен синдром тип Ia ( фамилна инфантилна миастения ) при българските роми. Българска Неврология, 2007, 7, 242-245. Конгенитален миастенен синдром тип Ia – клинично фенотипизиране и генетична епидемиология. Педиатрия, 2005, 3, 17-21.
5. Миланов И., Търнев И., Чамова Т. Национален консенсус за диагностика, и профилактика на наследствените невромускулни заболявания. Българска неврология. 2019; 20;допълнение 2: 1-36.
6. Миланов И., Търнев И., Чамова Т. Национален консенсус за диагностика, и профилактика на наследствените невромускулни заболявания. Двигателни нарушения. 2020; 17; допълнение 1: 9-70.
7. Танева А., Чамова Т., Търнев И. Клиничен спектър на кавеолинопатиите, Mediscart, 2018.

8. Търнев И. Дисертация за присъждане на научната степен "Доктор на медицинските науки" на тема "Клинико-генетично и епидемиологично проучване на шест новооткрити невромускулни заболявания сред ромите в България", София, 2001.
9. Търнев И., Гергелчева В., Литвиненко И., Божинова В., Ишпекова Б., Димова П., Иванов И., Чернинкова С., Емар Б., Енгел А., Локмюлер Х., Калайджиева Л.
10. Търнев И., Чамова Т., Сарафов С., Господинова М., Синигерска И., Киров А., Гергелчева В., Тодоров Т., Капрелян А., Ангелова Л., Грудкова М., Генов 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 някои редки неврогенетични заболявания – опитът в България. Редки болести и лекарства сираци. 2015; 17-22.
11. Търнев И., Чамова Т., Синигерска И., Гергелчева В., Господинова М., Ганова П., Стоилов Р., Тодорова А., Тодоров Т. Описание на първия случай на болест на Ротре в България. Българска неврология. 2013;14 (1):36-41.
12. Чамова Т., Гергелчева В., Чернинкова С., Господинова М., Бориславова В., Йорданова А., Хорват Р., Търнев И. Клиничен спектър и алгоритъм на диагностика при митохондриалните цитопатии. Хронична външна офталмопареза (СРЕО) и СРЕО плюс синдроми. Медикарт. Неврология и психиатрия. 2012;2:59-63.
13. Чамова Т., Синигерска И., Гергелчева В., Господинова М., Генов К., Стайков И., Димитрова Х., Тотева Н., Стратиева С., Новачкова С., Дачева П., Ганова П., Тодорова А., Тодоров Т., Търнев И. Селективен скрининг на пациенти с недиференцирани миопатии при диагностиката на болестта на Помпе. Медикарт. Неврология и психиатрия. 2013;3:22-27.
14. Чернинкова С. Дисертация за присъждане на научната степен "Доктор на медицинските науки" на тема: „Невроофтальмологични проучвания при някои придобити и наследствени заболявания на нервната система и окото“, София, 2008г.
15. Чернинкова С., Гергелчева В., Литвиненко И., Божинова В., Иванова И., Оскар А., Михайлова В., Локмюлер Х., Търнев И. Очедвидгателни нарушения при болни

- с конгенитален миастенен синдром ип Ia. Български офталмологичен преглед, 2006, 3, 6-10.
16. A G Engel, X-M Shen, D Selcen, S M Sine. Congenital myasthenic syndromes: pathogenesis, diagnosis, and treatment. 2015 May;14(5):461.
  17. A K Lampe, K M D Bushby. Collagen VI related muscle disorders. <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2002.002311>
  18. Adela Della Marina<sup>1</sup>, Eva Wibbeler<sup>2</sup>, Angela Abicht<sup>3,4</sup>, Heike Kölbel<sup>1</sup>, Hanns Lochmüller<sup>5,6,7</sup>, Andreas Roos<sup>1</sup>, Ulrike Schara<sup>1</sup>. Long Term Follow-Up on Pediatric Cases With Congenital Myasthenic Syndromes-A Retrospective Single Centre Cohort Study. 2020 Dec 7;14:560860.
  19. Adina-Ioana Derevenciuc, Angela Abicht, Suad Hamza, Christian Roth, Andreas Ferbert. Thomsen myotonia--A 4-generation family with a new mutation and a mild phenotype. 2016 Apr;53(4):653-4.
  20. Agrawal PB, Greenleaf RS, Tomczak KK et al. (2007). Nemaline myopathy with minicores caused by mutation of the CFL2 gene encoding the skeletal muscle actinbinding protein, cofilin-2. *Am J Hum Genet* 80: 162–167.
  21. Ahmed Aboumousa<sup>1</sup>, Jessica Hoogendijk, Richard Charlton, Rita Barresi, Ralf Herrmann, Thomas Voit, Judith Hudson, Mark Roberts, David Hilton-Jones, Michelle Eagle, Kate Bushby, Volker Straub. Caveolinopathy--new mutations and additional symptoms, 2008 Jul;18(7):572-8.
  22. Ahola-Erkkila S, Carroll CJ, Peltola-Mjosund K, et al. Ketogenic diet slows down mitochondrial myopathy progression in mice. *Hum Mol Genet*. 2010;19(10):1974–1984.
  23. Al Shehri A., Al-Asmi A., Al Salti A.M., Almadani A., Hassan A., Bamaga A.K., Cupler E.J., Al-Hashel J., Alabdali M.M., Alanazy M.H., et al. A Multidisciplinary Perspective Addressing the Diagnostic Challenges of Late-Onset Pompe Disease in the Arabian Peninsula Region Developed from an Expert Group Meeting. *J. Neuromuscul. Dis*. 2022;9:661–673.
  24. Alberca R, Rafel E, Castilla JM, Gil-Peralta A. Increased mechanical muscle irritability syndrome. *Acta Neurol Scand* 1980;62:250–254.
  25. Andersen G, Hedermann G, Witting N, Duno M, Andersen H, Vissing J. The antimyotonic effect of lamotrigine in non-dystrophic myotonias: a double-blind randomized study. *Brain*. 2017;140:2295-2305.

26. Andrew G Engel<sup>1</sup>, Xin-Ming Shen<sup>2</sup>, Duygu Selcen<sup>2</sup>, Steven M Sine<sup>3</sup>. Congenital myasthenic syndromes: pathogenesis, diagnosis, and treatment. 2015 Apr;14(4):420-34
27. Andrew G Engel. Congenital Myasthenic Syndromes in 2018. 2018 Jun 12;18(8):46.
28. Ans T van der Ploeg<sup>1</sup>, Paula R Clemens, Deyanira Corzo, Diana M Escolar, Julaine Florence, Geert Jan Groeneveld, Serge Herson, Priya S Kishnani, Pascal Laforet, Stephen L Lake, Dale J Lange, Robert T Leshner, Jill E Mayhew, Claire Morgan, Kenkichi Nozaki, Dorothy J Park, Alan Pestronk, Barry Rosenbloom, Alison Skrinar, Carine I van Capelle, Nadine A van der Beek, Melissa Wasserstein, Sasa A Zivkovic. A randomized study of alglucosidase alfa in late-onset Pompe's disease. 2010 Apr 15;362(15):1396-406.
29. Ansevin CF, Agamanolis DP. Rippling muscles and myasthenia gravis with rippling muscles. Arch Neurol 1996;53: 197–199.
30. Apparsundaram S., Ferguson S.M., George A.L., Jr., Blakely R.D. Molecular cloning of a human, hemicholinium-3-sensitive choline transporter. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000;276:862–867.
31. Astrea G, Petrucci A, Cassandrini D, Savarese M, Trovato R, Lispi L, Rubegni A, et al. Myoimaging in the NGS era: the discovery of a novel mutation in MYH7 in a family with distal myopathy and core-like features—a case report. BMC Med Genet. 2016;17:25.
32. Ausems MG, Verbiest J, Hermans MP, Kroos MA, Beemer FA, Wokke JH, Sandkuijl LA, Reuser AJ, van der Ploeg AT. Frequency of glycogen storage disease type II in the Netherlands: implications for diagnosis and genetic counselling. *Eur J Hum Genet.* 1999; 7:713–16.
33. Bacman SR, Williams SL, Pinto M, Moraes CT. The Use of Mitochondria-Targeted Endonucleases to Manipulate mtDNA. *Methods Enzymol.* 2014;547:373–397.
34. Banwell BL, Ohno K, Sieb JP, et al. (2004). Novel truncating RAPSN mutation causing congenital myasthenic syndrome responsive to 3,4-diaminopyridine. *Neuromuscul Disord* 14: 202–207
35. Belaya K, Finlayson S, Slater CR, et al. Mutations in DPAGT1 cause a limb-girdle congenital myasthenic syndrome with tubular aggregates. *Am J Hum Genet* 2012; 91:193–201.

36. Ben Ammar A., Petit F., Alexandri N., Gaudon K., Bauche S., Rouche A., Gras D., Fournier E., Koenig J., Stojkovic T., et al. Phenotype genotype analysis in 15 patients presenting a congenital myasthenic syndrome due to mutations in DOK7. *J. Neurol.* 2010;257:754–766.
37. Benarroch L., Bonne G., Rivier F., Hamroun D. The 2023 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome) *Neuromuscul. Disord.* 2022;33:76–117.
38. Bernier FP, Boneh A, Dennett X, Chow CW, Cleary MA, Thorburn DR. Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adults and children. *Neurology.* 2002;59(9):1406–1411.
39. Bethlem J, Wijngaarden GK (1976) Benign myopathy, with autosomal dominant inheritance. A report on three pedigrees. *Brain* 99:91–100.
40. Betz RC, Schoser BG, Kasper D et al. (2001). Mutations in CAV3 cause mechanical hyperirritability of skeletal muscle in rippling muscle disease. *Nat Genet* 28: 218–219.
41. Bevilacqua JA, Bitoun M, Biancalana V et al. (2009). “Necklace” fibers, a new histological marker of late-onset MTM1-related centronuclear myopathy. *Acta Neuropathol (Berl)* 117: 283–291.
42. Bevilacqua JA, Monnier N, Bitoun M et al. (2011). Recessive RYR1 mutations cause unusual congenital myopathy with prominent nuclear internalisation and large areas of myofibrillar disorganisation. *Neuropathol Appl Neurobiol* 37: 271–284.
43. Bharucha-Goebel DX, Santi M, Medne L, Zukosky K, Dastgir J, Shieh PB, et al. CG. Severe congenital RYR1-associated myopathy: the expanding clinicopathologic and genetic spectrum. *Neurology.* 2013;80:1584–9.
44. Biancalana V, Caron O, Gallati S et al. (2003). Characterisation of mutations in 77 patients with X-linked myotubular myopathy, including a family with a very mild phenotype. *Hum Genet* 112: 135–142.
45. Bieganowski P, Brenner C. Discoveries of nicotinamide riboside as a nutrient and conserved NRK genes establish a Preiss-Handler independent route to NAD<sup>+</sup> in fungi and humans. *Cell.* 2004;117(4):495–502.
46. Bijvoet AG, Van Hirtum H, Vermey M, Van Leenen D, Van Der Ploeg AT, Mooi WJ, Reuser AJ (1999) Pathological features of glycogen storage disease type II highlighted in the knockout mouse model. *J Pathol* 189:416–424.
47. Bitoun M, Bevilacqua JA, Eymard B et al. (2009). A new centronuclear myopathy phenotype due to a novel dynamin 2 mutation. *Neurology* 72: 93–95.

48. Bitoun M, Bevilacqua JA, Prudhon B et al. (2007). Dynamin 2 mutations cause sporadic centronuclear myopathy with neonatal onset. *Ann Neurol* 62: 666–670.
49. Bitoun M, Maugendre S, Jeannet P-Y et al. (2005). Mutations in dynamin 2 cause dominant centronuclear myopathy. *Nat Genet* 37: 1207–1209.
50. Bohlega S, Abu-Amero SN, Wakil SM et al. (2004). Mutation of the slow myosin heavy chain rod domain underlies hyaline body myopathy. *Neurology* 62: 1518–1521.
51. Bohlega S, Lach B, Meyer BF et al. (2003). Autosomal dominant hyaline body myopathy: clinical variability and pathologic findings. *Neurology* 61: 1519–1523.
52. Bonne G, Mercuri E, Muchir A et al. (2000). Clinical and molecular genetic spectrum of autosomal dominant Emery–Dreifuss muscular dystrophy due to mutations of the lamin A/C gene. *Ann Neurol* 48: 170–180.
53. Bonnemann CG, Brockmann K, Hanefeld F (2003) Muscle ultrasound in Bethlem myopathy. *Neuropediatrics* 34:335–336.
54. Borg K, Hovmoller M, Larsson L, Edstrom L. Paramyotonia congenita (Eulenburg): clinical, neurophysiological and muscle biopsy observations in a Swedish family. *Acta Neurol Scand* 1993;87:37–42.
55. Bradley WG, Hudgson P, Gardner-Medwin D et al (1973) The syndrome of myosclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 36:651–660.
56. Bradley WG, Hudgson P, Gardner-Medwin D et al. (1973). The syndrome of myosclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 36: 651–660.
57. Bradley WG, Taylor R, Rice DR et al. Progressive myopathy in hyperkalemic periodic paralysis. *Arch Neurol* 1990;47:1013–7.
58. Brandis A, Aronica E, Goebel HH. TPM2 mutation. *Neuromuscul Disord* 2008; 18:1005
59. Bretag AH. Membrane channels and muscle disease. *Aust Paediatr J* 1988;24 Suppl:50–54.
60. Broomfield A, Fletcher J, Davison J, Finnegan N, Fenton M, Chikermane A, Beesley C, Harvey K, Cullen E, Stewart C, et al. Response of 33 UK patients with infantile-onset Pompe disease to enzyme replacement therapy. *J Inherit Metab Dis*. 2016;39:261–271.
61. Bruno Eymard<sup>1</sup>, Daniel Hantaï, Brigitte Estournet. Congenital myasthenic syndromes. DOI: 10.1016/B978-0-444-59565-2.00016-2
62. Bruno Eymard<sup>1</sup>, Daniel Hantaï, Brigitte Estournet. Congenital myasthenic syndromes. 2013;113:1469-80.

63. Bua E, Johnson J, Herbst A, et al. Mitochondrial DNA–Deletion Mutations Accumulate Intracellularly to Detrimental Levels in Aged Human Skeletal Muscle Fibers. *Am J Hum Genet.* 2006;79(3):469–480.
64. Burge JA, Hanna MG. Novel insights into the pathomechanisms of skeletal muscle channelopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2012;12: 62-69.
65. Burns RJ, Bretag AH, Blumbergs PC, Harbord MG. Benign familial disease with muscle mounding and rippling. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:344–347.
66. Burns RJ, Bretag AH, Blumbergs PC, Harbord MG. Benign familial disease with muscle mounding and rippling. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:344–347.
67. Byring R.F, Pihko H, Tsujino A, Shen X.M, Gustafsson B, Hackman P, Ohno K, Engel A.G, Udd B. Congenital myasthenic syndrome associated with episodic apnea and sudden infant death. *Neuromuscul. Disord.* 2002;12:548–553.
68. Byrne B., Bratkovic D., Díaz-Manera J., Laforêt P., Mozaffar T., van der Ploeg A., Roberts M., Schoser B., Toscano A., Jiang H., et al. Cipaglucosidase alfa/miglustat versus alglucosidase alfa/placebo in late-onset Pompe disease (LOPD): PROPEL study subgroup analyses. *Mol. Genet. Metab.* 2022;135:S27–S28.
69. C A Sewry<sup>1</sup>. The role of immunocytochemistry in congenital myopathies. 1998 Aug;8(6):394-400.
70. Caldwell JH, Campbell DT, Beam KG (1986) Na channel distribution in vertebrate skeletal muscle. *J Gen Physiol* 87:907–932.
71. Calhoun JD, Isom LL (2014) The role of non-pore-forming beta subunits in physiology and pathophysiology of voltage-gated sodium channels. *Handb Exp Pharmacol* 221:51–89.
72. Camp K.M., Krotoski D., Parisi M.A., Gwinn K.A., Cohen B.H., Cox C.S., Enns G.M., Falk M.J., Goldstein A.C., Gopal-Srivastava R., et al. Nutritional interventions in primary mitochondrial disorders: Developing an evidence base. *Mol. Genet. Metab.* 2016;119:187–206.
73. Cannon SC, Brown RH Jr, Corey DP. A sodium channel defect in hyperkalemic periodic paralysis: potassium-induced failure of inactivation. *Neuron* 1991;6:619–26.
74. Cannon SC, McClatchey AI, Gusella JF (1993b) Modification of the Na<sup>+</sup> current conducted by the rat skeletal muscle alpha subunit by coexpression with a human brain beta subunit. *Pflugers Arch* 423:155–157.

