



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

ROZPRAWA DOKTORSKA

Jakub Ubysz

Elektrofizjologiczna ocena czynności mózgu u chorych z rdzeniowym zanikiem mięśni

Promotor:

Dr hab. n. med. Anna Pokryszko-Dragan, profesor UMW

Katedra i Klinika Neurologii

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Kierownik: Dr hab. n. med. Sławomir Budrewicz, profesor UMW

Wrocław, 2024

Składam serdeczne podziękowania i wyrazy szacunku

Pani Promotor, Profesor Annie Pokryszko-Dragan za inspiracje do pracy naukowej, nieocenioną pomoc, cierpliwość, wyrozumiałość i życzliwość na każdym etapie powstawania niniejszej pracy

Panu Profesorowi Sławomirowi Budrewiczowi za umożliwienie rozwoju naukowego, przekazywaną pasję do neurologii i cenne wskazówki przy realizacji pracy

Pani Profesor Magdalenie Koszewicz za pomoc merytoryczną i organizacyjną przy powstawaniu pracy oraz możliwość nauki i rozwoju w obszarze chorób rzadkich

Pani Magister Małgorzacie Cyrul oraz Pani Magister Elżbiecie Kusińskiej za bezcenną pomoc przy zbieraniu bogatego materiału klinicznego oraz wsparcie i wskazówki przy jego opracowaniu

Pacjentom, którzy wzięli udział w badaniu za współpracę i poświęcony czas, umożliwiając poszerzenie aktualnej wiedzy o rdzeniowym zaniku mięśni

Mojej Rodzinie i Przyjaciółom za motywację i bezwarunkowe wsparcie

Pracę dedykuję moim Rodzicom

Wykaz skrótów użytych w pracy

AAV9	ang. <i>adeno-associated virus serotype 9</i> – rekombinowany wirus związany z adenowirusami, serotyp 9
a-SMN	ang. <i>axonal-SMN</i> – aksonalna izoforma białka SMN
BAEP	ang. <i>brainstem auditory evoked potentials</i> - słuchowe pniowe potencjały wywołane
BVVL	zespół Browna-Vialetto-Van Laerego
CHOP - -INTEND	ang. <i>The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders</i> - skala do oceny sprawności nerwowo-mięśniowej niemowląt opracowana przez Szpital Dziecięcy w Filadelfii, skala stosowana do oceny sprawności ruchowej chorych na rdzeniowy zanik mięśni
CK	kinaza kreatynowa
DNA	kwasy deoksyrybonukleinowe
EEG	elektroencefalografia
EMA	ang. <i>European Medicines Agency</i> - Europejska Agencja Leków
EMG	elektromiografia
EP	ang. <i>evoked potentials</i> - potencjały wywołane
ERP	ang. <i>endogenous/event-related potentials</i> - endogenne/sytuacyjne potencjały wywołane
FDA	ang. <i>Food and Drug Administration</i> - Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków
FL -SMN	ang. <i>full-length SMN</i> – białko SMN o pełnej długości
GARS	ang. <i>glycyl-tRNA synthetase</i> - syntetaza glicylo-tRNA
HFMSE	ang. <i>Hammersmith Functional Motor Scale Expanded</i> - Skala Sprawności Motorycznej Hammersmith – Rozszerzona (skala stosowana do oceny sprawności ruchowej chorych na rdzeniowy zanik mięśni)
HINE	ang. <i>Hammersmith Infant Neurological Examination</i> - Badanie neurologiczne niemowląt przeprowadzane w skali Hammersmith (skala stosowana do oceny sprawności ruchowej chorych na rdzeniowy zanik mięśni)
IFCN	ang. <i>International Federation of Clinical Neurophysiology</i> - Międzynarodowa Federacja Neurofizjologii Klinicznej
IGF-1	ang. <i>insulin-like growth factor 1</i> - insulinopodobny czynnik wzrostu
MEP	ang. <i>motor evoked potentials</i> - ruchowe potencjały wywołane
MLPA	ang. <i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i> – odmiana reakcji łańcuchowej polimerazy oparta na wielokrotnej ligacji
MoCA	ang. <i>Montreal Cognitive Assessment</i> - Montrealska Skala do Oceny Funkcji Poznawczych
MR	rezonans magnetyczny
mRNA	matrycowy kwas rybonukleinowy
N	ang. <i>negative</i> - ujemne (wychylenie załamek)
NCALD	ang. <i>neurocalcin delta</i> - neurokalcyna delta
NGS	ang. <i>next generation sequencing</i> – sekwencjonowanie nowej generacji
NfL	ang. <i>neurofilament light protein</i> - łańcuchy lekkich neurofilamentów

OUN	ośrodkowy układ nerwowy
P	ang. <i>positive</i> - dodatnie (wychylenie załamek)
PCR	ang. <i>Polymerase Chain Reaction</i> – reakcja łańcuchowa polimerazy
PCR-RFLP	ang. <i>Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism</i> – reakcja łańcuchowa polimerazy z analizą długości fragmentów restrykcyjnych
PLS3	gen plastyny 3
pNF-H	ang. <i>phosphorylated neurofilament heavy chain</i> - łańcuchy ciężkie fosforylowanych neurofilamentów
qPCR	ang. <i>quantitative polymerase chain reaction</i> - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy
RNA	kwas rybonukleinowy
RTG	badanie radiologiczne wykorzystujące promienie rentgenowskie
SMA	ang. <i>spinal muscular atrophy</i> - rdzeniowy zanik mięśni
SMA-PME	ang. <i>SMA associated with progressive myoclonic epilepsy</i> - rdzeniowy zanik mięśni z padaczką miokloniczną
SMN	ang. <i>survival motor neuron</i> - warunkujący przeżycie neuronów ruchowych (skrót używany w odniesieniu do genów <i>SMN1</i> i <i>SMN2</i> oraz białka SMN)
SMN1	kopia telomerowa genu <i>SMN</i>
SMN2	kopia centromerowa genu <i>SMN</i>
SNAP	ang. <i>sensory nerve action potential</i> - potencjał czynnościowy nerwu czuciowego
SNCV	ang. <i>sensory nerve conduction velocities</i> - prędkość przewodzenia w nerwie czuciowym
snoRNP	ang. <i>small nucleolar ribonucleoproteins</i> , małe/niskocząsteczkowe jąderkowe rybonukleoproteiny
snRNP	ang. <i>small nuclear ribonucleoproteins</i> - małe/niskocząsteczkowe jądrowe rybonukleoproteiny
SPSMA	ang. <i>scapuloperoneal spinal muscular atrophy</i> - łopatkowo-strzałkowy rdzeniowy zanik mięśni
SSEP	ang. <i>somatosensory evoked potentials</i> - somatocuciowe potencjały wywołane
SSR	ang. <i>sympathetic skin response</i> - współczulna odpowiedź skórna
TK	tomografia komputerowa
unrip	ang. <i>unr-interacting protein</i> – białko oddziałujące z „unr” (białko biorące udział w tworzeniu kompleksu białka SMN)
UBA1	ang. <i>ubiquitin-like modifier activating enzyme 1</i> - enzym aktywujący ubikwitynę
USG	ultrasonografia
VEP	ang. <i>visual evoked potentials</i> - wzrokowe potencjały wywołane
VGLuT1+	ang. <i>vesicular glutamate transporter 1</i> - białko 1 transportu pęcherzykowego glutaminianu
WHOQOL-BREF	ang. <i>World Health Organization Quality of Life BREF</i> - kwestionariusz oceniający jakość życia opracowany przez Światową Organizację Zdrowia

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów użytych w pracy	4
1. WSTĘP	9
1.1. Wprowadzenie	9
1.2. Rdzeniowy zanik mięśni	10
1.2.1. Rys historyczny	10
1.2.2. Epidemiologia	11
1.2.3. Etiologia	12
1.2.3.1. Podłoże genetyczne	12
1.2.3.2. Budowa białka SMN i jego funkcje	14
1.2.4. Klasyfikacja, obraz kliniczny i przebieg naturalny choroby	15
1.2.5. Diagnostyka	17
1.2.5.1. Badanie genetyczne	17
1.2.5.2. Elektromiografia	18
1.2.5.3. Badania laboratoryjne	18
1.2.6. Leczenie	19
1.2.6.1. Leczenie farmakologiczne	19
1.2.6.2. Leczenie wspomagające i opieka interdyscyplinarna	20
1.3. Rdzeniowy zanik mięśni jako choroba ogólnoustrojowa	23
1.3.1. Znaczenie i ekspresja białka SMN	23
1.3.2. Ogólnoustrojowe objawy SMA	24
1.3.2.1. Układ mięśniowy i kostno-szkieletowy	24
1.3.2.2. Układ oddechowy	24
1.3.2.3. Układ sercowo-naczyniowy	25
1.3.2.4. Układ pokarmowy, metabolizm i stan odżywienia	25
1.3.2.5. Układ moczowy	26
1.3.2.6. Układ rozrodczy	26
1.3.2.7. Spektrum zmian w układzie nerwowym	27
1.4. Elektrofizjologiczne metody oceny funkcji ośrodkowego układu nerwowego	31
1.4.1. Elektroencefalografia	31
1.4.2. Potencjały wywołane	32
1.4.2.1. Egzogenne potencjały wywołane	33
1.4.2.2. Endogenne/sytuacyjne potencjały wywołane	35

2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY	36
4. MATERIAŁ I METODY	38
4.1. Grupy badane	38
4.2. Ocena kliniczna grupy chorych na SMA	39
4.3. Badania laboratoryjne	39
4.4. Badania elektrofizjologiczne	39
4.4.1. Potencjały wywołane.....	40
4.4.2. Elektroencefalografia (EEG).....	41
4.5. Analiza statystyczna	42
5. WYNIKI.....	43
5.1. Charakterystyka grupy chorych	43
5.1.1. Czynniki demograficzne	43
5.1.2. Wskaźniki antropometryczne	43
5.1.3. Obraz kliniczny	44
5.1.4. EMG i neurografia	46
5.1.5. Badania laboratoryjne	46
5.1.6. Badania neuroobrazowe	47
5.1.7. Badanie funkcji poznawczych.....	47
5.1.8. Ocena jakości życia.....	47
5.2. Wyniki badań elektrofizjologicznych.....	50
5.2.1. Badanie EEG	50
5.2.2. Wzrokowe potencjały wywołane (VEP)	54
5.2.3. Słuchowe pniowe potencjały wywołane (BAEP)	56
5.2.4. Somatocuciowe potencjały wywołane (SSEP).....	59
5.3. Zależności między parametrami elektrofizjologicznymi a badanymi czynnikami w grupie chorych na SMA	63
5.3.1. Czynniki demograficzne	63
5.2.1.1. EEG	63
5.2.1.2. Parametry potencjałów wywołanych	63
5.3.2. Wskaźniki antropometryczne	65
5.2.1.1. EEG	65
5.2.1.2. Parametry potencjałów wywołanych	65
5.3.3. Czynniki kliniczne.....	66
5.3.3.1. EEG	66

5.3.3.2. Parametry potencjałów wywołanych	67
6. OMÓWIENIE WYNIKÓW	71
6.1. Wyniki badań elektrofizjologicznych.....	72
6.1.1. Elektroencefalografia	72
6.1.2. Potencjały wywołane.....	73
6.2. Zależności pomiędzy parametrami elektrofizjologicznymi a pozostałymi badanymi czynnikami	75
6.2.1. Czynniki demograficzne i antropometryczne	75
6.2.2. Czynniki genetyczne i kliniczne	76
6.3. Potencjalne podłoże zaburzeń czynności bioelektrycznej OUN u chorych na SMA ...	78
6.4. Ograniczenia pracy i dalsze plany badawcze	81
7. WNIOSKI.....	82
8. STRESZCZENIE	83
9. PIŚMIENNICTWO	87
10. SPIS TABEL I RYCIN ZAMIESZCZONYCH W PRACY	111
10.1. Spis tabel	111
10.2. Spis rycin.....	112

1. WSTĘP

1.1. Wprowadzenie

Rdzeniowe zaniki mięśni to heterogenna grupa genetycznie uwarunkowanych chorób przebiegających z postępującym uszkodzeniem obwodowego/dolnego neuronu ruchowego. Najczęstszym schorzeniem spośród tej grupy (ponad 95%) jest proksymalny rdzeniowy zanik mięśni, spowodowany mutacjami genu *SMN1* na chromosomie 5q, o dziedziczeniu autosomalnie recesywnym. Z tego względu nazwa „rdzeniowy zanik mięśni” oraz skrót „SMA” (ang. *spinal muscular atrophy*) są powszechnie stosowane w literaturze naukowej i praktyce klinicznej w odniesieniu do tej konkretnej jednostki chorobowej [1–3]. Taką terminologię zastosowano również w niniejszej pracy.

Historia rozwoju wiedzy o SMA stanowi przykład niezwyklego postępu medycyny, jaki dokonał się w ciągu ostatnich 130 lat. Pierwsze opisy dzieci z objawami schorzenia zostały opublikowane pod koniec XIX wieku. W drugiej połowie wieku XX dokonano przełomowych odkryć w dziedzinie diagnostyki biochemicznej, elektrofizjologicznej, histopatologicznej oraz genetycznej SMA, a wiek XXI przyniósł długo oczekiwane możliwości terapeutyczne [4,5].

Przez wiele lat SMA uważano za chorobę wybiórczo uszkadzającą wyłącznie dolny neuron ruchowy i manifestującą się niedowładem kończyn, a w cięższych postaciach także objawami opuszkowymi (dyszartrią i dysfagią) oraz niewydolnością oddechową. Najnowsze badania wskazują, że białko warunkujące przeżycie motoneuronów – SMN (ang. *survival motor neuron*), które jest kodowane przez gen *SMN1*, odgrywa ważną rolę w licznych procesach niezbędnych dla homeostazy i przeżywalności komórki i może ulegać ekspresji w różnych tkankach i narządach. Niedobór tego białka, kluczowy dla patologii SMA, może więc prowadzić także do zaburzeń ogólnoustrojowych [6–10].

W świetle tych odkryć oraz nielicznych doniesień opisujących w SMA zmiany w układzie nerwowym wykraczające poza obwodowy neuron ruchowy [11–15], celowe wydają się pogłębione badania nad strukturalnym i funkcjonalnym zajęciem ośrodkowego układu nerwowego (OUN) w tym schorzeniu. Obok wartości poznawczej, wyniki tych badań mogą mieć również znaczenie kliniczne. Kompleksowa ocena obrazu klinicznego SMA, z uwzględnieniem objawów pozaruchowych może posłużyć odpowiedniemu postępowaniu terapeutycznemu i rehabilitacji, co nabiera szczególnego znaczenia wobec dostępności skutecznego leczenia i wydłużającego się okresu przeżycia chorych.

W tym kontekście w niniejszej pracy podjęto próbę zbadania u chorych na SMA czynności OUN (ze szczególnym uwzględnieniem szlaków aferentnych) przy użyciu czułych i nieinwazyjnych metod elektrofizjologicznych, z odniesieniem do wybranych wskaźników charakteryzujących przebieg choroby.

1.2. Rdzeniowy zanik mięśni

1.2.1. Rys historyczny

Pierwsze przypadki rdzeniowego zaniku mięśni zostały opisane pod koniec XIX wieku [16]. W latach 1891-1894 Guido Werdnig, austriacki lekarz z Grazu opisał dwóch braci z postępującym zanikiem mięśni o wczesnym początku, u których w badaniach autopsyjnych stwierdzono zanik komórek rogów przednich rdzenia kręgowego, i zwrócił uwagę na prawdopodobnie dziedziczny charakter schorzenia [17,18]. Johann Hoffmann, niemiecki neurolog z Heidelbergu opublikował w latach 1893-1900 opisy 7 dzieci z 3 różnych rodzin, z podobnym obrazem klinicznym i anatomopatologicznym, wprowadzając termin „dziedziczny postępujący rdzeniowy zanik mięśni” (niem. *hereditären progressiven spinalen Muskelatrophie*) [19–21]. W pracy z 1897 roku zacytował także opis przypadku dziewczynki, przedstawiony w 1893 roku przez brytyjskich lekarzy Johna Thomsona i Alexandra Bruce’a [22]. Kolejny dobrze udokumentowany przypadek choroby (z analizą wywiadu rodzinnego i diagnostyką różnicową) został opisany przez angielskiego neurologa Charlesa Edwarda Beevora w 1902 roku [23]. Od nazwisk dwóch z powyższych autorów pochodzi nazwa: choroba Werdniga-Hoffmana, używana dla określenia najcięższej postaci schorzenia (wg aktualnej klasyfikacji SMA typu 1).

W 1956 roku szwedzcy neuropatolodzy Eric Kugelberg i Lisa Welander opisali serię 12 przypadków chorych na łagodną postać rdzeniowego zaniku mięśni, u których wykazano zmiany o charakterze neurogenym w zapisie elektromiograficznym oraz w biopsji mięśni. Od ich nazwisk ten łagodny wariant nazwano chorobą Kugelberga-Welander (wg aktualnej klasyfikacji SMA typu 3) [24].

W 1964 roku brytyjski neurolog Victor Dubowitz opisał „pośrednią” formę SMA (wg aktualnej klasyfikacji SMA typu 2) [25] i zwrócił uwagę na różnorodność fenotypową w spektrum choroby, proponując zbliżony do aktualnej klasyfikacji podział SMA na 3 typy kliniczne [26].

Istotną rolę w rozwoju wiedzy nad SMA odegrali również polscy lekarze i naukowcy. W pracach z lat 1966-1968 prof. Irena Hausmanowa-Petrusewicz przedstawiła analizę badań biochemicznych, elektrofizjologicznych i histopatologicznych u chorych na SMA, sugerując że różne formy SMA są wariantami tej samej choroby i mogą mieć wspólne podłoże genetyczne [27,28]. Dalsze badania nad genetycznym podłożem SMA były kontynuowane przez prof. Hausmanową-Petrusewicz m.in. wspólnie z prof. Jackiem Zarembą [29–31], który w 1983 roku sformułował tezę, że wszystkie postaci choroby są uwarunkowane mutacją w tym samym genie [32].

Przełomowego odkrycia lokalizacji genu odpowiedzialnego za patogenezę SMA - w zakresie długiego ramienia chromosomu 5 (5q 11.2-13.3) dokonały w 1990 roku niezależnie dwa zespoły – amerykański (Gilliam i wsp.) i francuski (Melki i wsp.) [33,34]. W 1995 roku ten sam francuski zespół scharakteryzował ten gen i nazwał go „genem przeżycia motoneuronu” (ang. *survival motor neuron, SMN*) [35] oraz opisał jego produkt – białko SMN.

W 1997 roku wykazano, że poziom tego białka koreluje z ciężkością przebiegu SMA [36]. W tym samym roku odkryto również, że białko SMN jest produkowane nie przez jeden, lecz przez dwa „bliźniacze” geny leżące na tym samym chromosomie, początkowo określane jako telomerowy i centromerowy gen *SMN*, a następnie odpowiednio jako geny *SMN1* i *SMN2* [37–39]. W 2002 roku wykazano zależność między liczbą kopii genu *SMN2* a fenotypem SMA [40] [41].

W kolejnych latach prowadzono liczne badania poświęcone analizie genotypowo-fenotypowej SMA. Wśród nich warto wyróżnić prace dotyczące polskiej populacji chorych na SMA, opublikowane przez zespół dr hab. Marii Jędrzejowskiej w latach 2003-2019 [42–46].