75. Cantó C, Houtkooper RH, Pirinen E, et al. The NAD(+) precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet induced obesity. *Cell Metab.* 2012;15(6):838–847.
76. Carbone I, Bruno C, Sotgia F et al. (2000). Mutation in the CAV3 gene causes partial caveolin-3 deficiency and hyperCKemia. *Neurology* 54: 1373–1376.
77. Carina Wallgren-Pettersson<sup>1</sup>. Congenital myopathies. 2005;9(1):27-8.
78. Carmignac V, Salih MA, Quijano-Roy S, et al. C-terminal titin deletions cause a novel early-onset myopathy with fatal cardiomyopathy. *Ann Neurol* 2007; 61:340–351.
79. Carolin Arendt , Stephan Zierz. On the Conceptual History of Myotonia Congenita: The Contributions of Julius Thomsen and Adolph Seeligmüller. 2022 Sep;90(9):406-415. doi: 10.1055/a-1552-3528. Epub 2021 Aug 26.
80. Caroline A Sewry<sup>1</sup>, Cecilia Jimenez-Mallebrera, Francesco Muntoni. Congenital myopathies. 2008 Oct;21(5):569-75.
81. Carsten G Bönnemann<sup>1</sup>. The collagen VI-related myopathies Ullrich congenital muscular dystrophy and Bethlem myopathy. 2011;101:81-96.
82. Chiara Orsini<sup>1</sup>, Roberta Petillo<sup>1</sup>, Paola D'Ambrosio<sup>1</sup>, Manuela Ergoli<sup>1</sup>, Esther Picillo<sup>1</sup>, Marianna Scutifero<sup>1</sup>, Luigia Passamano<sup>1</sup>, Alessandro De Luca<sup>1</sup>, Luisa Politano. *CLCN1* Molecular Characterization in 19 South-Italian Patients With Dominant and Recessive Type of Myotonia Congenita 2020 Feb 6:11:63.
83. Chien YH, Chiang SC, Zhang XK, Keutzer J, Lee NC, Huang AC, Chen CA, Wu MH, Huang PH, Tsai FJ, Chen YT, Hwu WL. Early detection of pompe disease by newborn screening is feasible: results from the taiwan screening program. *Pediatrics.* 2008; 122:e39–45.
84. Chih-Yung Tang<sup>1</sup>, Tsung-Yu Chen. Physiology and pathophysiology of CLC-1: mechanisms of a chloride channel disease, myotonia. 2011;2011:685328
85. Christoph Lossin<sup>1</sup>, Alfred L George Jr. Myotonia congenita. 2008;63:25-55.
86. Chu ML, Pan TC, Conway D et al (1990) The structure of type VI collagen. *Ann N Y Acad Sci* 580:55–63.
87. Chung-Jiuan Jeng<sup>1,2</sup>, Ssu-Ju Fu<sup>1,3</sup>, Chia-Ying You<sup>3</sup>, Yi-Jheng Peng<sup>3</sup>, Cheng-Tsung Hsiao<sup>3,4</sup>, Tsung-Yu Chen<sup>5</sup>, Chih-Yung Tang<sup>3</sup>. Defective Gating and Proteostasis of Human ClC-1 Chloride Channel: Molecular Pathophysiology of Myotonia Congenita. 2020 Feb 11;11:76.

88. Claeys KG, Monnier N, Laforet P et al. (2009). Phenotypic spectrum of core-rod myopathy caused by dominant or recessive RYR1 mutations [Abstract]. *Neuromuscul Disord* 19: 556.
89. Clarke N, Kolski H, Dye D, Lim E, Smith RL, Patel R, et al. Mutations in TPM3 are a common cause of congenital fiber type disproportion. *Ann Neurol*. 2008;63:329–37.
90. Clarke NF, Waddell LB, Cooper ST, Perry M, Smith RL, Kornberg AJ, et al. Recessive mutations in RYR1 are a common cause of congenital fiber type disproportion. *Hum Mutat*. 2010;31:E1544–50
91. Clarke NF. Congenital fiber-type disproportion. *Semin Pediatr Neurol*. 2011; 18:264–71.
92. Colombo I, Scoto M, Manzur AY, et al. Congenital myopathies: Natural history of a large pediatric cohort. *Neurology*. 2015;84(1):28–35.
93. Colombo I, Scoto M, Manzur AY, Robb SA, Maggi L, Gowda V, et al. Congenital myopathies: natural history of a large pediatric cohort. *Neurology*. 2015;84:28–35.
94. Concetta Altamura<sup>1</sup>, Evgeniya A Ivanova<sup>2</sup>, Paola Imbrici<sup>3</sup>, Elena Conte<sup>3</sup>, Giulia Maria Camerino<sup>3</sup>, Elena L Dadali<sup>2</sup>, Alexander V Polyakov<sup>2</sup>, Sergei Aleksandrovich Kurbatov<sup>4</sup>, Francesco Girolamo<sup>5</sup>, Maria Rosaria Carratù<sup>1</sup>, Jean-François Desaphy<sup>1</sup>. Pathomechanisms of a *CLCN1* Mutation Found in a Russian Family Suffering From Becker's Myotonia. 2020 Sep 4;11:1019.
95. Concilla PA, Kalayanaraman K, Verity MA, Munsat T, Pearson CM. Familial myopathy with probable lysis of myofibrils in type I fibers. *Neurology*. 1971; 21:579–85.
96. Cossins J, Belaya K, Hicks D, et al. Congenital myasthenic syndromes due to mutations in ALG2 and ALG14. *Brain* 2013; 136:944–956.
97. D Natera-de Benito<sup>1</sup>, J Domínguez-Carral<sup>2</sup>, N Muelas<sup>3</sup>, A Nascimento<sup>4</sup>, C Ortez<sup>4</sup>, T Jaijo<sup>3</sup>, R Arteaga<sup>2</sup>, J Colomer<sup>4</sup>, J J Vilchez<sup>3</sup>. Phenotypic heterogeneity in two large Roma families with a congenital myasthenic syndrome due to CHRNE 1267delG mutation. A long-term follow-up. 2016 Nov;26(11):789-795.
98. Daniela Avila-Smirnow<sup>1</sup>, Carmen Paz Vargas Leal<sup>2</sup>, María de Los Angeles Beytía Reyes<sup>3</sup>, Rocío Cortés Zepeda<sup>4</sup>, Raúl G Escobar<sup>3</sup>, Karin Kleinsteuber Saa<sup>5</sup>, Marcela Lagos Lucero<sup>6</sup>, María de Los Angeles Avaria Benapres<sup>4</sup>, Oslando Padilla Pérez<sup>7</sup>, Juan Carlos Casar Leturia<sup>8</sup>, Cecilia Mellado Sagredo<sup>9</sup>, Damien Sternberg<sup>10</sup>. Non-dystrophic myotonia Chilean cohort with predominance of the SCN4A Gly1306Glu variant. 2020 Jul;30(7):554-561.

99. Dasouki M, Jawdat O, Almadhoun O, Pasnoor M, McVey AL, Abuzinadah A, Herbelin L, Barohn RJ, Dimachkie MM. Pompe disease: literature review and case series. *Neurol Clin.* 2014; 32:751–76.
100. David Beeson. Congenital myasthenic syndromes: recent advances. 2016 Oct;29(5):565-71.
101. David J Coote, Mark R Davis, Macarena Cabrera, Merrilee Needham, Nigel G Laing, Kristen J Nowak. Clinical Utility Gene Card for: autosomal dominant myotonia congenita (Thomsen Disease). 2018 Jul;26(7):1072-1077.
102. Davies NP, Eunson LH, Gregory RP, Mills KR, Morrison PJ, Hanna MG. Clinical, electrophysiological, and molecular genetic studies in a new family with paramyotonia congenita. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;68:504–7.
103. De Castro M, Johnston J, Biesecker L. Determining the prevalence of McArdle disease from gene frequency by analysis of next-generation sequencing data. *Genet Med* 2015;17:1002–6.
104. De Filippi P, Saeidi K, Ravaglia S, Dardis A, Angelini C, Mongini T, Morandi L, Moggio M, Di Muzio A, Filosto M, Bembi B, Giannini F, Marrosu G, et al. Genotype-phenotype correlation in pompe disease, a step forward. *Orphanet J Rare Dis.* 2014; 9:102.
105. de Visser M, de Voogt WG, la Riviere GV (1992). The heart in Becker muscular dystrophy, facioscapulohumeral dystrophy, and Bethlem myopathy. *Muscle Nerve* 15: 591–596.
106. Denise Cassandrini<sup>1</sup>, Rosanna Trovato<sup>1</sup>, Anna Rubegni<sup>1</sup>, Sara Lenzi<sup>2</sup>, Chiara Fiorillo<sup>1,3</sup>, Jacopo Baldacci<sup>1</sup>, Carlo Minetti<sup>4,3</sup>, Guja Astrea<sup>2</sup>, Claudio Bruno<sup>5</sup>, Filippo M Santorelli<sup>6</sup>; Italian Network on Congenital Myopathies. Congenital myopathies: clinical phenotypes and new diagnostic tools. 2017 Nov 15;43(1):101.
107. Desai R.C., Vyas B., Earles C.A., Littleton J.T., Kowalchuck J.A., Martin T.F., Chapman E.R. The C2B domain of synaptotagmin is a Ca<sup>(2+)</sup>-sensing module essential for exocytosis. *J. Cell Biol.* 2000;150:1125–1136.
108. Di Mauro S. Muscle glycogenoses: an overview. *Acta Myol* 2007;26:35–41.
109. DiMauro S, Lamperti C. Muscle glycogenoses. *Muscle Nerve* 2001;24:984–99 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11439374>.
110. Domínguez-González C., Madruga-Garrido M., Hirano M., Martí I., Martín M.A., Munell F., Nascimento A., Olivé M., Quan J., Sardina M.D., et al. Collaborative

- model for diagnosis and treatment of very rare diseases: Experience in Spain with thymidine kinase 2 deficiency. *Orphanet J. Rare Dis.* 2021;16:407.
111. Donner K, Ollikainen M, Ridanpaää M, et al. Mutations in the b-tropomyosin (TPM2) gene: a rare cause of nemaline myopathy. *Neuromuscul Disord* 2002; 12:151–158.
  112. Donner K, Ollikainen M, Ridanpaa M et al. (2002). Mutations in the beta-tropomyosin (TPM2) gene – a rare cause of nemaline myopathy. *Neuromuscul Disord* 12: 151–158.
  113. Dubowitz V, Pearse AG. Oxidative enzyme and phosphorylase in central core disease of muscle. *Lancet.* 1960;2:23–4.
  114. Duchenne GBA (1868). Recherches sur la paralysie musculaire pseudohypertrophique au paralysie myosclerotique. *Arch Gen Med* 11: 552–588.
  115. Dupre N, Chrestian N, Bouchard JP, Rossignol E, Brunet D, Sternberg D, Brais B, Mathieu J, Puymirat J. Clinical, electrophysiologic, and genetic study of non-dystrophic myotonia in French-Canadians. *Neuromuscul Disord* 2009; 19:330-4; PMID:18337100; [http://dx.doi.org/ 10.1016/j.nmd.2008.01.007](http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2008.01.007)
  116. Dye DE, Azzarelli B, Goebel HH et al. (2006). Novel slowskeletal myosin (MYH7) mutation in the original myosin storage myopathy kindred. *Neuromuscul Disord* 16: 357–360.
  117. E Gazzerro <sup>1</sup>, A Bonetto, C Minetti. Caveolinopathies: translational implications of caveolin-3 in skeletal and cardiac muscle disorders. 2011;101:135-42.
  118. E Kuhn, W Fiehn, D Seiler, J M Schröder. The autosomal recessive (Becker) form of myotonia congenita. 1979 Mar-Apr;2(2):109-17.
  119. E. A. Ivanovaa , E. L. Dadalia , V. P. Fedotovb , S. A. Kurbatovb , G. E. Rudenskayaa , T. N. Proskokovac , and A. V. Polyakova. The Spectrum of CLCN1 Gene Mutations in Patients with Nondystrophic Thomsen’s and Becker’s Myotonias. *Russian Journal of Genetics*, 2012, Vol. 48, No. 9, pp. 952–961
  120. Elenga N, Verloes A, Mrsic Y, Basurko C, Schaub R, Cuadro-Alvarez E, Kom-Tchameni R, Carles G, Lambert V, Boukhari R, Fahrasmane A, Jolivet A, Nacher M, Benoist JF. Incidence of infantile pompe disease in the maroon population of french guiana. *BMJ Paediatr Open.* 2018; 2:e000182.
  121. Elenga N., Verloes A., Mrsic Y., Basurko C., Schaub R., Cuadro-Alvarez E., Kom-Tchameni R., Carles G., Lambert V., Boukhari R., et al. Incidence of infantile

- Pompe disease in the Maroon population of French Guiana. *BMJ Paediatr. Open.* 2018;2:e000182.
122. Emma Ciafaloni. Myasthenia Gravis and Congenital Myasthenic Syndromes. 2019 Dec;25(6):1767-1784.
  123. Engel AG, Gomez MR, Groover RV. Multicore disease. A recently recognized congenital myopathy associated with multifocal degeneration of muscle fibers. *Mayo Clin Proc.* 1971;46:666–81.
  124. Engvall E, Hessle H, Klier G (1986) Molecular assembly, secretion, and matrix deposition of type VI collagen. *J Cell Biol* 102:703–710.
  125. Enrico Bertini<sup>1</sup>, Basil T Darras<sup>2</sup>. Congenital myopathies: Rebuilding the natural history, one gene at a time. 2015 Jan 6;84(1):15-6.
  126. Erickson J.D., Varoqui H., Schafer M.K., Modi W., Diebler M.F., Weihe E., Rand J., Eiden L.E., Bonner T.I., Usdin T.B. Functional identification of a vesicular acetylcholine transporter and its expression from a “cholinergic” gene locus. *J. Biol. Chem.* 1994;269:21929–21932.
  127. Fardeau M, Tome F. Congenital myopathies. In: Engler AG, Franzini Armstrong C, editors. *Myology*. New York: McGraw-Hill; 1994. p. 1487–533.
  128. Fattori F, Maggi L, Bruno C, Cassandrini D, Codemo V, Catteruccia M, et al. Centronuclear myopathies: genotype-phenotype correlation and frequency of defined genetic forms in an Italian cohort. *J Neurol.* 2015;262:1728–40.
  129. Fee DB, So YT, Barraza C et al. (2004). Phenotypic variability associated with Arg26Gln mutation in caveolin3. *Muscle Nerve* 30: 375–378.
  130. Feng JJ, Marston S (2009). Genotype-phenotype correlations in ACTA1 mutations that cause congenital myopathies. *Neuromuscul Disord* 19: 6–16.
  131. Fernandez-Hojas R, Huie ML, Navarro C, Dominguez C, Roig M, Lopez-Coronas D, Teixeira S, Anyane-Yeboah K, Hirschhorn R. Identification of six novel mutations in the acid alpha-glucosidase gene in three spanish patients with infantile onset glycogen storage disease type II (pompe disease). *Neuromuscul Disord.* 2002; 12:159–66.
  132. Ferreiro A, Monnier N, Romero NB et al. (2002). A recessive form of central core disease, transiently presenting as multi-minicore disease, is associated with a homozygous mutation in the ryanodine receptor type 1 gene. *Ann Neurol* 51: 750–759.
  133. Ferreiro A, Quijano-Roy S, Pichereau C, et al. Mutations of the selenoprotein N gene, which is implicated in rigid spine muscular dystrophy, cause the classical

- phenotype of multiminicore disease: reassessing the nosology of early-onset myopathies. *Am J Hum Genet* 2002; 71:739–749.
134. Figarella-Branger D, Pouget J, Bernard R et al. (2003). Limb-girdle muscular dystrophy in a 71-year-old woman with an R27Q mutation in the CAV3 gene. *Neurology* 61: 562–564.
  135. Filosto M, Cotelli MS, Vielmi V, Todeschini A, Rinaldi F, Rota S, Scarpelli M, Padovani A. Late-onset glycogen storage disease type 2. *Curr Mol Med*. 2014; 14:971–78.
  136. Finsterer J. Hereditäre Ionenkanal-Erkrankungen des peripheren Nervensystems. *J Neurol Neurochir Psychiatr* 2003;4:7–14.
  137. Fiorillo C, Astrea G, Savarese M, Cassandrini D, Brisca G, Trucco F, et al. MYH7-related myopathies: clinical, histopathological and imaging findings in a cohort of Italian patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2016;11:91.
  138. Fischer D, Schroers A, Blümcke I et al. (2003). Consequences of a novel caveolin-3 mutation in a large German family. *Ann Neurol* 53: 233–241.
  139. Fontaine B, Khurana TS, Hoffman EP et al. Hyperkalemic periodic paralysis and the adult muscle sodium channel  $\alpha$ -subunit gene. *Science* 1990;250:1000–2.
  140. Frazier AE, Thorburn DR, Compton AG. Mitochondrial energy generation disorders: genes, mechanisms and clues to pathology. *J Biol Chem*, (2017).
  141. Fridzianska A, Badurska B, Ryniewicz B, Dembek I. “Cap disease”: a new congenital myopathy. *Neurology* 1981;31:1113–1120.
  142. Galbiati F, Razani B, Lisanti MP (2001b). Caveolae and caveolin-3 in muscular dystrophy. *Trends Mol Med* 7: 435–441.
  143. Gammage PA, Gaude E, Van Haute L, et al. Near-complete elimination of mutant mtDNA by iterative or dynamic dose-controlled treatment with mtZFNs. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(16):7804–7816.
  144. Gammage PA, Rorbach J, Vincent AI, Rebar EJ, Minczuk M. Mitochondrially targeted ZFNs for selective degradation of pathogenic mitochondrial genomes bearing large-scale deletions or point mutations. *EMBO Mol Med*. 2014;6(4):458–466.
  145. Gamstorp I. Adynamia episodica hereditaria. *Acta Paediatr Scand* 1956;108 (Suppl. 45):1–126.
  146. Gazzerri E, Sotgia F, Bruno C et al. (2010). Caveolinopathies: from the biology of caveolin-3 to human diseases. *Eur J Hum Genet* 18: 137–145.

147. Gemelli C., Traverso M., Trevisan L., Fabbri S., Scarsi E., Carlini B., Prada V., Mongini T., Ruggiero L., Patrone S., et al. An integrated approach to the evaluation of patients with asymptomatic or minimally symptomatic hyperCKemia. *Muscle Nerve*. 2022;65:96–104.
148. George, A. L., Jr., Crackower, M. A., Abdalla, J. A., Hudson, A. J., and Ebers, G. C. (1993). Molecular basis of Thomsen's disease (autosomal dominant myotonia congenita). *Nat. Genet.* 3, 305–310.
149. George, A. L., Jr., Sloan-Brown, K., Fenichel, G. M., Mitchell, G. A., Spiegel, R., and Pascuzzi, R. M. (1994). Nonsense and missense mutations of the muscle chloride channel gene in patients with myotonia congenita. *Hum. Mol. Genet.* 3, 2071–2072.
150. Gianna Ulzi a,1 , Marzia Lecchi b,1 , Valeria Sansone c , Elisa Redaelli b , Eleonora Corti b , Domenica Saccomanno a , Serena Pagliarani a , Stefania Corti a , Francesca Magri a , Monika Raimondi d , Grazia D'Angelo e , Anna Modoni f , Nereo Bresolin a,e , Giovanni Meola c , Enzo Wanke b , Giacomo P. Comi a , Sabrina Lucchiari. Myotonia congenita: Novel mutations in CLCN1 gene and functional characterizations in Italian patients. *Journal of the Neurological Sciences* 318 (2012) 65–71.
151. Giorgio V, Petronilli V, Ghelli A, et al. The effects of idebenone on mitochondrial bioenergetics. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1817(2):363–369.
152. Glancy B., Balaban R.S. Energy metabolism design of the striated muscle cell. *Physiol. Rev.* 2021;101:1561–1607.
153. Goebel HH, Laing NG (2009). Actinopathies and myosinopathies. *Brain Pathol* 19: 516–522.
154. Gonorazky HD, Bonnemann CG, Dowling JJ. The genetics of congenital myopathies. *Handbook of clinical neurology*. 2018;148:549.
155. Gonza'lez-Pe' rez P, Gallano P, Gonza'lez-Quereda L et al. (2009). Phenotypic variability in a Spanish family with a Caveolin-3 mutation. *J Neurol Sci* 276: 95–98.
156. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16080.
157. Gorman GS, Elson JL, Newman J, et al. Perceived fatigue is highly prevalent and debilitating in patients with mitochondrial disease. *Neuromuscul Disord*. 2015;25(7):563–566.

158. Guémy C., Laforêt P. The new horizons for treatment of Late-Onset Pompe Disease (LOPD) *Rev. Neurol.* 2023;179:81–89.
159. Güngör D, Reuser AJ. How to describe the clinical spectrum in pompe disease? *Am J Med Genet A.* 2013; 161:399–400.
160. Gupta N, Kazi ZB, Nampoothiri S, Jagdeesh S, Kabra M, Puri RD, Muranjan M, Kalaivani M, Rehder C, Bali D, Verma IC, Kishnani PS. Clinical and molecular disease spectrum and outcomes in patients with infantile-onset pompe disease. *J Pediatr.* 2020; 216:44–50.
161. H Du<sup>1</sup>, S R Grob, L Zhao, J Lee, M El-Sahn, G Hughes, J Luo, K Schaf, Y Duan, J Quach, X Wei, P Shaw, D Granet, K Zhang. Myotonia congenita with strabismus in a large family with a mutation in the SCN4A gene. 2012 Aug;26(8):1039-43.
162. Haller RG, Vissing J. No spontaneous second wind in muscle phosphofructokinase deficiency. *Neurology* 2004;62(1):82Y86.
163. Haltiwanger RS, Lowe JB. Role of glycosylation in development. *Annu Rev Biochem* 2004; 73:491–537.
164. han J, Desai AK, Kazi ZB, Corey K, Austin S, Hobson-Webb LD, Case LE, Jones HN, Kishnani PS. The emerging phenotype of late-onset pompe disease: a systematic literature review. *Mol Genet Metab.* 2017; 120:163–72.
165. Haq RU, Speer MC, Chu ML et al (1999) Respiratory muscle involvement in Bethlem myopathy. *Neurology* 52:174–176.
166. Haq RU, Speer MC, Chu ML et al. (1999). Respiratory muscle involvement in Bethlem myopathy. *Neurology* 52: 174–176.
167. Harrison S.M., Rehm H.L. Is ‘likely pathogenic’ really 90% likely? Reclassification data in ClinVar. *Genome Med.* 2019;11:72.
168. Hashimoto M, Bacman SR, Peralta S, et al. MitoTALEN: A General Approach to Reduce Mutant mtDNA Loads and Restore Oxidative Phosphorylation Function in Mitochondrial Diseases. *Mol Ther.* 2015;23(10):1592–1599.
169. Hawash AA, Voss AA, Rich MM. Inhibiting persistent inward sodium currents prevents myotonia. *Ann Neurol.* 2017;82:385-395.
170. Heatwole CR, Moxley RT 3rd. The nondystrophic myotonias. *Neurotherapeutics* 2007;4:238–51.
171. Heatwole CR, Statland JM, Logigian EL. The diagnosis and treatment of myotonic disorders. *Muscle Nerve.* 2013;47:632–48.

172. Heatwole CR, Statland JM, Logigian EL. The diagnosis and treatment of myotonic disorders. *Muscle Nerve*. 2013;47:632-648.
173. Hedberg C, Lindberg C, Ma'the' G et al. (2012). Myopathy in a woman and her daughter associated with a novel splice site MTM1 mutation. *Neuromuscul Disord* 22: 244–251.
174. Heiskanen M, Saitta B, Palotie A et al (1995) Head to tail organization of the human COL6A1 and COL6A2 genes by fiber-FISH. *Genomics* 29:801–803.
175. Helene L Roberts<sup>1</sup>, Bruce Day, Harriet Lo, Catriona McLean, Kathryn North. Rippling muscle disease. 2006 Jun;13(5):576-8.
176. Herman GE, Finegold M, Zhao W, de Gouyon B, Metzenberg A. Medical complications in long-term survivors with X-linked myotubular myopathy. *J Pediatr*. 1999;134:206–14.
177. Hermans MM, Wisselaar HA, Kroos MA, Oostra BA, Reuser AJ. Human lysosomal alpha-glucosidase: functional characterization of the glycosylation sites. *Biochem J*. 1993; 289:681–6.
178. Hernandez-Lain A, Husson I, Monnier N et al. (2011). De novo RYR1 heterozygous mutation (I4898T) causing lethal core-rod myopathy in twins. *EJMG* 54: 29–33.
179. Herzog A, Hartung R, Reuser AJ, Hermanns P, Runz H, Karabul N, Gökce S, Pohlenz J, Kampmann C, Lampe C, Beck M, Mengel E. A cross-sectional single-centre study on the spectrum of pompe disease, german patients: molecular analysis of the GAA gene, manifestation and genotype-phenotype correlations. *Orphanet J Rare Dis*. 2012; 7:35.
180. Hicks D, Lampe AK, Barresi R et al (2008) A refined diagnostic algorithm for Bethlem myopathy. *Neurology* 70:1192–1199.
181. Hirschhorn R, Huie ML. Frequency of mutations for glycogen storage disease type II in different populations: the delta525T and deltaexon 18 mutations are not generally “common” in white populations. *J Med Genet*. 1999; 36:85–86.
182. Hnasko R, Lisanti MP (2003). The biology of caveolae: lessons from caveolin knockout mice and implications for human disease. *Mol Interv* 3: 445–464.
183. Horga A, Raja Rayan DL, Matthews E, et al. Prevalence study of genetically defined skeletal muscle channelopathies in England. *Neurology*. 2013;80:1472-1475.
184. Horvath R, Czermin B, Gulati S, et al. Adult-onset cerebellar ataxia due to mutations in CABP1/ADCK3. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83(2):174–178.

185. Huie ML, Chen AS, Brooks SS, Grix A, Hirschhorn R. A de novo 13 nt deletion, a newly identified C647W missense mutation and a deletion of exon 18 in infantile onset glycogen storage disease type II (GSDII). *Hum Mol Genet.* 1994; 3:1081–87.
186. Hung RM, Yoon G, Hawkins CE et al. (2010). Cap myopathy caused by a mutation of the skeletal alpha-actin gene ACTA1. *Neuromuscul Disord* 20: 238–240.
187. Hwang J.-H., Choi C.S. Use of in vivo magnetic resonance spectroscopy for studying metabolic diseases. *Exp. Mol. Med.* 2015;47:e139.
188. Ibrahim Sahin<sup>1,2</sup>, Haktan B Erdem<sup>3,4</sup>, Huseyin Tan<sup>5</sup>, Abdulgani Tatar<sup>3</sup>. Becker's myotonia: novel mutations and clinical variability in patients born to consanguineous parents. 2018 Dec;118(4):567-572.
189. Ikeda K, Iwasaki Y, Kinoshita M et al. Acetazolamide-induced muscle weakness in hypokalemic periodic paralysis. *Intern Med* 2002;41:743–5.
190. Inagaki N., Hayashi T., Arimura T., Koga Y., Takahashi M., Shibata H., Teraoka K., Chikamori T., Yamashina A., Kimura A. Alpha- $\beta$  crystallin mutation in dilated cardiomyopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006;342:379–386.
191. Isom LL, De Jongh KS, Patton DE, Reber BF, Offord J, Charbonneau H, Walsh K, Goldin AL, Catterall WA (1992) Primary structure and functional expression of the beta 1 subunit of the rat brain sodium channel. *Science* 256:839–842.
192. J Finsterer. Primary periodic paralyses. 2008 Mar;117(3):145-58.
193. Jackson BJ, Kukuruzinska MA, Robbins P. Biosynthesis of asparagine-linked oligosaccharides in *Saccharomyces cerevisiae*: the alg2 mutation. *Glycobiology* 1993; 3:357–364.
194. Jaeken J, Matthijs G. Congenital disorders of glycosylation. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001; 2:129–151.
195. James B Lilleker<sup>1</sup>, Yann Shern Keh<sup>1</sup>, Federico Roncaroli<sup>1,2</sup>, Reena Sharma<sup>3</sup>, Mark Roberts<sup>1</sup>. Metabolic myopathies: a practical approach. 2018 Feb;18(1):14-26.
196. Jeannet PY, Bassez G, Eymard B et al. (2004). Clinical and histologic findings in autosomal centronuclear myopathy. *Neurology* 62: 1484–1490.
197. Jeppesen T.D., Schwartz M., Olsen D.B., Wibrand F., Krag T., Dunø M., Hauerslev S., Vissing J. Aerobic training is safe and improves exercise capacity in patients with mitochondrial myopathy. *Brain.* 2006;129:3402–3412.
198. Jeroen Trip<sup>1</sup>, Gea Drost, Dennis J Verbove, Anneke J van der Kooi, Jan B M Kuks, Nicolette C Notermans, Jan J Verschuuren, Marianne de Visser, Baziel G M van

- Engelen, Carin G Faber, Ieke B Ginjaar. In tandem analysis of CLCN1 and SCN4A greatly enhances mutation detection in families with non-dystrophic myotonia. 2008 Aug;16(8):921-9.
199. Jiaox X., Khan S.Y., Irum B., Khan A.O., Wang Q., Kabir F., Khan A.A., Husnain T., Akram J., Riazuddin S., Hejtmancik J.F., Riazuddin S.A. Missense mutations in CRYAB are liable for recessive congenital cataracts. *PLoS One*. 2015;24:e0137973.
  200. Jimmy Sundblom<sup>1</sup>, Erik Stålberg, Maria Osterdahl, Franz Rücker, Maria Montelius, Hannu Kalimo, Inger Nennesmo, Gunilla Islander, Anja Smits, Niklas Dahl, Atle Melberg. Bedside diagnosis of rippling muscle disease in CAV3 p.A46T mutation carriers. 2010 Jun;41(6):751-7.
  201. Joëbsis GJ, Boers JM, Barth PG et al. (1999). Bethlem myopathy: a slowly progressive congenital muscular dystrophy with contractures. *Brain* 122 (Part 4): 649–655.
  202. Joëbsis GJ, Keizers H, Vreijling JP et al. (1996). Type VI collagen mutations in Bethlem myopathy, an autosomal dominant myopathy with contractures. *Nat Genet* 14: 113–115.
  203. Jobsis GJ, Keizers H, Vreijling JP et al (1996) Type VI collagen mutations in Bethlem myopathy, an autosomal dominant myopathy with contractures. *Nat Genet* 14:113–115.
  204. Joern P Sieb<sup>1</sup>, Simone Kraner, Ortrud K Steinlein. Congenital myasthenic syndromes. 2002 Jun;9(2):108-19.
  205. Johnson, J. 1968 Apr;12(2):190-4.
  206. Johnston JJ, Kelley RI, Crawford TO et al. (2000). A novel nemaline myopathy in the Amish caused by a mutation in troponin T1. *Am J Hum Genet* 67: 814–821.
  207. Jon Andoni Urtizberea,<sup>1,\*</sup> Gianmarco Severa,<sup>2,3</sup> Edoardo Malfatti<sup>3</sup>. Metabolic Myopathies in the Era of Next-Generation Sequencing. 2023 Apr 22;14(5):954.
  208. Jorge Andres Olave-Rodriguez<sup>1</sup>, Francisco Javier Bonilla-Escobar<sup>2,3,4</sup>, Estephania Candelo<sup>5,6</sup>, Lisa Ximena Rodriguez-Rojas<sup>1,7</sup>. First Two Case Reports of Becker's Type Myotonia Congenita in Colombia: Clinical and Genetic Features. 2021 Dec 16;14:473-479.
  209. Josef Finsterer<sup>1</sup>. Prevalence in congenital myasthenic syndrome. 2020 May;26:5-6.
  210. Josef Finsterer. Congenital myasthenic syndromes. 2019 Feb 26;14(1):57.