W XXI wieku zapoczątkowano badania nad skutecznym leczeniem SMA. W 2001 roku opublikowano pierwsze prace wykazujące możliwość zwiększenia ekspresji białka SMN (poprzez modyfikację alternatywnego *splicingu* genu *SMN2*) za pomocą oligonukleotydów antysensownych oraz tzw. małych cząsteczek (ang. *small molecule*) [47–49]. Badania te zaowocowały powstaniem oligonukleotydu antysensownego, nazwanego później nusinersenem [50], który po fazach badań klinicznych [51,52] został zarejestrowany jako pierwszy na świecie lek do przyczynowej terapii rdzeniowego zaniku mięśni - w 2016 roku przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) [53], a w 2017 roku przez Europejską Agencję Leków (ang. *European Medicines Agency*, EMA) [54]. Drugim lekiem zarejestrowanym z tym wskazaniem był onasemnogen abeparwówek (tzw. "terapia genowa") - w Stanach Zjednoczonych wprowadzony w 2019 roku [55], a w krajach Unii Europejskiej w 2020 roku [56]. Trzecim lekiem wprowadzonym do terapii SMA był rysdyplam, zarejestrowany w Stanach Zjednoczonych w 2020 roku [57], a w krajach Unii Europejskiej w 2021 roku [58].

W Polsce refundowana terapia SMA w ramach Programu Lekowego (B102.FM) jest dostępna od 2019 roku (od września 2022 roku obejmuje wszystkie wymienione leki) [59]. W latach 2021-2022 w Polsce wprowadzono program badań przesiewowych u noworodków w kierunku SMA [60].

1.2.2. Epidemiologia

Największe dotychczas badanie dotyczące epidemiologii SMA zostało opublikowane w 2012 roku. Na podstawie analizy DNA próbek krwi pochodzącej od ponad 72 400 osób ze Stanów Zjednoczonych określono częstość występowania SMA na 1:11 000, a częstość nosicielstwa patogenicznej mutacji w genie *SMN1* na 1:54. W badaniu tym zaobserwowano także różnice między grupami etnicznymi: najwyższą częstość nosicielstwa mutacji w genie *SMN1* stwierdzono u osób rasy kaukaskiej (1:47), a najniższą - u osób rasy afroamerykańskiej (1:72) [61]. Według danych z rejestru krajów europejskich opublikowanych w 2017 roku częstość występowania SMA oszacowano na 11,9:100 000 urodzeń (ok. 1:8400) [62]. Natomiast w Polsce (według dotychczasowych danych uzyskanych z badań przesiewowych noworodków) wskaźnik ten wynosi ok. 1:7000. Na podstawie rejestru chorób nerwowo-mięśniowych

(prowadzonego przez Klinikę Neurologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w ramach programu TREAT-NMD) oraz danych NFZ szacuje się, że w Polsce żyje aktualnie ok. 1200 chorych z SMA, w tym ok. połowę stanowią osoby dorosłe [63]. Wzrastające wskaźniki częstości występowania SMA wynikają z coraz większej wiedzy i świadomości na temat choroby, a także jej lepszej rozpoznawalności zarówno w okresie niemowlęcym (badania przesiewowe noworodków), jak i w wieku dorosłym. Dostępność terapii modyfikujących przebieg choroby oraz poprawa standardów opieki sprzyjają z kolei wydłużeniu życia chorych na SMA, szczególnie tych z postaciami o niekorzystnym rokowaniu.

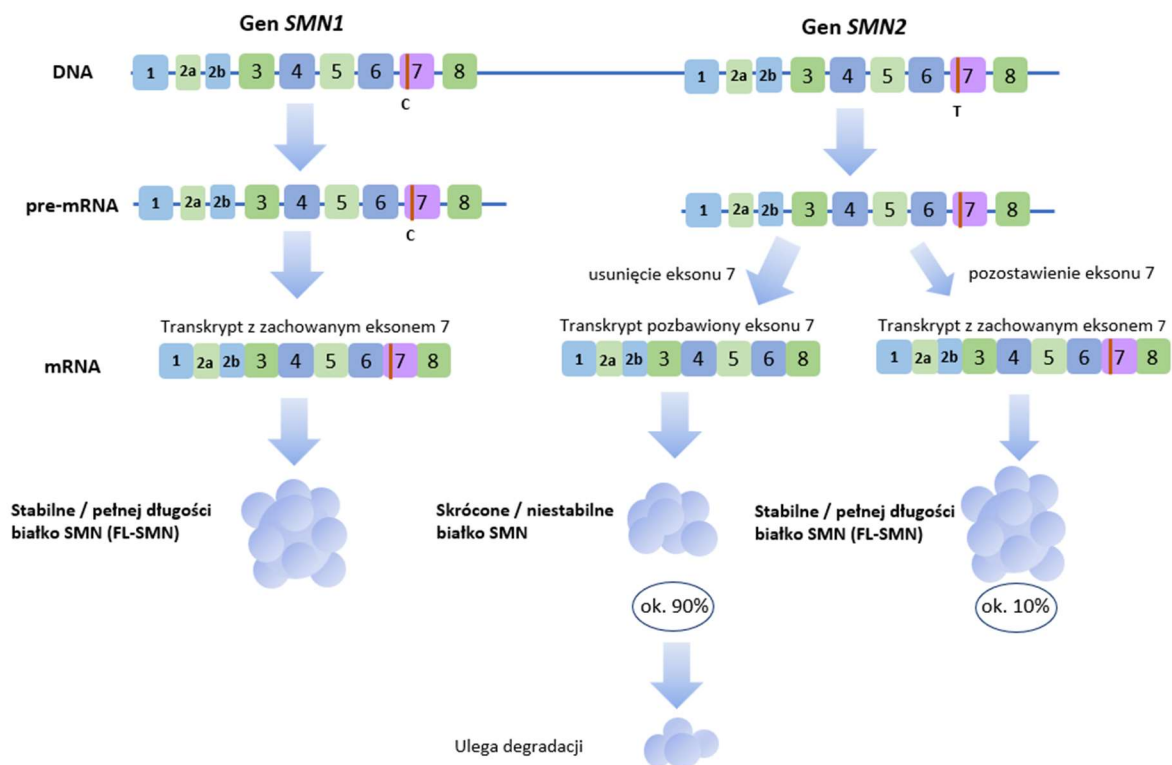
1.2.3. Etiologia

1.2.3.1. Podłoże genetyczne

Rdzeniowy zanik mięśni jest spowodowany mutacją w zakresie *SMN1* - jednego z dwóch „bliźniaczych” genów zlokalizowanych na ramieniu długim chromosomu 5 (5q11.1–13.3) [2,37,64]. Geny *SMN1* i *SMN2* składają się z dziewięciu eksonów i mają prawie identyczną sekwencję nukleotydową. Różnią się one jedynie pięcioma przestawieniami nukleotydowymi, spośród których najbardziej istotna jest substytucja C na T w eksonie 7 (c.840 C>T) w genie *SMN2* [65]. W wyniku transkrypcji i translacji genu *SMN1* dochodzi do powstania pełnowartościowego (stabilnego) białka SMN, które determinuje przeżycie motoneuronów w rdzeniu kręgowym [36]. Natomiast transkrypt genu *SMN2*, w wyniku opisanej zmiany nukleotydów jest w większości pozbawiony eksonu 7, co powoduje powstanie na jego bazie niestabilnego (szybko ulegającego degradacji) białka SMN Δ 7 [64,66,67]. Pozostała, niewielka część transkryptu genu *SMN2* zachowuje ekson 7, w związku z tym z każdej kopii tego genu powstaje ok. 10% prawidłowego białka SMN [68] (ryc. 1).

W wyniku mutacji genu *SMN1* dochodzi do utraty jego funkcji i w konsekwencji do istotnego niedoboru białka SMN, co prowadzi m.in. do degeneracji komórek alfa rogów przednich rdzenia kręgowego – zasadniczego patomechanizmu SMA [36].

Rycina 1. Ekspresja genów *SMN1* i *SMN2* (na podstawie [69], modyfikacja własna)



W przeważającej większości (ok. 96%) przypadków SMA stwierdza się homozygotyczną (bialleliczną) delecję eksonu 7 i 8 (lub tylko eksonu 7) w genie *SMN1* [69,70]. W pozostałych, nielicznych przypadkach delecja tego eksonu występuje przeważnie w układzie heterozygotycznym z różnorodnymi mutacjami punktowymi *SMN1* (niezwykle rzadko stwierdza się bialleliczne mutacje punktowe) [62,69,71,72]. Mutacje w genie *SMN2* nie są patogenne i mogą występować u około 10% zdrowej populacji [43,73]. Natomiast wobec mutacji *SMN1*, liczba kopii genu *SMN2* jest uważana za najważniejszy czynnik wpływający na fenotyp SMA. Wielokrotnie wykazano, że większa liczba kopii genu *SMN2* sprzyja łagodniejszemu przebiegowi choroby, co jest najprawdopodobniej związane ze zwiększoną ilością białka SMN w tkankach [40,41,74–76]. W dużym badaniu kohortowym zaobserwowano zależność między klinicznymi typami SMA a liczbą kopii *SMN2*: większość pacjentów z najcięższą postacią choroby (SMA typu 1) miała 1 lub 2 kopie genu, z postacią pośrednią (SMA typu 2) - 3 kopie, a z postacią łagodną (SMA typu 3) - 3 lub 4 kopie [72]. Opisywano jednak także wyjątki od tej reguły (np. 3 kopie u chorych z SMA typu 1 lub 1 kopia w przypadku SMA typu 3), co wskazuje na udział innych czynników w kształtowaniu fenotypu choroby [72,77]. U chorych z łagodniejszą postacią SMA pomimo małej liczby kopii *SMN2* stwierdzano m.in. zmianę nukleotydomową c.859G>C w eksonie 7 oraz niższy stopień metylacji tego genu, co powoduje zwiększenie ilości powstającego na jego bazie pełnowartościowego białka SMN [77–79]. Sugerowano także modyfikujący wpływ na fenotyp SMA takich czynników, jak plastyna 3 kodowana przez gen *PLS3* na chromosomie X (opisano wzrost jej ekspresji u bezobjawowych nosicieli mutacji *SMN1*) i neurokalcyna delta (NCALD) (kilkakrotnie niższy poziom u bezobjawowych członków rodziny obciążonej mutacją) [80–82].