211. Joseph H Nogajski<sup>1</sup>, Matthew C Kiernan, Robert A Ouvrier, P Ian Andrews. Congenital myasthenic syndromes. 2009 Jan;16(1):1-11.
212. Juliana Gurgel-Giannetti<sup>1</sup>, Adriano S Senkevics, Dinorah Zilbersztajn-Gotlieb, Lydia U Yamamoto, Viviane P Muniz, Rita C M Pavanello, Acary B Oliveira, Mayana Zatz, Mariz Vainzof. Thomsen or Becker myotonia? A novel autosomal recessive nonsense mutation in the CLCN1 gene associated with a mild phenotype. 2012 Feb;45(2):279-83.
213. Jungbluth H, Davis MR, Muller C et al (2004) Magnetic resonance imaging of muscle in congenital myopathies associated with RYR1 mutations. *Neuromuscul Disord* 14:785–790.
214. Jungbluth H, Ochala J, Treves S, Gautel M. Current and future therapeutic approaches to the congenital myopathies. *Semin Cell Dev Biol*. 2017;64:191–200.
215. Jungbluth H, Voermans NC. Congenital myopathies: not only a paediatric topic. *Curr Opin Neurol*. 2016;29:642–50.
216. Jungbluth H, Zhou H, Hartley L, et al. Minicore myopathy with ophthalmoplegia caused by mutations in the ryanodine receptor type 1 gene. *Neurology* 2005; 65:1930–1935.
217. Jungbluth H, Zhou H, Hartley L, Halliger-Keller B, Messina S, Longman C, et al. Minicore myopathy with ophthalmoplegia caused by mutations in the ryanodine receptor type 1 gene. *Neurology*. 2005;65:1930–5.
218. Jungbluth H, Zhou H, Sewry CA, et al. Centronuclear myopathy due to a de novo dominant mutation in the skeletal muscle ryanodine receptor (RYR1) gene. *Neuromuscul Disord* 2007; 17:338–345.
219. Jungbluth H. Central core disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2007;2:25.
220. Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F, Elbaz A et al. A calcium channel mutation causing hypokalemic periodic paralysis. *Hum Mol Genet* 1994;3:1415–9.
221. Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F. Hyperkalemic periodic paralysis. *Gene reviews*, 2005. Available at: [http:// www.genetests.org](http://www.genetests.org).
222. Kate M D Bushby<sup>1</sup>, James Collins, Debbie Hicks. Collagen type VI myopathies. 2014;802:185-99. doi: 10.1007/978-94-007-7893-1\_12.
223. Kerr M., Hume S., Omar F., Koo D., Barnes H., Khan M., Aman S., Wei X.-C., Alfuhaid H., McDonald R., et al. MITO-FIND: A study in 390 patients to determine a diagnostic strategy for mitochondrial disease. *Mol. Genet. Metab*. 2020;131:66–82.

224. Khan NA, Auranen M, Paetau I, et al. Effective treatment of mitochondrial myopathy by nicotinamide riboside, a vitamin B3. *EMBO Mol Med*. 2014;6(6):721–731.
225. Kinji Ohno<sup>1</sup>, Bisei Ohkawara<sup>1</sup>, Xin-Ming Shen<sup>2</sup>, Duygu Selcen<sup>2</sup>, Andrew G Engel. Clinical and Pathologic Features of Congenital Myasthenic Syndromes Caused by 35 Genes-A Comprehensive Review. 2023 Feb 13;24(4):3730.
226. Kirschner J, Hausser I, Zou Y et al. (2005). Ullrich congenital muscular dystrophy: connective tissue abnormalities in the skin support overlap with Ehlers–Danlos syndromes. *Am J Med Genet A* 132: 296–301.
227. Kohler L, Puertollano R, Raben N. Pompe disease: from basic science to therapy. *Neurotherapeutics*. 2018; 15:928–42.
228. Kornfeld S. Trafficking of lysosomal enzymes in normal and disease states. *J Clin Invest*. 1986; 77:1–6.
229. Kosmorsky GS, Mehta N, Mitsumoto H, Prayson R. Intermittent esotropia associated with rippling muscle disease. *J Neuro-Ophthalmol* 1995;15:147–151.
230. Kristl G Claeys<sup>1,2</sup>. Congenital myopathies: an update. 2020 Mar;62(3):297-302.
231. Kruijt N., Berselaar L.V.D., Kamsteeg E.J., Verbeeck W., Snoeck M.M.J., Everaerd D.S., Abdo W.F., Jansen D.R.M., Erasmus C.E., Jungbluth H., et al. The etiology of rhabdomyolysis: An interaction between genetic susceptibility and external triggers. *Eur. J. Neurol*. 2021;28:647–659.
232. Kubisch C, Schoser BG, von Düring M et al. (2003). Homozygous mutations in caveolin-3 cause a severe form of rippling muscle disease. *Ann Neurol* 53: 512–520.
233. Kunkel L (1999). Caveolin-3 deficiency as a cause of limb-girdle muscular dystrophy. *J Child Neurol* 14: 33–34.
234. Kuo WL, Hirschhorn R, Huie ML, Hirschhorn K. Localization and ordering of acid alpha-glucosidase (GAA) and thymidine kinase (TK1) by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet*. 1996; 97:404–06.
235. Laing NG, Clarke NF, Dye DE, Liyanage K, Walker KR, Kobayashi Y, et al. Actin mutations are one cause of congenital fibre type disproportion. *Ann Neurol*. 2004;56:689–94.
236. Laing NG, Laing BA, Meredith C, Wilton SD, Robbins P, Honeyman K, et al. Autosomal dominant distal myopathy: linkage to chromosome 14. *Am J Hum Genet*. 1995;56:422–7.

237. Lamande SR, Morgelin M, Selan C et al (2002) Kinked collagen VI tetramers and reduced microfibril formation as a result of Bethlem myopathy and introduced triple helical glycine mutations. *J Biol Chem* 277:1949–1956.
238. Lampe AK, Bushby KM (2005) Collagen VI related muscle disorders. *J Med Genet* 42:673–685.
239. Lampe AK, Bushby KM (2005). Collagen VI related muscle disorders. *J Med Genet* 42: 673–685.
240. Lashley D, Palace J, Jayawant S, Robb S, Beeson D. Ephedrine treatment in congenital myasthenic syndrome due to mutations in DOK7. *Neurology* 2010;74:1517e23.
241. Laurike Harlaar<sup>1</sup>, Jean-Yves Hogrel<sup>1</sup>, Barbara Perniconi<sup>1</sup>, Michelle E Kruijshaar<sup>1</sup>, Dimitris Rizopoulos<sup>1</sup>, Nadjib Taouagh<sup>1</sup>, Aurélié Canal<sup>1</sup>, Esther Brusse<sup>1</sup>, Pieter A van Doorn<sup>1</sup>, Ans T van der Ploeg<sup>1</sup>, Pascal Laforêt<sup>1</sup>, Nadine A M E van der Beek<sup>2</sup>. Large variation in effects during 10 years of enzyme therapy in adults with Pompe disease. 2019 Nov 5;93(19):e1756-e1767.
242. Lawlor MW, Dechene ET, Roumm E, Geggel AS, Moghadaszadeh B, Beggs AH. Mutations of tropomyosin 3 (TPM3) are common and associated with type 1 myofiber hypotrophy in congenital fiber type disproportion. *Hum Mutat.* 2010;31:176–83
243. Lawrence A Zeidman<sup>1</sup>, Daniel Kondziella. Peter Becker and his Nazi past: the man behind Becker muscular dystrophy and Becker myotonia. 2014 Apr;29(4):514-9.
244. Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K. Voltage-gated ion channels and hereditary disease. *Physiol Rev.* 1999;79:1317-1372.
245. Lehmann-Horn F, Rudel R, Dengler R, Lorkovic H, Haass A, Ricker K. Membrane defects in paramyotonia congenita with and without myotonia in a warm environment. *Muscle Nerve.* 1981;4:396-406.
246. Lehmann-Horn F, Rudel R, Ricker K. Non-dystrophic myotonias and periodic paralyses. A European Neuromuscular Center Workshop held 4–6 October 1992, Ulm, Germany. *Neuromuscul Disord* 1993;3:161–8.
247. Lehtokari VL, Pelin K, Sandbacka M et al. (2006). Identification of 45 novel mutations in the nebulin gene associated with autosomal recessive nemaline myopathy. *Hum Mutat* 27: 946–956.

248. Lehtonen JM, Forsstrom S, Bottani E, et al. FGF21 is a biomarker for mitochondrial translation and mtDNA maintenance disorders. *Neurology*. 2016;87(22):2290–2299.
249. Léon P F Winkel<sup>1</sup>, Marloes L C Hagemans, Pieter A van Doorn, M Christa B Loonen, Wim J C Hop, Arnold J J Reuser, Ans T van der Ploeg. The natural course of non-classic Pompe's disease; a review of 225 published cases. 2005 Aug;252(8):875-84.
250. Leonardo Galleni Leão<sup>1</sup>, Lucas Santos Souza<sup>1</sup>, Letícia Nogueira<sup>1</sup>, Rita de Cássia Mingroni Pavanello<sup>1</sup>, Juliana Gurgel-Giannetti<sup>2</sup>, Umbertina C Reed<sup>3</sup>, Acary S B Oliveira<sup>4</sup>, Thais Cuperman<sup>4</sup>, Ana Cotta<sup>5</sup>, Julia FPaim<sup>5</sup>, Mayana Zatz<sup>1</sup>, Mariz Vainzof<sup>1</sup>. Dominant or recessive mutations in the *RYR1* gene causing central core myopathy in Brazilian patients. 2020 Dec 1;39(4):274-282.
251. Liam J Stapleton. Hypokalaemia periodic paralysis. 2018 Feb;63(1):28-31.
252. Liewluck T, Selcen D, Engel AG. Beneficial effects of albuterol in congenital endplate acetylcholinesterase deficiency and Dok-7 myasthenia. *Muscle Nerve* 2011;44:789e94.
253. Lim JA, Li L, Raben N. Pompe disease: from pathophysiology to therapy and back again. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:177.
254. Lim JA, Li L, Raben N. Pompe disease: from pathophysiology to therapy and back again. *Front Aging Neurosci*. 2014; 6:177.
255. Lim JA, Li L, Raben N. Pompe disease: from pathophysiology to therapy and back again. *Front Aging Neurosci*. 2014; 6:177.
256. Lipicky RJ, Bryant SH. Sodium, potassium, and chloride fluxes in intercostal muscle from normal goats and goats with hereditary myotonia. *J Gen Physiol*. 1966;50:89-111.
257. Lollert A, Stihl C, Hötter AM, Mengel E, König J, Laudemann K, Gökce S, Düber C, Staatz G. Quantification of intramuscular fat in patients with late-onset pompe disease by conventional magnetic resonance imaging for the long-term follow-up of enzyme replacement therapy. *PLoS One*. 2018; 13:e0190784.
258. Lu J, Takahashi T, Ohoka A, et al. Alg14 organizes the formation of a multiglycosyltransferase complex involved in initiation of lipid-linked oligosaccharide biosynthesis. *Glycobiology* 2012; 22:504–516.

259. Luan X., Tian W., Cao L. Limb-girdle congenital myasthenic syndrome in a Chinese family with novel mutations in MUSK gene and literature review. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2016;150:41–45.
260. Luciola S, Giusti B, Mercuri E et al (2005) Detection of common and private mutations in the COL6A1 gene of patients with Bethlem myopathy. *Neurology* 64:1931–1937.
261. Luigi Fulizio<sup>1</sup>, Anna Chiara Nascimbeni, Marina Fanin, Giulio Piluso, Luisa Politano, Vincenzo Nigro, Corrado Angelini. Molecular and muscle pathology in a series of caveolinopathy patients. 2005 Jan;25(1):82-9.
262. Luísa Panadés-de Oliveira<sup>1</sup>, Claudia Rodríguez-López<sup>2</sup>, Diana Cantero Montenegro<sup>3</sup>, María Del Mar Marcos Toledano<sup>4</sup>, Ana Fernández-Marmiesse<sup>5</sup>, Jesús Esteban Pérez<sup>2,6</sup>, Aurelio Hernández Lain<sup>3</sup>, Cristina Domínguez-González<sup>2,6,7,8</sup>. Bethlem myopathy: a series of 16 patients and description of seven new associated mutations. 2019 Apr;266(4):934-941.
263. M R Savitha<sup>1</sup>, B Krishnamurthy, Abbas Hyderi, Farhan-UI-Haque, Nallur B Ramachandra. Myotonia congenita--a successful response to carbamazepine. 2006 May;73(5):431-3.
264. Malfatti E., Romero N.B. Diseases of the skeletal muscle. *Handb. Clin. Neurol.* 2018;145:429–451. doi: 10.1016/b978-0-12-802395-2.00030-4
265. Mankodi, A., Takahashi, M. P., Jiang, H., Beck, C. L., Bowers, W. J., Moxley, R. T., Cannon, S. C., and Thornton, C. A. (2002). Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of ClC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol. Cell* 10, 35–44.
266. Mannikko R., Wong L., Tester D.J., Thor M.G., Sud R., Kullmann D.M., Sweeney M.G., Leu C., Sisodiya S.M., FitzPatrick D.R., et al. Dysfunction of NaV1.4, a skeletal muscle voltage-gated sodium channel, in sudden infant death syndrome: A case-control study. *Lancet.* 2018;391:1483–1492.
267. Manon Lee<sup>1</sup>, David Beeson<sup>2</sup>, Jacqueline Palace<sup>1</sup>. Therapeutic strategies for congenital myasthenic syndromes. 2018 Jan;1412(1):129-136.
268. Manousakis G, Al-Lozi M. Miller TM. AANEM Monogr: Differential diagnosis of myotonic disorders; 2012.
269. Maohua Li<sup>1</sup>, Jiandi Huang<sup>1</sup>, Min Liu<sup>1</sup>, Chunmei Duan<sup>1</sup>, Hong Guo<sup>2</sup>, Xiaoyan Chen<sup>1</sup>, Yue Wang<sup>1</sup>. A novel variant of COL6A3 c.6817-2(IVS27)A>G causing Bethlem myopathy: A case report. 2023 Jan 27;14:1063090.

270. Margaret Adler<sup>1</sup>, Perry B Shieh<sup>2</sup>. Metabolic Myopathies. 2015 Aug;35(4):385-97.
271. Mark A Tarnopolsky. Metabolic Myopathies. 2016 Dec;22(6, Muscle and Neuromuscular Junction Disorders):1829-1851.
272. Martin Krenn<sup>1</sup>, Merve Sener<sup>1</sup>, Jakob Rath<sup>1</sup>, Gudrun Zulehner<sup>1</sup>, Omar Keritam<sup>1</sup>, Matias Wagner<sup>2,3</sup>, Franco Laccone<sup>4</sup>, Stephan Iglseder<sup>5</sup>, Sonja Marte<sup>6</sup>, Manuela Baumgartner<sup>7</sup>, Astrid Eisenkölbl<sup>8</sup>, Christian Liechtenstein<sup>9</sup>, Sabine Rudnik<sup>10</sup>, Stefan Quasthoff<sup>11</sup>, Susanne Grinzinger<sup>12</sup>, Johannes Spenger<sup>13</sup>, Saskia B Wortmann<sup>13,14</sup>, Wolfgang N Löscher<sup>15</sup>, Fritz Zimprich<sup>1</sup>, Anna Kellersmann<sup>16</sup>, Mika Rappold<sup>16</sup>, Günther Bernert<sup>16</sup>, Michael Freilinger<sup>17</sup>, Hakan Cetin<sup>18</sup>. The clinical and molecular landscape of congenital myasthenic syndromes in Austria: a nationwide study. 2023 Feb;270(2):909-916
273. Martín MA, Lucía A, Arenas J, et al. Glycogen storage disease type V. Seattle: University of Washington, 1993.
274. Maselli RA, Arredondo J, Cagney O, et al. Mutations in MUSK causing congenital myasthenic syndrome impair MuSK-Dok-7 interaction. Hum Mol Genet 2010;19:2370e9.
275. Matsuda C, Hayashi YK, Ogawa M et al. (2001). The sarcolemmal proteins dysferlin and caveolin-3 interact in skeletal muscle. Hum Mol Genet 10: 1761–1766.
276. Matthews E, Tan SV, Fialho D, et al. What causes paramyotonia in the United Kingdom? Common and new SCN4A mutations revealed. Neurology. 2008;70:50-53.
277. Mbbs A.V., Shashi V., Jiang Y.-H., Do W.B.G., Schoch K., Smith E.C. Pseudometabolic presentation of dystrophinopathy due to a missense mutation. *Muscle Nerve*. 2010;42:975–979.
278. McCready ME, Carson NL, Chakraborty P, Clarke JT, Callahan JW, Skomorowski MA, Chan AK, Bamforth F, Casey R, Rupar CA, Geraghty MT. Development of a clinical assay for detection of GAA mutations and characterization of the GAA mutation spectrum in a canadian cohort of individuals with glycogen storage disease, type II. *Mol Genet Metab*. 2007; 92:325–35.
279. McCready ME, Carson NL, Chakraborty P, Clarke JT, Callahan JW, Skomorowski MA, Chan AK, Bamforth F, Casey R, Rupar CA, Geraghty MT. Development of a clinical assay for detection of GAA mutations and characterization of the GAA mutation spectrum in a canadian cohort of individuals with glycogen storage disease, type II. *Mol Genet Metab*. 2007; 92:325–35.

280. McEntagart M, Parsons G, Buj-Bello A, Biancalana V, Fenton I, Little M, et al. Genotype-phenotype correlations in X-linked myotubular myopathy. *Neuromuscul Disord*. 2002;12:939–46.
281. Mercuri E, Cini C, Pichiecchio A et al (2003) Muscle magnetic resonance imaging in patients with congenital muscular dystrophy and Ullrich phenotype. *Neuromuscul Disord* 13:554–558.
282. Mercuri E, Counsell S, Allsop J et al (2002) Selective muscle involvement on magnetic resonance imaging in autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuropediatrics* 33:10–14.
283. Mercuri E, Lampe A, Allsop J et al (2005) Muscle MRI in Ullrich congenital muscular dystrophy and Bethlem myopathy. *Neuromuscul Disord* 15:303–310.
284. Meredith C, Herrmann R, Parry C et al. (2004). Mutations in the slow skeletal muscle fiber myosin heavy chain gene (MYH7) cause Laing early-onset distal myopathy (MPD1). *Am J Hum Genet* 75: 703–708.
285. Merlini L, Carbone I, Capanni C et al. (2002). Familial isolated hyperCKaemia associated with a new mutation in the caveolin-3 (CAV-3) gene. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73: 65–67.
286. Merlini L, Martoni E, Grumati P et al (2008) Autosomal recessive myosclerosis myopathy is a collagen VI disorder. *Neurology* 71:1245–1253.
287. Merlini L, Morandi L, Granata C et al (1994) Bethlem myopathy: early-onset benign autosomal dominant myopathy with contractures. Description of two new families. *Neuromuscul Disord* 4:503–511.
288. Michael J Lyons<sup>1</sup>, Reyna Duron, Isaac Molinero, Federica Sangiuolo, Kenton R Holden. Novel CLCN1 mutation in carbamazepine-responsive myotonia congenita. 2010 May;42(5):365-8.
289. Michael Pusch. Myotonia caused by mutations in the muscle chloride channel gene CLCN1. 2002 Apr;19(4):423-34.
290. Milone M., Wang H.L., Ohno K., Prince R., Fukudome T., Shen X.M., Brengman J.M., Griggs R.C., Sine S.M., Engel A.G. Mode switching kinetics produced by a naturally occurring mutation in the cytoplasmic loop of the human acetylcholine receptor epsilon subunit. *Neuron*. 1998;20:575–588.
291. Minczuk M, Papworth MA, Miller JC, Murphy MP, Klug A. Development of a single-chain, quasi-dimeric zinc-finger nuclease for the selective degradation of mutated human mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Res*. 2008;36(12):3926–3938.

292. Minetti C, Sotgia F, Bruno C et al. (1998). Mutations in the caveolin-3 gene cause autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy. *Nat Genet* 18: 365–368.
293. Mion CC, Tsanaclis AM, Lusvardi E, Brotto MW, Levy JA. Increased muscular irritability syndrome. Treatment with nifedipine. Report of a case. *Arq Neuropsiquiatr* 1984;42:72–76.
294. Smith AC, Robinson AJ. MitoMiner v3.1, an update on the mitochondrial proteomics database. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D1258–D1261.
295. Mizusawa H, Takagi A, Sugita H, Toyokura Y. Moulding phenomenon: an experimental study in vitro. *Neurology* 1983; 33:90–93.
296. Mohire MD, Tandan R, Fries TJ et al. (1988). Early-onset benign autosomal dominant limb-girdle myopathy with contractures (Bethlem myopathy). *Neurology* 38: 573–580.
297. Monika Nojszewska<sup>1</sup>, Anna Lusakowska<sup>1</sup>, Malgorzata Gawel<sup>1</sup>, Janusz Sierdzinski<sup>2</sup>, Anna Sulek<sup>3</sup>, Wioletta Krysa<sup>3</sup>, Ewelina Elert-Dobkowska<sup>3</sup>, Andrzej Seroka<sup>1</sup>, Anna M Kaminska<sup>1</sup>, Anna Kostera-Pruszczyk<sup>1</sup>. The needle EMG findings in myotonia congenita. 2019 Dec;49:102362.
298. Monnier N, Romero NB, Lemale J, et al. An autosomal dominant congenital myopathy with cores and rods is associated with a neomutation in the RYR1 gene encoding the skeletal muscle ryanodine receptor. *Hum Mol Genet* 2000; 9:2599–2608.
299. Montalvo AL, Bembi B, Donnarumma M, Filocamo M, Parenti G, Rossi M, Merlini L, Buratti E, De Filippi P, Dardis A, Stroppiano M, Ciana G, Pittis MG. Mutation profile of the GAA gene in 40 Italian patients with late onset glycogen storage disease type II. *Hum Mutat.* 2006; 27:999–1006.
300. Moraes CT, Ricci E, Bonilla E, DiMauro S, Schon EA. The mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) mutation in mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS): genetic, biochemical, and morphological correlations in skeletal muscle. *Am J Hum Genet.* 1992;50(5):934–949.
301. Muller J, Mihaylova V, Abicht A, Lochmuller H. Congenital myasthenic syndromes: Spotlight on genetic defects of neuromuscular junction. *Expert Rev Mol Med* 2007;9:1e20.
302. Murayama T, Mano K, Watanabe H, Honda H, Sugimura K. A family with autosomal dominant hereditary myoedema, muscular irritability, stiffness and hypertrophy. *Clin Neurol* 1991; 31:1118–1123.

303. Musumeci O, la Marca G, Spada M, Mondello S, Danesino C, Comi GP, Pegoraro E, Antonini G, Marrosu G, Liguori R, Morandi L, Moggio M, Massa R, et al., and Italian GSD II group. LOPED study: looking for an early diagnosis in a late-onset pompe disease high-risk population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016; 87:5–11.
304. Musumeci O, Marino S, Granata F, Morabito R, Bonanno L, Brizzi T, Lo Buono V, Corallo F, Longo M, Toscano A. Central nervous system involvement in late-onset pompe disease: clues from neuroimaging and neuropsychological analysis. *Eur J Neurol*. 2019; 26:442–e35.
305. Nadeau A, Kinali M, Main M et al (2009) Natural history of Ullrich congenital muscular dystrophy. *Neurology* 73:25–31.
306. Nascimbeni AC, Fanin M, Masiero E, Angelini C, Sandri M. Impaired autophagy contributes to muscle atrophy in glycogen storage disease type II patients. *Autophagy*. 2012;8:1697–1700.
307. Natalia Kraeva<sup>1</sup>, Elena Zvaritch, Ann E Rossi, Sanjeeva A Goonasekera, Hilal Zaid, Wanda Frodis, Alexander Kraev, Robert T Dirksen, David H MacLennan, Sheila Riazi. Novel excitation-contraction uncoupled RYR1 mutations in patients with central core disease. 2013 Feb;23(2):120-32
308. Neufeld EF. From serendipity to therapy. *Annu Rev Biochem*. 2011; 80:1–15.
309. Ng K.W.P., Chin H.-L., Chin A.X.Y., Goh D.L.-M. Using gene panels in the diagnosis of neuromuscular disorders: A mini-review. *Front. Neurol*. 2022;13:997551.
310. Nicot AS, Toussaint A, Tosch V et al. (2007). Mutations in amphiphysin 2 (BIN1) disrupt interaction with dynamin 2 and cause autosomal recessive centronuclear myopathy. *Nat Genet* 33: 1134–1139.
311. Nigel G Laing<sup>1</sup>. Congenital myopathies. 2007 Oct;20(5):583-9.
312. Nigro V, Savarese M. Next-generation sequencing approaches for the diagnosis of skeletal muscle disorders. *Curr Opin Neurol*. 2016;29:621–7.
313. Nilipour Y., Fatehi F., Sanatinia S., Bradshaw A., Duff J., Lochmüller H., Horvath R., Nafissi S. Multiple acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency shows a possible founder effect and is the most frequent cause of lipid storage myopathy in Iran. *J. Neurol. Sci*. 2020;411:116707.
314. Niño MY, In ‘t Groen SL, Bergsma AJ, van der Beek NA, Kroos M, Hoogeveen-Westerveld M, van der Ploeg AT, Pijnappel WW. Extension of the pompe mutation database by linking disease-associated variants to clinical severity. *Hum Mutat*. 2019; 40:1954–67.

315. Norma Beatriz Romero<sup>1</sup>, Nigel F Clarke. Congenital myopathies, 2013;113:1321-36.
316. North KN (2004). Congenital myopathies. In: A Engel, C Franzini-Armstrong (Eds.), *Myology*. 3rd edn. McGraw Hill, New York, pp. 1473–1533.
317. North KN, Wang CH, Clarke N, Jungbluth H, Vainzof M, Dowling JJ, et al. Approach to the diagnosis of congenital myopathies. *Neuromuscul Disord*. 2014;24:97–116.
318. Norwood FL, Harling C, Chinnery PF et al. (2009). Prevalence of genetic muscle disease in northern England: in-depth analysis of a muscle clinic population. *Brain* 132: 3175–3186.
319. Norwood FL, Harling C, Chinnery PF et al. (2009). Prevalence of genetic muscle disease in Northern England: in-depth analysis of a muscle clinic population. *Brain* 132 (Part 11): 3175–3186.
320. Nowak KJ, Sewry CA, Navarro C, et al. Nemaline myopathy caused by absence of alpha-skeletal muscle actin. *Ann Neurol* 2007; 61:175–184.
321. Nowak KJ, Sewry CA, Navarro C, et al. Nemaline myopathy caused by absence of alpha-skeletal muscle actin. *Ann Neurol* 2007; 61:175–184.
322. Nowak KJ, Wattanasirichaigoon D, Goebel HH et al. (1999). Mutations in the skeletal muscle alpha-actin gene in patients with actin myopathy and nemaline myopathy. *Nat Genet* 23: 208–212.
323. Ohlsson M, Quijano-Roy S, Darin N, Brochier G, Lacène E, Avila-Smirnow D, et al. New morphologic and genetic finding in cap disease associated with betatropomyosin (TMP2) mutations. *Neurology*. 2008;71:1896–901.
324. Ohno K, Engel AG, Shen X-M, et al. (2002). Rapsyn mutations in humans cause endplate acetylcholine receptor deficiency and myasthenic syndrome. *Am J Hum Genet* 70: 875–885.
325. Ohno K, Sadeh M, Blatt I, et al. (2003b). E-box mutations in RAPSN promoter region in eight cases with congenital myasthenic syndrome. *Hum Mol Genet* 12: 739–748.
326. Oldfors A (2007). Hereditary myosin myopathies. *Neuromuscul Disord* 17: 355–367.
327. Ortolano S, Tarrío R, Blanco-Arias P, Teijeira S, Rodríguez-Trelles F, García-Murias M, et al. A novel MYH7 mutation links congenital fiber type disproportion and myosin storage myopathy. *Neuromuscul Disord*. 2011;21:254–62

328. Pan TC, Zhang RZ, Pericak-Vance MA et al. (1998). Missense mutation in a von Willebrand factor type A domain of the alpha 3(VI) collagen gene (COL6A3) in a family with Bethlem myopathy. *Hum Mol Genet* 7: 807–812.
329. Parikh S., Goldstein A., Koenig M.K., Scaglia F., Enns G.M., Saneto R., Anselm I., Cohen B.H., Falk M.J., Greene C., et al. Diagnosis and management of mitochondrial disease: A consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Anesthesia Analg.* 2014;17:689–701.
330. Parikh S., The Mitochondrial Medicine Society. Saneto R., Falk M.J., Anselm I., Cohen B.H., Haas R. A modern approach to the treatment of mitochondrial disease. *Curr. Treat. Options Neurol.* 2009;11:414–430.
331. Parness J, Bandschapp O, Girard T. The myotonias and susceptibility to malignant hyperthermia. *Anesth Analg.* 2009;109:1054-1064.
332. Parton RG (1996). Caveolae and caveolins. *Curr Opin Cell Biol* 8: 542–548.
333. Paulo José Lorenzoni<sup>1</sup>, Rosana Herminia Scola, Cláudia Suemi Kamoi Kay, Lineu Cesar Werneck. Congenital myasthenic syndrome: a brief review. 2012 Mar;46(3):141-8.
334. Pedro M Rodríguez Cruz<sup>1</sup>, Jacqueline Palace, David Beeson. Congenital myasthenic syndromes and the neuromuscular junction. 2014 Oct;27(5):566-75.
335. Penisson-Besnier I, Monnier N, Toutain A et al. (2007). A second pedigree with autosomal dominant nemaline myopathy caused by TPM3 mutation: a clinical and pathological study. *Neuromuscul Disord* 17: 330–337.
336. Pepe G, Bertini E, Bonaldo P et al (2002) Bethlem myopathy (BETHLEM) and Ullrich scleroatonic muscular dystrophy: 100th ENMC international workshop, 23–24 November 2001, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* 12:984–993.
337. Pepe G, Bertini E, Giusti B et al (1999) A novel de novo mutation in the triple helix of the COL6A3 gene K.M.D. Bushby et al. 199 in a two-generation Italian family affected by Bethlem myopathy. A diagnostic approach in the mutations' screening of type VI collagen. *Neuromuscul Disord* 9:264–271.
338. Perry B Shieh<sup>1</sup>, Shin J Oh<sup>2</sup>. Congenital Myasthenic Syndromes. *Neurol Clin.* 2018 May;36(2):367-378.
339. Peruzzo P, Pavan E, Dardis A. Molecular genetics of pompe disease: a comprehensive overview. *Ann Transl Med.* 2019; 7:278.
340. Peter Reilich<sup>1</sup>, Benedikt Schoser, Nicolai Schramm, Sabine Krause, Joachim Schessl, Wolfram Kress, Josef Müller-Höcker, Maggie C Walter, Hanns Lochmuller.

The p.G154S mutation of the alpha-B crystallin gene (CRYAB) causes late-onset distal myopathy. 2010 Apr;20(4):255-9.