1.2.3.2. Budowa białka SMN i jego funkcje

Od czasu odkrycia patogenezы SMA białko SMN stało się przedmiotem zainteresowań wielu badaczy, co doprowadziło do szczegółowego poznania jego struktury oraz funkcji na poziomie molekularnym [6,83].

Ze względu na zróżnicowany przebieg *splicingu*, białko SMN może występować w kilku izoformach, wśród których wyróżnia się 5 podstawowych: pełnej długości (określana jako SMN lub full-length - FL-SMN; najważniejsza i najlepiej poznana, zawierająca eksony: 1, 2a, 2b, 3, 4, 5, 6, 7, 8), aksonalna (a-SMN, zawierająca dodatkowo intron 3), SMN Δ 7 (pozbawiona eksonu 7), SMN6B (zawierająca dodatkowo ekson 6B) i SMN Δ 5 (pozbawiona eksonu 5) [6].

Białko SMN ma ciężar 38kDA i składa się z 294 aminokwasów [4]. Jest podzielone na kilka domen, pełniących określone funkcje (np. wiązanie z innymi białkami lub kwasami nukleinowymi) [36]. Wśród nich warto wyróżnić domenę kasety-YG, która odpowiada m.in. za łączenie się cząsteczek SMN w oligomery, zapewniające stabilność białka [6,84]. Izofорма SMN Δ 7 o znacznie zmniejszonej zdolności do oligomeryzacji jest niestabilna i ulega szybkiej degradacji [85–87]. Z kolei izoformy a-SMN i SMN6B z powodu przedwczesnego występowania kodonu „stop” w mRNA mają charakter skrócony. Sugeruje się że SMN6B jest bardziej trwałe od SMN Δ 7 i pełni podobną funkcję co pełnowartościowe białko SMN, natomiast a-SMN prawdopodobnie bierze udział w aksonogenezie [88–90]. Izofорма SMN Δ 5 jest również skróconą formą białka SMN, której ekspresję wykazano w mięśniach i ośrodkowym układzie nerwowym, jednak jej funkcja pozostaje mało poznana [6,91].

Białko SMN poprzez połączenie z ośmioma innymi białkami: geminami oraz tzw. białkiem unrip (ang. *unr-interacting protein*) tworzy złożony kompleks białka SMN (ang. *SMN complex*) [92–94]. Kompleksy te występują w cytoplazmie oraz jądrze komórkowym [95]. Struktura tego kompleksu poprawia stabilność białka SMN i umożliwia interakcję z innymi białkami, odgrywając istotną rolę w wielu procesach komórkowych [6,83,86].

Najlepiej poznaną funkcją SMN jest udział w metabolizmie RNA poprzez tworzenie kompleksów snRNP (ang. *small nuclear ribonucleoproteins*, małe/niskocząsteczkowe jądrowe rybonukleoproteiny) oraz snoRNP (ang. *small nucleolar ribonucleoproteins*, małe/niskocząsteczkowe jąderkowe rybonukleoproteiny), niezbędnych w procesie *splicingu* i posttranskrypcyjnej modyfikacji RNA [83,96,97]. Białko SMN bierze również udział w regulacji procesów transkrypcji i translacji oraz naprawy DNA, a także w procesach endocytozy i autofagii, degradacji uszkodzonych białek (poprzez układ ubikwityna-proteasom), szlakach sygnałowych, dynamice cytoszkieletu oraz utrzymaniu homeostazy mitochondrialnej [6,83]. Jego wielokierunkowe działanie i rola w funkcjonowaniu środowiska komórkowego pozostaje przedmiotem dalszych badań.

1.2.4. Klasyfikacja, obraz kliniczny i przebieg naturalny choroby

Objawy SMA są związane przede wszystkim z postępującym zwyrodnieniem motoneuronów alfa w rdzeniu kręgowym oraz jąder ruchowych nerwów opuszkowych. W następstwie uszkodzenia obwodowego (dolnego) neuronu ruchowego dochodzi do postępującego zaniku i osłabienia mięśni [98,99]. Objawy te dotyczą głównie mięśni kończyn, są zazwyczaj symetryczne i przeważają w odcinkach proksymalnych oraz w kończynach dolnych. W mięśniach objętych zanikiem mogą występować drżenia pęczkowe (fascykulacje). Napięcie mięśniowe jest zwykle obniżone, a odruchy głębokie osłabione lub nieobecne. Zażycie nerwów opuszkowych może powodować osłabienie języka, utrudnione ssanie i połykanie; z kolei uszkodzenie motoneuronów zaopatrujących mięśnie międzyżebrowe i przeponę może prowadzić do postępującej niewydolności oddechowej [4,100,101]. Skolioza spowodowana osłabieniem mięśni osiowych jest jednym z najważniejszych powikłań choroby [102].

Klasyfikacja z 1992 roku opracowana przez Międzynarodowe Konsorcjum SMA wyróżniała trzy główne formy kliniczne choroby (SMA typu 1, SMA typu 2, SMA typu 3) oparte na dwóch podstawowych kryteriach: wieku wystąpienia pierwszych objawów choroby oraz stopniu maksymalnego rozwoju ruchowego [103]. Nowa wersja klasyfikacji obejmuje dodatkowo najcięższą postać SMA typu 0 oraz najłagodniejszą – SMA typu 4 [104,105] (tab. 1).

Tabela 1. Klasyfikacja SMA z uwzględnieniem przewidywanego okresu przeżycia (bez leczenia) i najczęściej występującej liczby kopii genu *SMN2* (na podstawie [100,105–107])

Typ SMA	Wiek wystąpienia objawów	Maksymalny rozwój ruchowy	Przewidywany okres przeżycia (bez leczenia)	Liczba kopii genu <i>SMN2</i>
SMA 0	Okres prenatalny	Prawie całkowity brak ruchów czynnych i aktywności oddechowej	poniżej 1 miesiąca (maksymalnie do 6 miesięcy)	1 lub 2
SMA 1	0 – 6 miesięcy	Nie siedzi samodzielnie	Kilka miesięcy (mediana: ok. 10 miesięcy), w wyjątkowych przypadkach dłużej	1 lub 2
SMA 2	7 – 18 miesięcy	Siedzi samodzielnie	Często wieloletni (mediana: > 20 lat)	3
SMA 3	Powyżej 18 miesięcy	Chodzi bez pomocy	Podobny jak w populacji	3 lub 4
SMA 3a	18 – 36 miesięcy	Chodzi bez pomocy	Podobny jak w populacji	3 lub 4
SMA 3b	Powyżej 36 miesięcy	Chodzi bez pomocy	Podobny jak w populacji	3 lub 4
SMA 4	Powyżej 18 lat	Chodzi bez pomocy	Podobny jak w populacji	3, 4 lub więcej (maksymalnie 6)

SMA typu 0 jest rzadką postacią choroby o najbardziej niepomyślnym rokowaniu. W okresie prenatalnym można zaobserwować osłabione ruchy płodu. Po urodzeniu dziecko jest wiotkie, bez odruchów głębokich, ma minimalny zakres ruchów czynnych, z zaburzeniami ssania i połykania oraz osłabieniem mięśni twarzy. W ciągu pierwszych minut lub godzin życia pojawia się niewydolność oddechowa, której narastanie jest przyczyną zgonu. Mogą wystąpić wrodzone wady serca [106–108].

SMA typu 1 jest ciężką postacią choroby o wczesnym początku. Objawy pod postacią wiotkiego napięcia mięśniowego, uogólnionego niedowładu oraz zniesienia odruchów głębokich są stwierdzane zwykle przed 6 miesiącem życia. Niemowlęta mają trudności w samodzielnym kontrolowaniu ruchów głowy oraz nie są w stanie samodzielnie siadać. Ponadto może pojawiać się osłabienie mięśni języka, gardła i krtani oraz trudności w przełykaniu, a z czasem rozwija się niewydolność oddechowa [1,52]. W przebiegu choroby często rozwija się skolioza [102]. Mogą występować również zaburzenia rytmu i wrodzone wady serca [109].

SMA typu 2 jest określaną jako pośrednia postać choroby. Objawy zwykle pojawiają się ok. 7-18 miesiąca życia. Dzieci są w stanie samodzielnie siadać, ale nie uzyskują zdolności samodzielnego chodzenia. U chorych występuje wiotki niedowład czterokończynowy z przewagą w kończynach dolnych oraz zanik i niedowład mięśni tułowia. W późniejszych latach często dochodzi do rozwoju przykurczów w stawach oraz znacznego stopnia skoliozy, która w połączeniu z osłabieniem mięśni oddechowych prowadzi do restrykcyjnej choroby płuc i niewydolności oddechowej [1,100].

SMA typu 3 to łagodna postać choroby. Pierwsze objawy (niedowład kończyn) pojawiają się zwykle po 18 miesiącu życia (SMA typu 3a – między 18 a 36 miesiącem, SMA typu 3b - powyżej 36 miesiąca). Pacjenci zazwyczaj są w stanie samodzielnie chodzić, choć u części z nich postępujący niedowład i zanik mięśni powoduje zaburzenia chodu i konieczność korzystania ze sprzętów pomocniczych. Wśród pacjentów, którzy tracą zdolność do samodzielnego poruszania się, częściej rozwija się skolioza, a także otyłość i osteoporoza [1,100,110]. Zaburzenia oddychania występują rzadko [111].

SMA typu 4 jest najrzadszą (< 5%) i najłagodniejszą postacią choroby o początku w wieku dorosłym (nawet po 30 roku życia). Obraz kliniczny może być zbliżony do SMA typu 3. U chorych obserwuje się zwykle powoli postępujący niedowład mięśni proksymalnych kończyn dolnych powodujący zaburzenia chodu o niewielkim nasileniu. Skolioza jest zwykle łagodna, a funkcje oddechowe pozostają prawidłowe [1,5,100].