341. Peter Sparber<sup>1</sup>, Margarita Sharova<sup>2</sup>, Alexandra Filatova<sup>2</sup>, Olga Shchagina<sup>2</sup>, Evgeniya Ivanova<sup>2</sup>, Elena Dadali<sup>2</sup>, Mikhail Skoblov<sup>2</sup>. Recessive myotonia congenita caused by a homozygous splice site variant in CLCN1 gene: a case report. 2020 Oct 22;21(Suppl 1):197.
342. Phillips L, Trivedi JR. Skeletal muscle channelopathies. *Neurotherapeutics*. 2018;15:954-965.
343. Pierson CR, Tomczak K, Agrawal P, Moghadaszadeh B, Beggs AH. X-Linked myotubular and centronuclear myopathies. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2005; 64:555–64.
344. Pilotto A, Marziliano N, Pasotti M, Grasso M, Costante AM, Arbustini E. AlphaBcrystallin mutation in dilated cardiomyopathies: low prevalence in a consecutive series of 200 unrelated probands. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;346(4):1115–7.
345. Piteau SJ, Rossiter JP, Smith RG, MacKenzie JJ. Congenital myopathy with cap-like structures and nemaline rods: case report and literature review. *Pediatr Neurol*. 2014;51:192–7.
346. Pizzamiglio C., Mahroo O.A., Khan K.N., Patasin M., Quinlivan R. Phenotype and genotype of 197 British patients with McArdle disease: An observational single-centre study. *J. Inherit. Metab. Dis*. 2021;44:1409–1418.
347. Preisler N, Lukacs Z, Vinge L, Madsen KL, Husu E, Hansen RS, Duno M, Andersen H, Laub M, Vissing J. Late-onset pompe disease is prevalent in unclassified limb-girdle muscular dystrophies. *Mol Genet Metab*. 2013; 110:287–89.
348. Pruszczyk P., Kostera-Pruszczyk A., Shatunov A., Goudeau B., Draminska A., Takeda K., Sambuughin N., Vicart P., Strelkov S.V., Goldfarb L.G., Kaminska A. Restrictive cardiomyopathy with atrioventricular conduction block resulting from a desmin mutation. *Int. J. Cardiol*. 2007;117:244–253.
349. Ptacek LJ, George AL Jr, Barchi RL et al. Mutations in an S4 segment of the adult skeletal muscle sodium channel cause paramyotonia congenita. *Neuron* 1992;8:891–7.
350. Ptacek LJ, George AL Jr, Griggs RC et al. Identification of a mutation in the gene causing hyperkalemic periodic paralysis. *Cell* 1991;67:1021–7.

351. Quijano-Roy S, Mbieleu B, Bonnemann CG et al. (2008). De novo LMNA mutations cause a new form of congenital muscular dystrophy. *Ann Neurol* 64: 177–186.
352. Quijano-Roy S, Mbieleu B, Bonnemann CG et al (2008) De novo LMNA mutations cause a new form of congenital muscular dystrophy. *Ann Neurol* 64:177–186.
353. Quinlivan R, Martinuzzi A, Schoser B. Pharmacological and nutritional treatment for McArdle disease (glycogen storage disease type V). *Cochrane Database Syst Rev* 2014;11: CD003458.
354. R Heine<sup>1</sup>, U Pika, F Lehmann-Horn. A novel SCN4A mutation causing myotonia aggravated by cold and potassium. 1993 Sep;2(9):1349-53.
355. Raben N, Nichols RC, Boerkoel C, Plotz P. Genetic defects in patients with glycogenosis type II (acid Maltase deficiency). *Muscle Nerve Suppl.* 1995; 3:S70–74.
356. Raben N, Nichols RC, Boerkoel C, Plotz P. Genetic defects in patients with glycogenosis type II (acid Maltase deficiency). *Muscle Nerve Suppl.* 1995; 3:S70–74.
357. Rachel Robinson<sup>1</sup>, Danielle Carpenter, Marie-Anne Shaw, Jane Halsall, Philip Hopkins. Mutations in RYR1 in malignant hyperthermia and central core disease. 2006 Oct;27(10):977-89.
358. Raffaella Brugnoli, Stefania Galantini, Paolo Confalonieri, Maria Rosa Balestrini, Ferdinando Cornelio, and Renato Mantegazza\*. Identification of Three Novel Mutations in the Major Human Skeletal Muscle Chloride Channel Gene (CLCN1), Causing Myotonia Congenita. Received 14 June 1999; Revised manuscript accepted 22 September 1999.
359. Rao KR, Hafford JM, Grunnet M, Greenstein M. Electrically silent muscle contractions, myoedema and myopathy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987;66:85.
360. Reddy P, Ocampo A, Suzuki K, et al. Selective elimination of mitochondrial mutations in the germline by genome editing. *Cell.* 2015;161(3):459–469.
361. Reijneveld JC, Ginjaar IB, Frankhuizen WS et al. (2006). CAV3 gene mutation analysis in patients with idiopathic hyper-CK-emia. *Muscle Nerve* 34: 656–658.
362. Reuser AJ, Kroos MA, Hermans MM, Bijvoet AG, Verbeet MP, Van Diggelen OP, Kleijer WJ, Van der Ploeg AT (1995) Glycogenosis type II (acid maltase deficiency). *Muscle Nerve* 3:S61–S69.

363. Reuser AJ, van der Ploeg AT, Chien YH, Llerena J Jr, Abbott MA, Clemens PR, Kimonis VE, Leslie N, Maruti SS, Sanson BJ, Araujo R, Periquet M, Toscano A, et al. GAA variants and phenotypes among 1,079 patients with pompe disease: data from the pompe registry. *Hum Mutat.* 2019;
364. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spector E., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Anesthesia Analg.* 2015;17:405–424.
365. Ricker K, Camacho LM, Grafe P, Lehmann-Horn F, Rudel R. Adynamia episodica hereditaria: what causes the weakness? *Muscle Nerve* 1989;12:883–91.
366. Ricker K, Moxley RT, Rohkamm R. Rippling muscle disease. *Arch Neurol* 1989;46:405–408.
367. Ricker K, Moxley RT, Rohkamm R. Rippling muscle disease. *Arch Neurol* 1989;46:405–408.
368. Ricker K, Moxley RT, Rohkamm R. Rippling muscle disease. *Arch Neurol* 1989;46:405–408.
369. Riggs JE, Griggs RC, Moxley RT. Acetazolamide-induced weakness in paramyotonia congenita. *Ann Intern Med* 1977;86:169–73.
370. Romero NB (2010). Centronuclear myopathies: a widening concept [Review]. *Neuromuscul Disord* 20: 223–228.
371. Romero NB, Bitoun M (2011). Centronuclear myopathies. *Seminars Pediatric Neurology* on “Congenital Myopathies”. *Semin Pediatr Neurol* 18: 250–256.
372. Romero NB, Herasse M, Monnier N et al. (2005). Clinical and histopathological aspects of central core diseases associated and non-associated with RYR1 locus. *Acta Myol* 24: 70–73.
373. Romero NB, Lehtokari V, Quijano-Roy S et al. (2009). Corerod myopathy caused by mutations in the nebulin gene. *Neurology* 73: 1159–1161.
374. Romero NB, Monnier N, Viollet L, Cortey A, Chevallay M, Leroy JP, et al. Dominant and recessive central core disease associated with RYR1 mutations and fetal akinesia. *Brain.* 2003;126:2341–9.
375. Romero NB. Centronuclear myopathies: a widening concept. *Neuromuscul Disord.* 2010;20:223–8.

376. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, et al. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *J Appl Physiol* (1985) 2000;88(5):1707Y1714.
377. Ronzitti G, Collaud F, Laforet P, Mingozi F. Progress and challenges of gene therapy for pompe disease. *Ann Transl Med*. 2019; 7:287.
378. Rosenfeld J, Sloan-Brown K, George AL, Jr. A novel muscle sodium channel mutation causes painful congenital myotonia. *Ann Neurol* 1997; 42:811-4; PMID:9392583; [http://dx.doi.org/ 10.1002/ana.410420520](http://dx.doi.org/10.1002/ana.410420520)
379. Rossignol R, Faustin B, Rocher C, Malgat M, Mazat JP, Letellier T. Mitochondrial threshold effects. *Biochem J*. 2003;370(Pt 3):751–762.
380. Rüdel R, Lehmann-Horn F (1985) Membrane changes in cells from myotonia patients. *Physiol Rev* 65:310–356.
381. Ryan MM, Schnell C, Strickland CD et al. (2001). Nemaline myopathy: a clinical study of 143 cases. *Ann Neurol* 50: 312–320.
382. Ryan MM, Schnell C, Strickland CD, Shield LK, Morgan G, Iannaccone ST, et al. Nemaline myopathy: a clinical study of 143 cases. *Ann Neurol*. 2001;50: 312–20.
383. Rygiel Karolina A, Picard M, Turnbull Doug M. The ageing neuromuscular system and sarcopenia: a mitochondrial perspective. *J Physiol*. 2016;594(16):4499–4512.
384. S E Woodman<sup>1</sup>, F Sotgia, F Galbiati, C Minetti, M P Lisanti. Caveolinopathies: mutations in caveolin-3 cause four distinct autosomal dominant muscle diseases. 2004 Feb 24;62(4):538-43.
385. S Vicart<sup>1</sup>, D Sternberg, B Fontaine, G Meola. Human skeletal muscle sodium channelopathies. 2005 Oct;26(4):194-202.
386. Sadeh M, Berg M, Sandbank U. Familial myoedema, muscular hypertrophy and stiffness. *Acta Neurol Scand* 1990;81: 201–204.
387. Salic AI, Pearson CM. Electrical silence of myoedema. *Neurology* 1967;17:899–901.
388. Samaha FJ. Von Eulenbergs paramyotonia. A clinical study of restricted myotonia and episodic paralysis successfully controlled by chlorothiazide. *Trans Am Neurol Assoc* 1964;89:87–91.
389. Sandra D Moreira<sup>1</sup>, Rui Barreto<sup>1</sup>, José Mário Roriz<sup>1</sup>. Becker myotonia-a recently identified mutation in iberian descendants with apparent acetazolamide-responsive phenotype. 2015 Jun;51(6):933-4.

390. Sarnat HB, Roth SI, Jime'nez JF (1981). Neonatal myotubular myopathy: neuropathy and failure of postnatal maturation of fetal muscle. *Can J Neurol Sci* 8: 313–320.
391. Savarese M, Musumeci O, Giugliano T, Rubegni A, Fiorillo C, Fattori F, et al. Novel findings associated with MTM1 suggest a higher number of female symptomatic carriers. *Neuromuscul Disord*. 2016;26:292–9.
392. Savina Tincheva<sup>1</sup>, Bilyana Georgieva<sup>2</sup>, Tihomir Todorov<sup>3</sup>, Alexey Savov<sup>4</sup>, Slavena Tsaneva<sup>3</sup>, Ivan Litvinenko<sup>5</sup>, Vanyo Mitev<sup>2</sup>, Albena Todorova<sup>6</sup>. Myotonia congenita type Becker in Bulgaria: First genetically proven cases and mutation screening of two presumable endemic regions. 2016 Oct;26(10):675-680.
393. Sawada T., Kido J., Nakamura K. Newborn Screening for Pompe Disease. *Int. J. Neonatal Screen*. 2020;6:31.
394. Scacheri PC, Gillanders EM, Subramony SH et al (2002) Novel mutations in collagen VI genes: expansion of the Bethlem myopathy phenotype. *Neurology* 58:593–602.
395. Scalco RS, Morrow JM, Booth S, et al. Misdiagnosis is an important factor for diagnostic delay in McArdle disease. *Neuromuscul Disord* 2017;27:852–5.
396. Schara U, Kress W, Bonnemann CG et al (2008) The phenotype and long-term follow-up in 11 patients with juvenile selenoprotein N1-related myopathy. *Eur J Paediatr Neurol* 12:224–230.
397. Schara U, Lochmüller H. Therapeutic strategies in congenital myasthenic síndromes. *Neurotherapeutics* 2008;5:542e7.
398. Schara U, Vorgerd M, Popovic N et al. (2002). Rippling muscle disease in childhood. *J Child Neurol* 17: 483–490.
399. Schoser B. Pompe disease: what are we missing? *Ann Transl Med*. 2019; 7:292.
400. Schroder R, Schoser B. Myofibrillar myopathies: a clinical and myopathological guide. *Brain Pathol* 2009;19(3):483–92.
401. Schröder R., Schoser B. Myofibrillar myopathies: a clinical and myopathological guide. *Brain Pathol*. 2009;19:483–492.
402. Schubert W, Sotgia F, Cohen AW et al. (2007). Caveolin-1 (–/–)- and caveolin-2(–/–)-deficient mice both display numerous skeletal muscle abnormalities, with tubular aggregate
403. Selcen D, Engel AG. Myofibrillar myopathy caused by novel dominant negative alpha B-crystallin mutations. *Ann Neurol* 2003;54(6):804–10.

404. Selcen D, Milone M, Shen XM, et al. Dok-7 myasthenia: Phenotypic and molecular genetic studies in 16 patients. *Ann Neurol* 2008;64:71e87.
405. Senderek J, Mu"ller JS, Dusl M, et al. Hexosamine biosynthetic pathway mutations cause neuromuscular transmission defect. *Am J Hum Genet* 2011; 88:162–172. 4
406. Serra M, Scotlandi K (2009). Caveolins in the development and diseases of musculoskeletal system. *Cancer Lett* 284: 113–121.
407. Shen XM, Selcen D, Brengman J, Engel AG. Mutant SNAP25B causes myasthenia, cortical hyperexcitability, ataxia, and intellectual disability. *Neurology* 2014; 83: 2247–2255.
408. Shoffner JM, Lott MT, Voljavec AS, Soueidan SA, Costigan DA, Wallace DC. Spontaneous Kearns-Sayre/chronic external ophthalmoplegia plus syndrome associated with a mitochondrial DNA deletion: a slip-replication model and metabolic therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(20):7952–7956.
409. Skeie GO, Aurlen H, Mu"ller JS, et al. (2006). Unusual features in a boy with rapsyn N88K mutation. *Neurology* 67: 2262–2263.
410. Sluiter W, van den Bosch JC, Goudriaan DA, van Gelder CM, de Vries JM, Huijmans JG, Reuser AJ, van der Ploeg AT, Ruijter GJ. Rapid ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for a characteristic glycogen-derived tetrasaccharide in pompe disease and other glycogen storage diseases. *Clin Chem*. 2012; 58:1139–47.
411. So YT, Barraza C, Figueroa KP, Pulst SM. Rippling muscle disease: evidence for phenotypic and genetic heterogeneity. *Muscle Nerve* 2001;24:340–344.
412. Somer H, Laulumaa V, Paljarvi L et al (1991) Benign muscular dystrophy with autosomal dominant inheritance. *Neuromuscul Disord* 1:267–273.
413. Sommerville EW, Chinnery PF, Gorman GS, Taylor RW. Adult-onset Mendelian PEO Associated with Mitochondrial Disease. *J Neuromuscul Dis*. 2014;1(2):119–133.
414. Spiro AJ, Shy GM, Gonatas NK. Myotubular myopathy: persistence of fetal muscle in an adolescent boy. *Arch Neurol*. 1966;14:1–14.
415. Stanley Jones P Iyadurai. Congenital Myasthenic Syndromes. 2020 Aug;38(3):541-552.
416. Statland JM, Bundy BN, Wang Y, et al. Mexiletine for symptoms and signs of myotonia in nondystrophic myotonia: a randomized controlled trial. *Jama*. 2012;308:1357–65.

417. Steinmeyer, K., Lorenz, C., Pusch, M., Koch, M. C., and Jentsch, T. J. (1994). Multimeric structure of ClC-1 chloride channel revealed by mutations in dominant myotonia congenita (Thomsen). *EMBO J.* 13, 737–743.
418. Stephan DA, Buist NRM, Chittenden AB, Ricker K, Zhou J, Hoffmann EP. A rippling muscle disease gene is localized to 1q41: evidence for multiple genes. *Neurology* 1994;44: 1915–1920.
419. Stephen C Cannon. Sodium Channelopathies of Skeletal Muscle. 2018;246:309-330. doi: 10.1007/164\_2017\_52.
420. Sternberg D, Maissonobe T, Jurkat-Rott K et al. Hypokalaemic periodic paralysis type 2 caused by mutations at codon 672 in the muscle sodium channel gene SCN4A. *Brain* 2001;124:1091–9.
421. Sternberg D, Tabti N, Hainque B, Fontaine B. Hypokalemic periodic paralysis. Gene reviews. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=gene.chapter.hpp>, 2006.
422. Stunnenberg BC, LoRusso S, Arnold WD, Barohn RJ, Cannon SC, Fontaine B, Griggs RC, Hanna MG, Matthews E, Meola G, Sansone VA, Trivedi JR, van Engelen BGM, Vicart S, Statland JM. Guidelines on clinical presentation and management of nondystrophic myotonias. *Muscle Nerve*. 2020 Oct;62(4):430-444.
423. Stunnenberg BC, Raaphorst J, Deenen JCW, et al. Prevalence and mutation spectrum of skeletal muscle channelopathies in the Netherlands. *Neuromuscul Disord*. 2018;28:402-407.
424. Stunnenberg BC, Raaphorst J, Groenewoud HM, et al. Effect of mexiletine on muscle stiffness in patients with nondystrophic myotonia evaluated using aggregated N-of-1 trials. *JAMA*. 2018; 320:2344-2353.
425. Sugie K, Murayama K, Noguchi S et al. (2004). Two novel CAV3 gene mutations in Japanese families. *Neuromuscul Disord* 14: 810–814.
426. Sun A. Lysosomal storage disease overview. *Ann Transl Med*. 2018; 6:476.
427. Sung SS, Brassington AM, Grannatt K, et al. Mutations in genes encoding fast-twitch contractile proteins cause distal arthrogryposis syndromes. *Am J Hum Genet* 2003; 72:681–690.
428. Suomalainen A, Elo JM, Pietilainen KH, et al. FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. *The Lancet. Neurology*. 2011;10(9):806–818.

429. Sushan Luo, Minjie Xu, Jian Sun, Kai Qiao, Jie Song, Shuang Cai, Wenhua Zhu, Lei Zhou, Jiaying Xi, Jiahong Lu, Xiaohua Ni, Tonghai Dou & Chongbo Zhao. Identification of gene mutations in patients with primary periodic paralysis using targeted next-generation sequencing. *BMC Neurology* volume 19, Article number: 92 (2019)
430. Syeda T Ahmed<sup>1</sup>, Lyndsey Craven<sup>1</sup>, Oliver M Russell<sup>1</sup>, Doug M Turnbull<sup>1 2</sup>, Amy E Vincent<sup>3 4</sup>. Diagnosis and Treatment of Mitochondrial Myopathies. 2018 Oct;15(4):943-953.
431. Taivassalo T, Abbott A, Wyrick P, Haller Ronald G. Venous oxygen levels during aerobic forearm exercise: An index of impaired oxidative metabolism in mitochondrial myopathy. *Ann Neurol*. 2002;51(1):38–44.
432. Tajsharghi H, Oldfors A, Macleod DP et al. (2007b). Homozygous mutation in MYH7 in myosin storage myopathy and cardiomyopathy. *Neurology* 68: 962.
433. Tajsharghi H, Thornell LE, Lindberg C et al. (2003). Myosin storage myopathy associated with a heterozygous missense mutation in MYH7. *Ann Neurol* 54: 494–500.
434. Tarnopolsky M.A. Metabolic Myopathies. *Contin. Lifelong Learn. Neurol*. 2016;22:1829–1851.
435. Tarnopolsky MA, Baker SK, Myint T, Maxner CE, Robitaille J, Robinson BH. Clinical variability in maternally inherited leber hereditary optic neuropathy with the G14459A mutation. *Am J Med Genet A*. 2004;124a(4):372–376.
436. Tarnopolsky MA. What can metabolic myopathies teach us about exercise physiology? *Appl Physiol Nutr Metab* 2006;31(1):21–30.
437. Tateyama M, Aoki M, Nishino I et al. (2002). Mutation in the caveolin-3 gene causes a peculiar form of distal myopathy. *Neurology* 58: 323–325.
438. Tawil R, Venenace SL. Andersen–Tawil syndrome. *Gene reviews*, 2007. Available at: <http://www.genetests.org>.
439. Taylor RW, Pyle A, Griffin H, et al. Use of whole-exome sequencing to determine the genetic basis of multiple mitochondrial respiratory chain complex deficiencies. *JAMA*. 2014;312(1):68–77.
440. Teruyuki Kurihara<sup>1</sup>. New classification and treatment for myotonic disorders. 2005 Oct;44(10):1027-32. doi: 10.2169/internalmedicine.44.1027.
441. Thashi Chang<sup>1</sup>, Judith Cossins<sup>2</sup>, David Beeson<sup>2</sup>. A rare c.183\_187dupCTCAC mutation of the acetylcholine receptor CHRNE gene in a South Asian female with congenital myasthenic syndrome: a case report. 2016 Oct 7;16(1):195.

442. Thiel C, Schwarz M, Peng J, et al. A new type of congenital disorders of glycosylation (CDG-Ii) provides new insights into the early steps of dolichol linked oligosaccharide biosynthesis. *J Biol Chem* 2003; 278:22498–22505.
443. Thirumal Kumar D, Umer Niazullah M, Tasneem S, Judith E, Susmita B, George Priya Doss C, Selvarajan E, Zayed H. A computational method to characterize the missense mutations in the catalytic domain of GAA protein causing pompe disease. *J Cell Biochem*. 2019; 120:3491–505.
444. Tokunbor A Lawal<sup>1</sup>, Joshua J Todd<sup>1</sup>, Katherine G Meilleur<sup>2</sup>. Ryanodine Receptor 1-Related Myopathies: Diagnostic and Therapeutic Approaches. 2018 Oct;15(4):885-899.
445. Tomoya Taminato<sup>1</sup>, Madoka Mori-Yoshimura<sup>1</sup>, Jun Miki<sup>2</sup>, Ryogen Sasaki<sup>3</sup>, Noriko Sato<sup>4</sup>, Yasushi Oya<sup>1</sup>, Ichizo Nishino<sup>5,6</sup>, Yuji Takahashi<sup>1</sup>. Paramyotonia Congenita with Persistent Distal and Facial Muscle Weakness: A Case Report with Literature Review. 2020;7(2):193-201.
446. Torberg Torbergsen<sup>1</sup>. Rippling muscle disease: a review. 2002;11:S103
447. Torbergsen T. A family with dominant hereditary myotonia, muscular hypertrophy, and increased muscular irritability, distinct from myotonia congenita Thomsen. *Acta Neurol Scand* 1975;51:225–232.
448. Toscano A, Rodolico C, Musumeci O. Multisystem late onset pompe disease (LOPD): an update on clinical aspects. *Ann Transl Med*. 2019; 7:284.
449. Toscano A., Barca E., Musumeci O. Update on diagnostics of metabolic myopathies. *Curr. Opin. Neurol*. 2017;30:553–562.
450. Tosch V, Vasli N, Kretz C et al. (2010). Novel molecular diagnosis approaches for X-linked centronuclear (myotubular) myopathy reveal intronic mutations. *Neuromuscul Disord* 20: 375–381.
451. Tournev I. The Meryon Lecture at the 18th Annual Meeting of the Meryon Society Wolfson College, Oxford, UK, 12th September 2014: Neuromuscular disorders in Roma (Gypsies) - collaborative studies, epidemiology, community-based carrier testing program and social activities. *Neuromuscul Disord*. 2016 Jan;26(1):94-103.
452. Tournev I., Thomas Voit, P.K. Thomas, Ognian Kamenov, Lidia Aneva, Dora Angelicheva, David Gresham, Boryan Tzankov & Luba Kalaydjieva. “Private” genetic disorders and isolated founder Gypsy populations in Bulgaria. *Acta Medica Bulgarica*, 2000, 27, 80-89.

453. Trimmer JS, Cooperman SS, Tomiko SA, Zhou J, Crean SM, Boyle MB, Kallen RG, Sheng Z, Barchi RL, Sigworth FJ, Goodman RH, Agnew WS, Mandel G (1989) Primary structure and functional expression of a mammalian skeletal muscle sodium channel. *Neuron* 3:33–49.
454. Trip J, de Vries J, Drost G, Ginjaar HB, van Engelen BG, Faber CG. Health status in non-dystrophic myotonias: close relation with pain and fatigue. *J Neurol*. 2009;256:939-947.
455. Trip J, Drost G, Ginjaar HB, et al. Redefining the clinical phenotypes of non-dystrophic myotonic syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:647-652.
456. Trip J, Drost G, van Engelen BG, Faber CG. Drug treatment for myotonia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006; 1:Cd004762.
457. Trivedi JR, Bundy B, Statland J, et al. Non-dystrophic myotonia: prospective study of objective and patient reported outcomes. *Brain*. 2013;136:2189-2200.
458. Tubridy N, Fontaine B, Eymard B. Congenital myopathies and congenital muscular dystrophies. *Curr Opin Neurol*. 2001;14:575–82.
459. Turaça LT, de Faria DO, Kyosen SO, Teixeira VD, Motta FL, Pessoa JG, Rodrigues E Silva M, de Almeida SS, D’Almeida V, Munoz Rojas MV, Martins AM, Pesquero JB. Novel GAA mutations in patients with pompe disease. *Gene*. 2015; 561:124–31.
460. Tyler FH, Stephens FE, Gunn FD, Perkoff GT. Studies in disorders of muscle. VII. Clinical manifestations and inheritance of a type of periodic paralysis without hypopotassemia. *J Clin Invest* 1951;30:492–502.
461. Tyynismaa H, Mjosund KP, Wanrooij S, et al. Mutant mitochondrial helicase Twinkle causes multiple mtDNA deletions and a late-onset mitochondrial disease in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(49):17687–17692.
462. Uluç Yiş<sup>1</sup>, Kerstin Becker<sup>2</sup>, Semra Hız Kurul<sup>1</sup>, Gökhan Uyanik<sup>3,4</sup>, Erhan Bayram<sup>1</sup>, Göknur Haliloğlu<sup>5</sup>, Ayşe İpek Polat<sup>1</sup>, Müge Ayanoğlu<sup>1</sup>, Derya Okur<sup>1</sup>, Ayşe Fahriye Tosun<sup>6</sup>, Gül Serdaroğlu<sup>7</sup>, Sanem Yilmaz<sup>7</sup>, Haluk Topaloğlu<sup>5</sup>, Banu Anlar<sup>5</sup>, Sebahattin Cirak<sup>2</sup>, Andrew G Engel<sup>8</sup>. Genetic Landscape of Congenital Myasthenic Syndromes From Turkey: Novel Mutations and Clinical Insights. 2017 Jul;32(8):759-765.
463. van Capelle CI, van der Meijden JC, van den Hout JM, Jaeken J, Baethmann M, Voit T, Kroos MA, Derks TG, Rubio-Gozalbo ME, Willemsen MA, Lachmann RH,

- Mengel E, Michelakakis H, et al. Childhood pompe disease: clinical spectrum and genotype in 31 patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2016; 11:65.
464. van den Hout HM, Hop W, van Diggelen OP, Smeitink JA, Smit GP, Poll-The BT, Bakker HD, Loonen MC, de Klerk JB, Reuser AJ, van der Ploeg AT. The natural course of infantile pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature. *Pediatrics*. 2003; 112:332–40.
  465. van der Horst GT, Hoefsloot EH, Kroos MA, Reuser AJ. Cell-free translation of human lysosomal alpha-glucosidase: evidence for reduced precursor synthesis in an adult patient with glycogenosis type II. *Biochim Biophys Acta*. 1987; 910:123–29.
  466. van der Ploeg AT, Kruijshaar ME, Toscano A, Laforêt P, Angelini C, Lachmann RH, Pascual Pascual SI, Roberts M, Rösler K, Stulnig T, van Doorn PA, Van den Bergh PY, Vissing J, Schoser B, and European Pompe Consortium. European consensus for starting and stopping enzyme replacement therapy in adult patients with pompe disease: a 10-year experience. *Eur J Neurol*. 2017; 24:768–e31. 10.1111/ene.13285.
  467. van der Ploeg AT, Reuser AJ. Pompe's disease. *Lancet* 2008;372:1342–53.
  468. Venance SL, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F, Tawil R. SCN4A-associated hypokalemic periodic paralysis merits a trial of acetazolamide. *Neurology* 2004;63:1977.
  469. Veronika Karcagi, Ivailo Tournev, Carolin Schmidt, Agnes Herczegfalvi, Velina Guergueltcheva, Ivan Litvinenko, In-Ho Song, Angela Abicht, and Hanns Lochmüller. Congenital Myasthenic Syndrome in southeastern European Roma (Gypsies). . *Acta Myologica*, 2001, vol. XX, 3, 231-237.
  470. Vicart P, Caron A, Guicheney P, et al. A missense mutation in the alphaBcrystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. *Nat Genet* 1998;20(1):92–5.
  471. Vicart P, Caron A., Guicheney P., Li Z., Prevost M.C., Faure A., Chateau D., Chapon F., Tomé F., Dupret J.M., Paulin D., Fardeau M. A missense mutation in the alphaβ-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. *Nat. Genet*. 1998;20:92–95.
  472. Vissing J, Quistorff B, Haller RG. Effect of fuels on exercise capacity in muscle phosphoglycerate mutase deficiency. *Arch Neurol* 2005;62(9): 1440Y1443.
  473. Voermans NC, Boënnemann CG, Hamel BC et al. (2009). Joint hypermobility as a distinctive feature in the differential diagnosis of myopathies. *J Neurol* 256: 13–27.

474. Volonte D, Liu Y, Galbiati F (2005). The modulation of caveolin-1 expression controls satellite cell activation during muscle repair. *FASEB J* 19: 237–239.
475. Volpi L, Ricci G, Orsucci D, et al. Metabolic myopathies: functional evaluation by different exercise testing approaches. *Musculoskelet Surg.* 2011;95(2):59–67.
476. Vorgerd M, Bolz H, Patzold T, Kubisch C, Malin JP, Mortier W. Phenotypic variability in rippling muscle disease. *Neurology* 1999;52:1453–1459.
477. Vorgerd M, Ricker K, Ziemssen F et al. (2001). A sporadic case of rippling muscle disease caused by a de novo caveolin-3 mutation. *Neurology* 57: 2273–2277.
478. Vorgerd M, Ricker K, Ziemssen F, Kress W, Goebel HH, Nix WA, Kubisch C, Schloser BGH, Mortier W. A sporadic case of rippling muscle disease caused by a de novo caveolin-3 mutation. *Neurology*; 57:2273–22772.
479. Wakeman, B., Babu, D., Tarleton, J., and Macdonald, I. M. (2008). Extraocular muscle hypertrophy in myotonia congenita. *J. AAPOS* 12, 294–296.
480. Walker GR, Watkins T, Ansevin CF. Identification of autoantibodies associated with rippling muscle and myasthenia gravis that recognize skeletal muscle proteins: possible relationship of antigens and stretch-activated ion channels. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;264:430–435.
481. Wallgren-Pettersson C, Laing NG. Report of the 70th ENMC international workshop: nemaline myopathy. Naarden, the Netherlands.11-13 June 1999. *Neuromuscul Disord.* 2000;10:299–306.
482. Wan L, Lee CC, Hsu CM, Hwu WL, Yang CC, Tsai CH, Tsai FJ. Identification of eight novel mutations of the acid alpha-glucosidase gene causing the infantile or juvenile form of glycogen storage disease type II. *J Neurol.* 2008; 255:831–38.
483. Wang CH, Dowling JJ, North K, Schroth MK, Sejersen T, Shapiro F, et al. Consensus statement on standard of care for congenital myopathies. *J Child Neurol.* 2012;27:363–82
484. Wattanasirichaigoon D, Swoboda KJ, Takada F et al. (2002). Mutations of the slow muscle alpha-tropomyosin gene, TPM3, are a rare cause of nemaline myopathy. *Neurology* 59: 613–617.
485. Wattjes MP, Kley RA, Fischer D (2010). Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases. *Eur Radiol* 20: 2447–2460.
486. Weil D, Mattei MG, Passage E et al (1988) Cloning and chromosomal localization of human genes encoding the three chains of type VI collagen. *Am J Hum Genet* 42:435–445.