W celu ilościowej oceny stopnia deficytu neurologicznego u pacjentów z SMA (i jego monitorowania w przebiegu choroby) opracowano kilka skal funkcjonalnych, które określają zakres wykonania szeregu czynności ruchowych: CHOP-INTEND (ang. *The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders*), HFMSE (ang. *Hammersmith Functional Motor Scale Expanded*) oraz HINE (ang. *Hammersmith Infant Neurological Examination*) [112–114]. Skale te przeznaczone są dla różnych grup chorych w zależności od stopnia sprawności ruchowej. W przypadku podejrzenia niewydolności oddechowej

obiektywny wskaźnik niewydolności oddechowej mogą stanowić parametry spirometryczne, kapnografia oraz badanie wydolności oddechowej w czasie snu (polisomnografia), a w zaawansowanym stadium – czas i częstotliwość stosowania wentylacji wspomaganej [115].

Naturalny przebieg SMA ma charakter postępujący, z tempem narastania objawów zależnym od typu choroby. Różnice między typami SMA dotyczą także rokowania odnośnie długości życia (SMA typu 1: do 30% chorych przeżywa powyżej 20 lat; SMA typu 2: 77-92% powyżej 20 lat i ok. 52% powyżej 40 lat) [116].

Pomimo powszechnego stosowania powyższej klasyfikacji SMA w opracowaniach naukowych i praktyce klinicznej, należy podkreślić, że stopniowo traci ona na aktualności w kontekście postępu wiedzy o podłożu choroby oraz możliwości diagnostycznych i terapeutycznych i bywa określana jako „klasyfikacja historyczna” [63,99].

Wprowadzenie powszechnych przesiewowych badań genetycznych noworodków w kierunku SMA pozwala na rozpoznanie choroby w okresie subklinicznym (przed wystąpieniem pierwszych objawów). Przede wszystkim zaś dostępne obecnie terapie modyfikujące przebieg SMA mogą w zasadniczy sposób wpłynąć na rozwój obrazu klinicznego i poprawę rokowania. Wyniki badań obserwacyjnych w ciągu kolejnych lat mogą więc dostarczyć przesłanek do opracowania nowej, zmodyfikowanej klasyfikacji SMA.

1.2.5. Diagnostyka

1.2.5.1. Badanie genetyczne

Podstawę rozpoznania SMA stanowi badanie genetyczne. Zgodnie z aktualnymi rekomendacjami, oprócz potwierdzenia mutacji w obu kopiach genu *SMN1* (rozdział 1.2.3.1) zalecane jest również określenie liczby kopii genu *SMN2* ze względu na wartość predykcyjną w odniesieniu do przebiegu choroby [117].

Standardowe metody analizy ilościowej genów *SMN1* i *SMN2* obejmują: MLPA (ang. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), qPCR (ang. *quantitative polymerase chain reaction*) lub NGS (ang. *next generation sequencing*) [40,117–119]. Homozygotyczna delecja w genie *SMN1* może być również zidentyfikowana za pomocą szybszego i łatwiej dostępnego testu PCR-RFLP (ang. *Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism*), który nie pozwala jednak na ilościowe oznaczenie liczby kopii genów *SMN1* i *SMN2* [117,120].

W praktyce klinicznej najczęściej wykorzystuje się testy MLPA lub qPCR pozwalające na wykrycie delecji eksonu 7 i 8 w genie *SMN1*. Stwierdzenie delecji w obu kopiach genu *SMN1* umożliwia rozpoznanie SMA. Jeśli badanie genetyczne u osoby z objawami klinicznymi sugerującymi SMA nie wykaże delecji w żadnej kopii genu *SMN1* lub wykaże ją tylko w jednej kopii tego genu, należy wykonać dodatkowo sekwencjonowanie genu *SMN1* celem poszukiwania rzadszych mutacji (mutacji punktowych) [117].

Aktualnie kluczową rolę w diagnostyce SMA odgrywają badania przesiewowe noworodków, które dają szansę na rozpoczęcie leczenia choroby w stadium bezobjawowym

[121]. Badanie przesiewowe jest najczęściej oparte na metodzie PCR (PCR-RFLP), która umożliwia jedynie identyfikację homozygotycznej delecji eksonu 7 w genie *SMN1*. Wynik badania testu przesiewowego jest weryfikowany następnie metodą MLPA [63,122,123]. W związku z tym należy podkreślić, że badania przesiewowe aktualnie nie pozwalają na rozpoznanie SMA u chorych z innymi mutacjami niż homozygotyczna delecja w eksonie 7 genu *SMN1*. Zatem w przypadku chorego z objawami SMA i ujemnym wynikiem badania przesiewowego należy pogłębić diagnostykę genetyczną (jw.) [122].

Badania przesiewowe są realizowane już w większości krajów Europy, a także m.in. w Stanach Zjednoczonych, niektórych regionach Kanady, Australii i Japonii [124]. W Polsce badania genetyczne w kierunku SMA są wykonywane u wszystkich noworodków od marca 2022 roku [60,63]. Wynik badania genetycznego powinien być przekazany rodzicom dziecka (lub samemu choremu w przypadku diagnostyki w wieku dorosłym) wraz z odpowiednią informacją na temat choroby i dostępnych opcji terapeutycznych, a także z zapewnieniem odpowiedniego wsparcia psychologicznego [117].

1.2.5.2. Elektromiografia

W przeszłości istotną rolę w rozpoznaniu SMA pełniły również badanie elektromiograficzne (EMG) i biopsja mięśnia (obecnie praktycznie już nie stosowana). Aktualnie EMG może być badaniem przydatnym w diagnostyce różnicowej postaci SMA o późnym początku, z nietypowym obrazem klinicznym lub w przypadku ujemnego wyniku badania genetycznego [117]. Zapis EMG wykazuje cechy uszkodzenia dolnego neuronu ruchowego w postaci obecności obfitej czynności spoczynkowej (fibrylacje i fascykulacje) oraz zmniejszenia gęstości zapisu w czasie wykonywania skurczu maksymalnego, ponadto stwierdza się wzrost amplitudy, czasu trwania i pola pojedynczych potencjałów czynnościowych jednostek ruchowych (ang. *motor unit action potential*, MUAP) [125,126].

1.2.5.3. Badania laboratoryjne

Nie ustalono dotąd specyficznych dla SMA biomarkerów, które można by oznaczyć w płynach ustrojowych. Za wskaźniki stopnia uszkodzenia i zaniku mięśni w przebiegu choroby mogą być uznawane: aktywność kinazy kreatynowej (CK) i poziom kreatyniny. Poziom CK w surowicy chorych z SMA może być prawidłowy, częściej jednak jest podwyższony (niekiedy nawet 10-krotnie). Poziom kreatyniny w surowicy jest zwykle obniżony [127,128]. Obiecującymi biomarkerami aktywności choroby mogą być stężenia łańcuchów lekkich neurofilamentów (ang. *neurofilament light protein*, NfL) oraz łańcuchy ciężkie fosforylowanych neurofilamentów (ang. *phosphorylated neurofilament heavy chain*, pNF-H) oznaczane w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym [129,130].

1.2.6. Leczenie

W ostatnich latach dokonano przełomu w leczeniu SMA (rozdz. 2.1.), wprowadzając nowoczesne terapie modyfikujące przebieg choroby. Jednocześnie rekomendacje podkreślają konieczność objęcia pacjentów kompleksowym leczeniem wspomagającym [99,115,117].

1.2.6.1. Leczenie farmakologiczne

Aktualnie zarejestrowane ze wskazaniem do terapii SMA są 3 leki modyfikujące przebieg choroby: nusinersen, onasemnogen abeparwówek i rysdyplam. Wszystkie te leki są dostępne i refundowane w Polsce (z pewnymi ograniczeniami w stosunku do ich charakterystyki rejestracyjnej) w ramach Programu Lekowego B102.FM [59].

- **Nusinersen**

Nusinersen (Spinraza ®) jest oligonukleotydem antysensownym, który modyfikuje splicing mRNA genu *SMN2* w celu zwiększenia produkcji funkcjonalnego białka SMN o pełnej długości [131,132]. Nusinersen jest podawany bezpośrednio do płynu-mózgowo-rdzeniowego (dooponowo, poprzez nakłucie lędźwiowe), ponieważ nie przechodzi przez barierę krew-mózg [132,133]. Lek podaje się w dawce 12 mg (5ml) według schematu: 4 dawki nasycające w dniach 0, 14, 28 oraz 63, a następnie dawki podtrzymujące raz na 4 miesiące [132]. W badaniach klinicznych wykazano skuteczność i dobry profil bezpieczeństwa zarówno u objawowych pacjentów z SMA jak i przedobjawowych niemowląt z potwierdzoną homozygotyczną mutacją genu *SMN1*. We wszystkich grupach chorych wykazano podczas terapii poprawę sprawności ruchowej (ocenioną za pomocą odpowiedniej skali funkcjonalnej). Ponadto u dzieci (leczonych zarówno w stadium objawowym, jak i bezobjawowym) stwierdzono poprawę wskaźników przeżywalności oraz osiąganie kamieni milowych rozwoju ruchowego niedostępnych w naturalnym przebiegu choroby [52,134–138]. Najczęściej obserwowanymi działaniami niepożądanymi nusinersenu, związanymi z drogą podania leku, były: ból głowy, wymioty i ból pleców [132]. Nakłucie lędźwiowe w celu podania leku bywa utrudnione u chorych z zaawansowaną skoliozą; pomocne w tych przypadkach może być wykorzystanie badania obrazowego (tomografii komputerowej, RTG lub USG) [139,140]. Lek jest zarejestrowany do użycia u wszystkich chorych na SMA, niezależnie od wieku i liczby kopii genu *SMN2* [54,132].