487. Williams TM, Lisanti MO (2004). The Caveolin genes: from cell biology to medicine. *Ann Med* 36: 584–595.
488. Wisselaar HA, Kroos MA, Hermans MM, van Beeumen J, Reuser AJ. Structural and functional changes of lysosomal acid alpha-glucosidase during intracellular transport and maturation. *J Biol Chem*. 1993; 268:2223–31.
489. Woodman SE, Sotgia F, Galbiati F et al. (2004). Caveolinopathies: mutations in caveolin-3 cause four distinct autosomal dominant muscle diseases. *Neurology* 62: 538–543.
490. Wu X, Rush JS, Karaoglu D, et al. Deficiency of UDP-GlcNAc:Dolichol Phosphate N-Acetylglucosamine-1 Phosphate Transferase (DPAGT1) causes a novel congenital disorder of Glycosylation Type Ij. *Hum Mutat* 2003; 22:144–150.
491. Xiao-Li Liu<sup>1</sup>, Xiao-Jun Huang<sup>1</sup>, Jun-Yi Shen<sup>1</sup>, Hai-Yan Zhou<sup>1</sup>, Xing-Hua Luan<sup>1</sup>, Tian Wang<sup>1</sup>, Sheng-Di Chen<sup>1</sup>, Ying Wang<sup>1</sup>, Hui-Dong Tang<sup>1</sup>, Li Cao. Myotonia congenita: novel mutations in CLCN1 gene. 2015;9(5):292-8.
492. Xiao-li Liu<sup>1</sup>, Xiao-jun Huang, Xing-hua Luan, Hai-yan Zhou, Tian Wang, Jing-yi Wang, Sheng-di Chen, Hui-dong Tang, Li Cao. Mutations of SCN4A gene cause different diseases: 2 case reports and literature review. 2015;9(2):82-7.
493. Yan-Xin Meng, PhD,<sup>a</sup> Mei Yu, MS,<sup>a</sup> Chunmiao Liu, MS,<sup>b</sup> Haijuan Zhang, MS,<sup>b</sup> Yuxiu Yang, MS,<sup>b,\*</sup> and Jing Zhang, PhD<sup>a,\*</sup>. Sequence *CLCN1* and *SCN4A* genes in patients with nondystrophic myotonia in Chinese people. 2022 Jul 22; 101(29): e29591.
494. Yawen Zhao<sup>1</sup>, Ying Li<sup>2</sup>, Yang Bian<sup>3</sup>, Sheng Yao<sup>3</sup>, Penju Liu<sup>2</sup>, Meng Yu<sup>1</sup>, Wei Zhang<sup>1</sup>, Zhaoxia Wang<sup>1</sup>, Yun Yuan<sup>1</sup>. Congenital myasthenic syndrome in China: genetic and myopathological characterization. 2021 Apr;8(4):898-907.
495. Zhang RZ, Sabatelli P, Pan TC et al (2002) Effects on collagen VI mRNA stability and microfibrillar assembly of three COL6A2 mutations in two families with Ullrich congenital muscular dystrophy. *J Biol Chem* 277:43557–43564.
496. Zhou H, Jungbluth H, Sewry CA, Feng L, Bertini E, Bushby K, et al. Molecular mechanisms and phenotypic variation in RYR1-related congenital myopathies. *Brain*. 2007;130:2024–36.
497. Zutt R., van der Kooi A., Linthorst G., Wanders R., de Visser M. Rhabdomyolysis: Review of the literature. *Neuromuscul. Disord*. 2014;24:651–659.

## 8. Приложения

Приложение 1- MRC скала за оценка на мускулната сила при ММТ.

### Оценка на мускулната сила

| Степен | Способност за движение                                                                                                                                                          |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5      | Пълен обем на движение в ставата срещу гравитацията и срещу пълното съпротивление, приложено изследващия.                                                                       |
| 4      | Пълен обем на движение в ставата срещу умерено съпротивление, приложено изследващия.                                                                                            |
| 3      | Пълен обем на движение в ставата срещу гравитацията, но без оказване на никакво съпротивление.                                                                                  |
| 2      | Пълен обем на движение в ставата, при позиция, при която се елиминира силата на гравитацията.                                                                                   |
| 1      | Мускулното съкращение се вижда или може да се установи чрез палпация, но не е достатъчно за осъществяване на движение в ставата, дори и при елиминиране силата на гравитацията. |
| 0      | Липсва видимо мускулно съкращение и не се установява съкращение при мускулна палпация; парализа.                                                                                |

## Приложение 2- Congenital Myasthenic Syndrome Combined Child/Adult form

| Congenital Myasthenic Syndrome Combined Child / Adult Form (Appropriate for ≈ 3 years +) ⊕ = Child appropriate tests |                                                                                                                                                    |                                                                                 |                                                                                   |                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------|
| Name                                                                                                                 |                                                                                                                                                    | DOB                                                                             | Date                                                                              | Time of assessment |           |
| NHS / GC Number                                                                                                      |                                                                                                                                                    |                                                                                 | Assessed by                                                                       |                    |           |
| Diagnosis Details                                                                                                    |                                                                                                                                                    |                                                                                 | Genetically confirmed<br>Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |                    |           |
| Height cm                                                                                                            |                                                                                                                                                    | (Centile)                                                                       | Weight kg                                                                         |                    | (Centile) |
| Date of last ECG                                                                                                     |                                                                                                                                                    |                                                                                 | ECG Details                                                                       |                    |           |
| History Medication                                                                                                   |                                                                                                                                                    |                                                                                 | Factors influencing today's assessment:                                           |                    |           |
| Medication Details                                                                                                   |                                                                                                                                                    | Currently medicated<br>Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Name of medication<br>Dose                                                        |                    |           |
| Time since last medication                                                                                           |                                                                                                                                                    |                                                                                 |                                                                                   |                    |           |
| 1a                                                                                                                   | <b>Food Textures</b> Do you have to modify your food in any way in order to eat it?                                                                |                                                                                 |                                                                                   |                    | N/A       |
|                                                                                                                      | Eats all textures of food                                                                                                                          |                                                                                 |                                                                                   |                    | 0         |
|                                                                                                                      | Eats cut up or small pieces of food or avoids hard/chewy foods                                                                                     |                                                                                 |                                                                                   |                    | 1         |
|                                                                                                                      | Eats minced/ pureed food                                                                                                                           |                                                                                 |                                                                                   |                    | 2         |
|                                                                                                                      | Minimal oral intake                                                                                                                                |                                                                                 |                                                                                   |                    | 3         |
| 1b                                                                                                                   | <b>Eating a meal</b> (with or without assistance) How long does it take to complete a whole meal?                                                  |                                                                                 |                                                                                   |                    | N/A       |
|                                                                                                                      | Able to consume a whole meal in the same time as others sharing the meal                                                                           |                                                                                 |                                                                                   |                    | 0         |
|                                                                                                                      | Able to consume a whole meal in the same time as others only with encouragement or needs some additional time (<10 min)                            |                                                                                 |                                                                                   |                    | 1         |
|                                                                                                                      | Able to consume a whole meal but requires substantially more than 10 minutes extra compared to others eating the same meal or reduces portion size |                                                                                 |                                                                                   |                    | 2         |
|                                                                                                                      | Unable to consume a whole meal even with additional time, assistance                                                                               |                                                                                 |                                                                                   |                    | 3         |
| 1c                                                                                                                   | <b>Swallowing</b> Do you ever have problems with swallowing?                                                                                       |                                                                                 |                                                                                   |                    | N/A       |
|                                                                                                                      | Never has problems when swallowing and never chokes on food/drink                                                                                  |                                                                                 |                                                                                   |                    | 0         |
|                                                                                                                      | May experience occasional (less than once a month) problems swallowing certain types of food or occasionally chokes                                |                                                                                 |                                                                                   |                    | 1         |
|                                                                                                                      | Has regular trouble swallowing food/drink or chokes on food/drink (more than once a month)                                                         |                                                                                 |                                                                                   |                    | 2         |
|                                                                                                                      | Has trouble swallowing saliva or secretions                                                                                                        |                                                                                 |                                                                                   |                    | 3         |

CMS Form Adult / Child 15/08/12 For further information Geraldine Bailey - Geraldine.Bailey@nuth.nhs.uk Anna Mayhew - anna.mayhew@ncl.ac.uk Page 1

| Congenital Myasthenic Syndrome Combined Child / Adult Form (Appropriate for ≈ 3 years +) ⊕ = Child appropriate tests |                                            |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|
| Patient Name                                                                                                         |                                            |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 1 Swallowing Questions (out of 9)                                                                                    |                                            | Date |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
|                                                                                                                      |                                            | /9   | /9 | /9  | /9 | /9  | /9 | /9  | /9 | /9  | /9 |
| Date                                                                                                                 |                                            |      |    | %↑↓ |    | %↑↓ |    | %↑↓ |    | %↑↓ |    |
| <b>2 Respiratory - Spirometry</b>                                                                                    |                                            |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| Sitting FVC   % Predicted                                                                                            |                                            |      | %  | %   | %  | %   | %  | %   | %  | %   | %  |
| Lying FVC   % Predicted                                                                                              |                                            |      | %  | %   | %  | %   | %  | %   | %  | %   | %  |
| <b>3 Adapted QMG</b><br>(See Manual for different testing procedures)                                                |                                            |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 1                                                                                                                    | Lateral Diplopia (1 Minute)                | :    |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 2 ⊕                                                                                                                  | Ptosis (1 Minute)                          | :    |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 3 ⊕                                                                                                                  | Eyelid closure                             | :    |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 4 ⊕                                                                                                                  | Slurp Test (Timed)                         | :    |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 5a or                                                                                                                | Count to 50                                | :    |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 5b ⊕                                                                                                                 | "Me-Bee" test (up to 50)                   | :    |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 6 ⊕                                                                                                                  | Rise from floor 1 (Timed)                  | :    |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 7 ⊕                                                                                                                  | Raise arm 90° (4 minute flexion)           | R L  |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 8                                                                                                                    | Head Lift 45° (2 Minutes)                  |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 9R                                                                                                                   | Leg Raise to 45° (1:40)                    | R L  |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 10a ⊕ or                                                                                                             | Squats (number in 1 minute)                |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 10b                                                                                                                  | Repeated sit to stand (number in 1 minute) |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |
| 11 ⊕                                                                                                                 | Rise from floor 2 (Timed)                  |      |    |     |    |     |    |     |    |     |    |

CMS Form Adult / Child 15/08/12 For further information Geraldine Bailey - Geraldine.Bailey@nuth.nhs.uk Anna Mayhew - anna.mayhew@ncl.ac.uk Page 2

| <b>Congenital Myasthenic Syndrome Combined Child / Adult Form</b> (Appropriate for $\approx$ 3 years +) ☺ = Child appropriate tests |                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|----|
| Patient Name                                                                                                                        |                 |                        | Date                                                                                                                                                                                                                                                                                      |   |    |
| <b>4 Myometry</b><br>Test dominant side only<br>Dominant R <input type="checkbox"/> L <input type="checkbox"/>                      |                 |                        | <input type="checkbox"/> Pounds<br><input type="checkbox"/> Kilograms<br><input type="checkbox"/> Newtons                                                                                                                                                                                 |   |    |
| ☺ Grip endurance                                                                                                                    | 1               | 2                      | 3                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 4 | 5  |
| Repeat 10 times, held for 5 seconds each time                                                                                       | 6               | 7                      | 8                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 9 | 10 |
| Timed Tests                                                                                                                         | Time in seconds | Change since last asst | Distance in metres                                                                                                                                                                                                                                                                        |   |    |
| 12                                                                                                                                  | 6MWD            |                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |   |    |
| <b>Additional Information / notes</b><br><br>Pattern of Fatigue<br><br><br><br><br><br>Scoliosis                                    |                 |                        | NIV                      Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/><br><br>Number of hours on NIV per day<br><br><br>Tracheostomy                      Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/><br><br>Respiratory Crisis/chest infections since last visit |   |    |

## 9. Научни публикации и участия във връзка с дисертационния труд:

- 1) **Благоева С.**, Чамова Т., Тодоров Т., Тодорва А., Господинова М., Търнев И. Вродена миотония, обусловена от мутация в SCN4A гена. Сп. Българска неврология, 2021, 29-31.
- 2) **Благоева С.**, Чамова Т., Търнев И. Миопатия на Bethlem. Сп. Българска неврология, 2023, 2:55-59.
- 3) **Благоева С.**, Чамова Т., Търнев И. Натриеви каналопатии. Сп. Българска неврология, 2023, 2:59-63.
- 4) **Благоева С.**, Чамова Т., Търнев И. Хлорни каналопатии. Сп. Българска неврология, 2023, 2:63-66..
- 5) **Благоева С.**, Чамова Т., Търнев И. Фенотип-генотип корелации при пациенти с Вродена миотония тип Бекер. Сп. Българска неврология, 2023, 2:70-73.
- 6) **Blagoeva S.**, Chamova T., Todorov T., Todorova A., Tturnev I. Phenotype-genotype correlations in patients with Congenital myotonia Becker. Journal Acta Medica Bulgarica- изпратена за публикуване.
- 7) Kastreva K, Chamova T., **Blagoeva S.**, Bichev S., Mihaylova V., Meyer S., Thompson R., Cherninkova S., Guergueltcheva V., Lochmuller H., Tournev I. Characterization of clinical phenotypes in congenital myasthenic syndrome associated with 1327delG. Journal of Neuromuscular Diseases- изпратена за публикуване.
- 8) Chamova T., Gospodinova M., Asenov O., Todorov T., Pavlova Z., Kirov A., Cherninkova S., Kastreva K., Taneva A., **Blagoeva S.**, Zhelyazkova S., Antimov P., Chobanov K., Todorova A., Tournev I. Seven Years of Selective Genetic Screening Program and Follow-Up of Asymptomatic Carriers With Hereditary Transthyretin Amyloidosis in Bulgaria. Front. Neurol. 2022; 13:844595. doi: 10.3389/fneur.2022.844595. *IF 3.4*

### Участие в конгреси:

#### Постери:

- 1) **29 октомври -01 ноември 2020г.**- XIX Национален конгрес по неврология с международно участие. Постер на тема: Вродена миотония на Becker в България. С. Благоева, Т. Чамова, Т. Тодоров, А. Тодорова, И. Търнев

- 2) **7-10 октомври 2021г.** XX Национален конгрес по неврология с международно участие. Постер на тема: Натриево-канална вродена миотония, резултат от мутация в SCN4A гена. С. Благоева, Т. Чамова, Т. Тодоров, А. Тодорова, М. Господинова, И. Търнев
- 3) **2-5 юни 2022 г.** XXI Национален конгрес по неврология с международно участие. Постер на тема: Клиничен спектър и диагностика на вродените миотонии. С. Благоева, Т. Чамова, Т. Тодоров, А. Тодорова, И. Търнев.

#### **Орални презентации:**

- 1) **22-25 май 2021г.** - Национална конференция за педиатри и ОПЛ с международно участие- „Децата на България“  
Орална презентация на тема: Вродени миотонии- класификация, клинична характеристика и лечение. С. Благоева, Т. Чамова, И. Търнев
- 2) **2-3 септември 2021г.** - Конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие.  
Орална презентация на тема: Генотип- фенотип корелации при вродените миотонии. С. Благоева, Т. Чамова, И. Търнев.
- 3) **25.08.2023 г.** – Втора научна конференция на тема „Новости в диагностиката, проследяването и лечението на някои наследствени невромускулни заболявания“. Орална презентация на тема: Вродени миотонии. С. Благоева, Т. Чамова, И. Търнев
- 4) **11-12 октомври 2023 г.**- Конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие.  
Орална презентация на тема: Вродени миотонии. С. Благоева, Т. Чамова, И. Търнев.

Спечелен конкурс „Млад изследовател“ за 2021г. за финансиране на изследователски проект на тема: „Клинико-генетични проучвания на вродените миотонии в България.“