- **Onasemnogen abeparwówek**

Onasemnogen abeparwówek (Zolgensma ®) jest lekiem zaliczanym do tzw. terapii genowych. Mechanizm jego działania polega na dostarczeniu do komórek transdukowanej funkcjonalnej kopii genu *SMN1*, za pomocą rekombinowanego i niepatogennego wektora wirusowego - AAV9 (ang. *adeno-associated virus serotype 9 based vector*). Zbyt wysokie miano przeciwciał przeciwko AAV9 (oznaczane obligatoryjnie przed kwalifikacją do terapii) stanowi przeciwwskazanie do podania leku. Lek przechodzi przez barierę krew- mózg i jest podawany w pojedynczej dawce we wlewie dożylnym [141,142]. W badaniach klinicznych

wykazano skuteczność i dobry profil bezpieczeństwa zarówno u dzieci z SMA leczonych w stadium objawowym, jak i bezobjawowych noworodków. W wyniku terapii uzyskano lepsze wskaźniki przeżywalności oraz poprawę funkcji motorycznych (w postaci osiągnięcia kamieni milowych rozwoju ruchowego oraz lepszych ocen w skalach funkcjonalnych). Do najczęstszych działań niepożądanych związanych z terapią zaliczono: zaburzenia funkcji wątroby, wymioty i trombocytopenię. Obserwowano ponadto u części pacjentów ostrą niewydolność oddechową, zapalenie oskrzeli lub płuc oraz odwodnienie, potraktowane jednak jako następstwa choroby, a nie efekty niepożądane leku [143–147]. Ze względu na specyfikę terapii genowej i mechanizm jej działania, FDA zatwierdziła stosowanie onasemnogen abeparwówek u dzieci w wieku poniżej 2 lat, a EMA - u pacjentów o masie ciała od 2,6 do 21 kg [55,148]. Według stanowiska europejskich ekspertów, najlepszy poziom skuteczności i bezpieczeństwa leku wykazano i udokumentowano u chorych w wieku poniżej 6 miesiąca życia i masie ciała poniżej 8,4 kg [149].

- **Rysdyplam**

Rysdyplam (Evrysdi®) należy do tzw. małych cząsteczek. Mechanizm działania leku, podobnie jak w przypadku nusinersenu, polega na modyfikacji *splicingu* mRNA genu *SMN2* w celu zwiększenia produkcji funkcjonalnego białka SMN o pełnej długości. Lek przechodzi przez barierę krew-mózg i jest podawany doustnie (w formie syropu) raz na dobę, w dawce zależnej od wieku i masy ciała [150,151]. Badania kliniczne, przeprowadzone w szerokiej populacji chorych z różnymi typami SMA, potwierdziły skuteczność i dobry profil bezpieczeństwa we wszystkich badanych grupach. U pacjentów z SMA typu 1 wykazano lepsze wskaźniki przeżywalności i poprawę sprawności motorycznej; u chorych z SMA typu 2 i 3 stwierdzono poprawę funkcji motorycznych oraz zwiększoną produkcję białka SMN. Wstępne wyniki pozostających w toku badań u przedobjawowych dzieci z SMA wskazują na możliwość osiągnięcia przez nie kamieni milowych rozwoju motorycznego porównywalnego z normami dla zdrowych dzieci. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi obserwowanymi podczas terapii były: gorączka, wysypka, biegunka i ból głowy [152–156]. Rysdyplam jest zarejestrowany do stosowania u pacjentów z rozpoznaniem SMA typu 1, 2 lub 3, posiadających od 1 do 4 kopii genu *SMN2*, niezależnie od wieku [58,151]. Ze względu na doustną postać oraz szerokie wskazania rejestracyjne, rysdyplam może być zastosowany u chorych nie zakwalifikowanych lub mających przeciwwskazania do pozostałych terapii [157].

1.2.6.2. Leczenie wspomagające i opieka interdyscyplinarna

Objawy i następstwa SMA wymagają kompleksowego postępowania terapeutycznego z udziałem wielodyscyplinarnego zespołu, obejmującego lekarzy specjalistów (neurolog, ortopeda, anestezjolog), fizjoterapeutów, psychologów, dietetyków i personel pielęgniarski [115,117].

- **Rehabilitacja i opieka ortopedyczna**

Równoległe do leczenia farmakologicznego niezbędne jest stosowanie regularnej rehabilitacji, która ma na celu zachowanie stopniowo pogarszającej się siły mięśniowej, utrzymanie odpowiedniego zakresu ruchu w stawach i korygowanie postawy oraz zapobieganie deformacji układu kostno-szkieletowego. Rodzaj ćwiczeń i stosowanego sprzętu wspomagającego poruszanie się powinny być dostosowane indywidualnie do stanu pacjenta, a program rehabilitacji – opracowany i monitorowany przez wyspecjalizowanego w tej dziedzinie fizjoterapeutę [117].

W odniesieniu do układu kostno-stawowego, szczególnej uwagi wymaga kontrolna kliniczna i radiologiczna ocena kręgosłupa pod kątem skoliozy (korygowanej za pomocą rehabilitacji, a w razie potrzeby – zabiegu operacyjnego), a także kontrola zniekształceń klatki piersiowej (mogących wpływać na pogorszenie funkcji oddechowych), niestabilności lub przykurczu w stawach (m.in. biodrowych). Należy również pamiętać o zwiększonym ryzyku urazów i złamań kości, które wymagają odpowiedniego zaopatrzenia [117].

- **Opieka żywieniowa**

Ze względu na możliwość wystąpienia zespołu opuszkowego, chorzy na SMA wymagają regularnej kontroli funkcji przełykania oraz stanu odżywienia. W przypadku narastania dysfagii należy prowadzić żywienie z wykorzystaniem sondy nosowo-żołądkowej, a następnie gastrostomii. Indywidualnie dobrana dieta powinna zapewniać odpowiednią podaż kaloryczną, nawodnienie oraz poziom makro i mikroelementów (ze szczególnym uwzględnieniem wapnia i witaminy D) [115].

- **Ocena funkcji układu oddechowego, leczenie niewydolności oddechowej, profilaktyka infekcji**

Regularna ocena czynności układu oddechowego u chorych na SMA powinna obejmować badanie fizykalne, ocenę refluksu żołądkowo-przełykowego oraz efektywności kaszlu, a w razie pogłębiania się dysfunkcji oddechowej – dodatkowe metody jej monitorowania (m.in. pulsoksymetrię, kapnografię, spirometrię). W przypadku stwierdzenia niewydolności oddechowej zaleca się w pierwszej kolejności stosowanie wentylacji nieinwazyjnej z urządzeniami zmiennociśnieniowymi/dwufazowymi [115]. Konieczne jest zapewnienie odpowiedniego sprzętu do usuwania nadmiernej ilości wydzieliny z dróg oddechowych.

W profilaktyce infekcji (przede wszystkim dotyczących układu oddechowego) podkreśla się znaczenie szczepień ochronnych, zgodnie z obowiązującym kalendarzem i aktualnymi rekomendacjami epidemiologicznymi (np. przeciw grypie i SARS-CoV-2). U dzieci do 24 miesiąca życia zaleca się również stosowanie paliwizumabu w okresach podwyższonego ryzyka zakażenia RSV [63,115,158].

- **Postępowanie w stanach nagłych i opieka paliatywna**

Opieka nad chorymi na SMA, także w przypadku ciężkich postaci choroby z zaburzeniami połykania i niewydolnością oddechową, może być prowadzona w warunkach domowych przy zapewnieniu odpowiedniego sprzętu wspomagającego i przeszkoleniu opiekunów w zakresie monitorowania i prewencji. Nagłe pogorszenie stanu chorego (np. w wyniku infekcji lub narastania niewydolności oddechowej) stanowi wskazanie do hospitalizacji w odpowiednim ośrodku. Zalecane jest podjęcie wszelkich niezbędnych działań w celu poprawy jakości życia chorych, z poszanowaniem autonomii pacjenta i jego rodziny [115]. Perspektywa opieki paliatywnej w SMA ulega obecnie znaczącej zmianie w kontekście nowych terapii poprawiających rokowanie u chorych.

- **Opieka specjalistyczna w przypadku stwierdzenia nieprawidłowości ze strony innych narządów**

Wyniki badań nad molekularnym podłożem SMA oraz obserwacje z praktyki klinicznej dotyczące terapii skłaniają ponadto do poszerzania diagnostyki i prewencji w odniesieniu do innych narządów i układów, do zajęcia których może dojść w przebiegu choroby [8,9,115].

1.3. Rdzeniowy zanik mięśni jako choroba ogólnoustrojowa

W ostatnich latach prowadzono wielokierunkowe badania dotyczące roli i ekspresji białka SMN w odniesieniu do manifestacji klinicznej rdzeniowego zaniku mięśni, zarówno na modelach zwierzęcych, jak i w grupach chorych z różnymi typami SMA. Wyniki tych badań wskazują, że SMA nie polega tylko na wybiórczym uszkodzeniu neuronu ruchowego, ale można go uznać za chorobę ogólnoustrojową [8–10].

1.3.1. Znaczenie i ekspresja białka SMN

Białko SMN, obecne w jądrze komórkowym i cytoplazmie, pełni ważną rolę w wielu procesach komórkowych (rozdział 1.2.3.2) [83,93]. Ekspresję tego białka wykazano we wszystkich typach komórek zwierzęcych [83], a jego homologiczne formy - również w niektórych typach grzybów [159].

Na podstawie badań na modelach zwierzęcych (posiadających tylko jeden gen *SMN* - ekwiwalent *SMN1*) stwierdzono, że brak białka SMN jest cechą letalną, a czas przeżycia zależy od poziomu tego białka pochodzącego od matki [160–162]. Zaobserwowano, że utrata funkcji genu *SMN* u myszy powoduje obumarcie zarodka [161], a u owadów z gatunku *Drosophila* - śmierć organizmów potomnych niedługo po urodzeniu (po utracie ochronnej roli matczynego białka SMN) [162]. Wykazano również, że usunięcie białka SMN z żywej tkanki zwierzęcej prowadzi do jej zmian martwiczych [163–165].

U człowieka ekspresja białka SMN zachodzi w dwóch genach – *SMN1* i *SMN2* (rozdział 1.2.3.1) [37–39]. Gen *SMN2* jest unikalny dla człowieka i produkuje niewielką ilość stabilnego białka SMN, która nie jest w stanie w pełni skompensować jego niedoboru u chorych na SMA, jednak ma działanie ochronne i wpływa na przeżycie chorych [67,68,74,166]. Wprowadzenie ludzkiego genu *SMN2* do transgenicznego modelu myszy z mutacją genu *SMN* wyeliminowało ich śmiertelność na etapie embrionalnym i doprowadziło do urodzenia zwierząt o fenotypie przypominającym SMA [39].

U płodów ludzkich nie obciążonych mutacją, ekspresję białka SMN wykazano pomiędzy 5 a 10 tygodniem życia w tkankach pochodzących: z serca, śledziony, płuc, wątroby i nerek [167]. W tkankach zdrowych osób dorosłych największą ekspresję białka SMN oprócz rdzenia kręgowego i mózgu, stwierdzono w nerkach i wątrobie; umiarkowany jej poziom - w mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym, a niski - w fibroblastach i limfocytach [38].

U chorych na SMA, redukcja poziomu białka SMN (nawet 100-krotna) w porównaniu z osobami zdrowymi dotyczyła przede wszystkim rdzenia kręgowego [38]. Wykazano jednak obniżoną ekspresję białka SMN także w mięśniach szkieletowych, krwi i fibroblastach zarówno w tkankach płodów, jak i dzieci oraz dorosłych chorych na SMA [38,168–171].

1.3.2. Ogólnoustrojowe objawy SMA

Na modelach zwierzęcych SMA oraz u osób z tym schorzeniem stwierdzono zmiany strukturalne i zaburzenia funkcji wielu narządów, o charakterze subklinicznym lub objawowym [8–10]. Część z nich stanowi następstwo uszkodzenia neuronu ruchowego i zaniku mięśni, niektóre jednak rozwijają się w przebiegu choroby niezależnie od tego zasadniczego elementu jej podłoża.

1.3.2.1. Układ mięśniowy i kostno-szkieletowy

Główny patomechanizm SMA związany jest z degeneracją dolnego neuronu ruchowego, szczególnie wrażliwego na niedobór białka SMN (rozdział 1.2.4) [10,163,172]. Proces ten prowadzi do nieprawidłowego rozwoju mięśni szkieletowych i ich zaniku [173]. W badaniach histopatologicznych mięśni u chorych na SMA wykazano m.in. nieprawidłową morfologię włókien mięśniowych oraz obniżoną biogenezę mitochondriów [174–176]. Na podstawie wyników badań na modelach mysich SMA o ciężkim przebiegu wysunięto przypuszczenie, że zmiany patologiczne w mięśniach mogą zachodzić częściowo niezależnie od degeneracji komórek nerwowych [177].

W zakresie układu kostno-szkieletowego, częstym powikłaniem rdzeniowego zaniku mięśni jest skolioza, która występuje u od 60 do 90% pacjentów z SMA [117,178]. Wpływa ona na niestabilność postawy, zmniejszenie objętości klatki piersiowej [179] oraz zwiększa ryzyko wystąpienia refluksu żołądkowo-przełykowego [180]. Skolioza sprzyja także nieprawidłowemu ustawieniu miednicy oraz (łącznie z osłabieniem mięśni stabilizujących obręcz biodrową) zwichnięciom stawu biodrowego [181,182].

U chorych z SMA obserwuje się ponadto zwiększone ryzyko złamań spowodowane obniżeniem gęstości mineralnej kości [183]. Do zaburzeń struktury i przyrostu masy kostnej mogą przyczyniać się: niedostateczna ilość białka SMN (na modelach mysich SMA wykazano zwiększoną aktywność osteoklastów prowadzącą do przebudowy kości i ich nieprawidłowej mineralizacji) [184], brak obciążenia mechanicznego kości w następstwie zaniku i niedowładu mięśni [185,186], a także niedobór witaminy D [187,188].

1.3.2.2. Układ oddechowy

Neurogeny zanik i osłabienie mięśni w przebiegu SMA może obejmować także mięśnie oddechowe (głównie międzyżebrowe, w mniejszym stopniu przeponę), co w ciężkich postaciach choroby prowadzi do niewydolności oddechowej - częstego powodu hospitalizacji i głównej przyczyny zgonu pacjentów [189–191]. Do jej pogłębienia lub zaostrzenia może przyczyniać się także dysfunkcja mięśni opuszkowych, ze słabym odruchem kaszlowym utrudniającym usuwanie wydzieliny z dróg oddechowych oraz zaburzeniami połykania, które mogą spowodować zachłyśnięcie [189]. Do zmniejszenia objętości życiowej płuc i nasilenia zaburzeń oddychania może dochodzić ponadto w następstwie postępującej skoliozy

i zniekształcenia klatki piersiowej [179]. Nie wykazano natomiast bezpośredniego wpływu niedoboru białka SMN na nieprawidłowy rozwój płuc.

U chorych na SMA oprócz nawracających infekcji układu oddechowego często obserwuje się: bezdech senny oraz hipowentylację pęcherzykową z objawami w postaci chrapania, wybudzania ze snu, porannych bólów głowy oraz senności w ciągu dnia [115]. Ponadto przewlekła hipowentylacja może prowadzić do rozwoju nadciśnienia płucnego i niewydolności serca [192,193]. Pogorszenie wskaźników wydolności oddechowej stanowi wskazanie do wdrożenia wentylacji wspomaganiej w odpowiednim zakresie. Z jej przewlekłym stosowaniem mogą wiązać się dodatkowe powikłania (np. zahamowanie rozwoju mowy po wykonaniu tracheostomii u dzieci z SMA typu 1) [194].

1.3.2.3. Układ sercowo-naczyniowy

Wrodzone wady serca stwierdzano przede wszystkim u chorych z ciężkim przebiegiem SMA (typ 0 lub 1). Należą do nich: ubytek przegrody międzyprzedsionkowej, ubytek przegrody międzykomorowej, zespół niedorozwoju lewego serca, koarktacja aorty, hipoplazja łuku aorty, nieprawidłowe położenie serca (dekstrokardia), tetralogia Fallota, przetrwały przewód tętniczy (Bottalla), stenoza zastawki aortalnej i płucnej [109,195–197]. U dzieci z SMA typu 1 najczęściej występuje bradykardia, u chorych z typem 2 lub 3 rodzaje arytmii są bardziej zróżnicowane. Interpretacja zapisu EKG może być utrudniona ze względu na artefakty związane z drżeniem mięśni [109,198].

W zakresie naczyń obwodowych charakterystycznym objawem opisywanym u dzieci z SMA typu 1 jest zakrzepica drobnych naczyń prowadząca do martwicy palców dłoni i stóp [196,199].

1.3.2.4. Układ pokarmowy, metabolizm i stan odżywienia

U chorych na SMA stwierdza się zarówno zaburzenia struktury, jak i czynności narządów układu pokarmowego.

Dysfunkcja górnego odcinka przewodu pokarmowego objawia się przede wszystkim zaburzeniami połykania oraz refluksem żołądkowo-przłykowym, dolnego odcinka - zaparciami [115,200]. Obok dysfunkcji mięśni gładkich, za przyczynę tych zaburzeń uważa się nieprawidłowe ukrwienie przewodu pokarmowego i/lub nieprawidłową regulację unerwienia autonomicznego [200,201]. W badaniach histopatologicznych przeprowadzonych na modelach zwierzęcych SMA opisywano cechy stanu zapalnego jelita cienkiego, nieprawidłową morfologię i zmniejszoną długość kosmków jelitowych oraz zmniejszoną gęstość unaczynienia ściany jelita cienkiego [202].

U chorych z SMA oraz na modelach zwierzęcych stwierdzono nieprawidłowy metabolizm kwasów tłuszczowych, zwiększający ryzyko dyslipidemii oraz cechy stłuszczenia wątroby (obserwowane w badaniach histopatologicznych) [203]. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano również, że niedobór białka SMN prowadzi do nieprawidłowego

rozwoju wątroby (już na etapie embrionalnym) [165] oraz śledziony (zmniejszona proliferacja i zwiększona apoptoza komórek, dezorganizacja struktury narządu) [204].

W zakresie trzustki, w badaniach autopsyjnych i na modelach zwierzęcych stwierdzono dysproporcję komórek beta wysp trzustkowych (wytwarzających insulinę) w stosunku do komórek alfa (wytwarzających glukagon) [205]. Zmiany te, wraz z obniżonym poziomem syntezy insulinopodobnego czynnika wzrostu (ang. *insulin-like growth factor 1*, IGF-1) w wątrobie, mogą stanowić przyczynę nietolerancji glukozy, insulinooporności, a nawet cukrzycy u niektórych chorych z SMA [205,206]. Z kolei obserwowane niekiedy epizody hipoglikemii mogą być związane z zaburzeniami glukoneogenezy oraz małą rezerwą glikogenu w mięśniach (spowodowaną ich niską masą).

U chorych z SMA typu 1 istnieje duże ryzyko niedożywienia, spowodowane utrudnionym ssaniem i połykaniem oraz zwiększonym zapotrzebowaniem energetycznym związanym z wysiłkiem oddechowym. Z kolei u pacjentów z SMA typu 2 i 3 częściej obserwuje się nadwagę, co może być spowodowane obniżoną aktywnością fizyczną [207]. Ponadto u niektórych chorych obserwuje się zwiększoną ilość tkanki tłuszczowej przy prawidłowym BMI, co sugeruje że BMI nie jest optymalnym wskaźnikiem odżywienia osób chorujących na SMA [208].

1.3.2.5. Układ moczowy

W nerkach chorych z SMA typu 1 wykazano nieprawidłowości strukturalne (zwapnienia i zwłóknienia) oraz zaburzenia czynności cewek nerkowych. Na poziomie molekularnym stwierdzono m.in. zmniejszoną liczbę receptorów wapniowych kalbindyny oraz zwiększoną ekspresję IGF-1 [209]. Zmiany te mogą wskazywać na powiązanie zaburzeń funkcji nerek z nieprawidłowym metabolizmem tkanki kostnej [209] i dysfunkcją wewnątrzwydzielniczą trzustki i wątroby. Warto podkreślić, że zazwyczaj obniżony w SMA poziom kreatyniny w surowicy wynika z zaburzeń jej powstawania na drodze metabolizmu kreatyny, występującej głównie w mięśniach [210,211].

1.3.2.6. Układ rozrodczy

W przebiegu SMA zaobserwowano przypadki nieprawidłowego rozwoju męskiego układu rozrodczego. Najczęściej opisywanym zaburzeniem było wnetrostwo u chłopców [198] [212]. Badania przeprowadzone u mężczyzn z SMA typu 4 wykazały u niewielkiego ich odsetka niedoczynność jąder i niepłodność [213]. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazywano zaburzenia spermatogenezy, a także nieprawidłowy rozwój nasieniowodów [214,215].

Natomiast poza zmniejszoną wielkością jajnika i macicy w badaniach tych stwierdzono prawidłową morfologię żeńskich narządów rozrodczych [214]. Nie stwierdzono także wpływu SMA na obniżoną płodność kobiet [216]. U większości chorych osiągających wiek dojrzewania płciowego obserwuje się prawidłowy jego przebieg oraz regularne miesiączki [212].

Przy planowaniu ciąży u pacjentek z SMA należy uwzględnić m.in. ocenę anatomii miednicy (zniekształcenie z powodu skoliozy), siłę mięśniową (w szczególności w zakresie miednicy i brzucha) oraz czynność układu oddechowego (w czasie ciąży może ulec pogorszeniu). Brak natomiast danych o zwiększonym ryzyku powikłań dotyczących płodu. Poród siłami natury nie jest bezwzględnie przeciwwskazany, jednak w przypadku wystąpienia nieefektywnych skurczów macicy oraz niewydolności oddechowej może być konieczne pilne cięcie cesarskie [216].

Bardzo istotnym czynnikiem, który należy uwzględnić przy planowaniu potomstwa przez chorych na SMA jest status genetyczny partnera (w przypadku gdy partner jest nosicielem mutacji w genie *SMN1*, ryzyko choroby u dziecka wynosi 50%) [216,217].

1.3.2.7. Spektrum zmian w układzie nerwowym

Na tle ogólnoustrojowych nieprawidłowości obserwowanych w przebiegu SMA, na szczególną uwagę zasługują zmiany w układzie nerwowym, wykraczające poza zwyrodnienie dolnego neuronu ruchowego.

Liczne badania eksperymentalne i kliniczne wskazują, że białko SMN pełni bardzo istotną rolę w rozwoju oraz dojrzewaniu układu nerwowego (biorąc udział m.in. w aksonogenezie) [90,218–221].

W badaniach na modelu mysim zaobserwowano, że ekspresja białka SMN w poszczególnych obszarach układu nerwowego jest nierównomierna. Największą ekspresję białka stwierdzano w neuronach ruchowych rdzenia kręgowego. W zakresie mózgu wysoką ekspresję SMN wykazywano w obszarze jąder ruchowych nerwów czaszkowych i warstwy V kory mózgowej zawierającej komórki piramidowe. Poza strukturami motorycznymi obecność białka SMN stwierdzano także m.in. w zakresie jądra ślimakowego grzbietowego, jądrach bocznych przedsionkowych, jądrach czuciowych nerwu trójdzielnego, wzgórzach, jądrach mózdzku i w hipokampie [220,221]. Ta nierównomierna dystrybucja białka SMN może tłumaczyć szczególną podatność niektórych struktur układu nerwowego na jego niedobór, [220]. W badaniach eksperymentalnych na modelach zwierzęcych stwierdzono także patologie złącza nerwowo-mięśniowego, obejmujące jego nieprawidłowe dojrzewanie, defekty w budowie błony pre- i postsynaptycznej oraz upośledzone uwalnianie neuroprzekazników [222–225].

Uszkodzenie motoneuronów alfa wraz z zaburzeniami struktury i funkcji złącza nerwowo-mięśniowego uzasadniają patomechanizm osiowych objawów SMA (opisanych w rozdziale 1.2.4). Spektrum zmian w zakresie układu nerwowego w przebiegu choroby może jednak obejmować także uszkodzenie pozostałych struktur obwodowych, a także ośrodkowych i autonomicznych.

- **Autonomiczny układ nerwowy**

Zaburzenia funkcji autonomicznego układu nerwowego u chorych na SMA są uznawane za główną przyczynę objawowej bradykardii, rzadziej tachykardii oraz wahań ciśnienia tętniczego, a także nieprawidłowej reakcji ortostatycznej stwierdzanej w czasie testu pochyleniowego [193,198,201,226]. Dysregulacja autonomiczna stanowi również podłoże zaburzeń perfuzji w zakresie drobnych naczyń, objawiających się ochłodzeniem dystalnych odcinków kończyn oraz nieprawidłowymi reakcjami naczynioruchowymi (np. rozszerzenie naczyń krwionośnych w odpowiedzi na niską temperaturę), przy znacznym nasileniu doprowadzających do zakrzepicy i martwicy palców u chorych z SMA typu 1 (rozdział 1.3.2.3.) [196,199,227,228]. W badaniu elektrofizjologicznym u chorych z SMA stwierdzano ponadto nieprawidłowy wynik współczulnej odpowiedzi skórnej (ang. *sympathetic skin response*, SSR) [227,229]. Według niektórych autorów opisane powyżej zaburzenia żołądkowo-jelitowe (rozdział 1.3.2.4.) tj. refluks żołądkowo-jelitowy, zaparcia i opóźnione opróżnianie żołądka, a także drżenie rąk są również związane z dysfunkcją układu autonomicznego [201,230].

- **Obwodowy układ nerwowy**

W badaniach autopsyjnych nerwów obwodowych u chorych z ciężkimi postaciami SMA stwierdzano zwyrodnienie w zakresie zwojów czuciowych nerwów rdzeniowych w odcinku lędźwiowym [231] oraz cechy demielinizacji i uszkodzenia aksonalnego w zakresie nerwów łydkowych [232]. W niektórych przypadkach zaobserwowano większe nieprawidłowości u dzieci z dłuższym czasem przeżycia. [231]. Zwyrodnienie aksonalne nerwu łydkowego było również stwierdzane przyżyciowo w biopsji tego nerwu u chorych z SMA typu 1 (nie opisywano natomiast cech jego uszkodzenia u chorych z SMA typu 2 i 3) [233].

W badaniach neurograficznych wykazywano nieprawidłowości w zakresie przewodnictwa czuciowego głównie u chorych z najcięższą postacią SMA [234–237], m.in. w postaci obniżonej amplitudy potencjałów czynnościowych nerwów czuciowych (ang. *sensory nerve action potential*, SNAP) oraz nieprawidłowej prędkości przewodzenia w nerwach czuciowych (ang. *sensory nerve conduction velocities*, SNCV) [234,235]. W jednym z badań stwierdzono nieprawidłowe parametry przewodnictwa czuciowego w nerwach pośrodkowych i łydkowych, głównie w starszej grupie wiekowej dzieci z SMA 1 (7-16 lat), sugerując, że uszkodzenie aksonalne nerwów obwodowych rozwija się wraz z wiekiem [235]. W pracy oceniającej parametry elektrofizjologiczne nerwów kończyn dolnych (łydkowych i strzałkowych) u dzieci z SMA typu 1 i 2 wykazano zaburzenia przewodnictwa czuciowego (nieprawidłowe SNAP i SNVC) w obu badanych grupach [238].

Natomiast w badaniu analizującym funkcję nerwów ruchowych u dorosłych chorych z SMA typu 2 i 3 stwierdzono wydłużenie latencji końcowej, zmniejszenie amplitudy potencjałów ruchowych oraz zmniejszenie szybkości przewodzenia. Zasugerowano, że zmiany te wskazują na przebudowę struktury nerwów ruchowych oraz ich niewielką demielinizację [239].

- **Ośrodkowy układ nerwowy**

Nieprawidłowości w zakresie OUN w badaniach histopatologicznych

Historyczne opisy badań neuropatologicznych mózgowia, obejmujące pojedyncze przypadki lub niewielkie grupy dzieci z ciężkimi postaciami SMA, wskazywały na zmiany degeneracyjne w zakresie jąder wzgórza (zwłaszcza w obszarze tylnobocznym) i podwzgórza, zwyrodnienie jąder ruchowych nerwów czaszkowych z cechami chromatolizy, a ponadto hipoplazję mózdzku i ścięczenie ciała modzelowatego [15,240–242].

W badaniach rdzenia kręgowego oprócz zmian zwyrodnieniowych motoneuronów alfa, opisywano także cechy degeneracji neuronów czuciowych (jąder grzbietowych Clarke'a) oraz utratę mieliny w sznurach tylnych [15,231].

W niedawno opublikowanej pracy Harding i wsp. [243], dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod histopatologicznych wykazano bardziej rozległą i różnorodną lokalizację zmian w mózgowiu dzieci z SMA typu 1. Opisano degenerację komórek nerwowych z cechami chromatolizy w zakresie: jąder ruchowych nerwów czaszkowych, jąder wzgórza (brzusznym, siatkowatym, bocznym i środkowym), ciał kolankowatych bocznych i przyśrodkowych, kory ruchowej (komórki piramidowe warstwy V), tworu siatkowatego mostu, jąder podstawy (m.in. jądro soczewkowate, czerwienne i istota czarna) oraz jąder zębatych i dachowych mózdzku [243].

Nieprawidłowości w zakresie OUN w badaniach neuroobrazowych

Dodatkowych informacji dotyczących zmian strukturalnych mózgowia w przebiegu SMA dostarczyła analiza badań obrazowych, przeprowadzanych w pojedynczych przypadkach lub niewielkich grupach chorych.

W tomografii komputerowej (TK) u pacjentów z ciężką postacią SMA opisywano uogólniony zanik kory mózgowej, niekiedy także brak wzmocnienia kontrastowego w zakresie obu płatów czołowych [244].

Nieprawidłowości w badaniach rezonansu magnetycznego (MR) mózgowia stwierdzano u chorych we wszystkich typach SMA. Kazuistyczne opisy MR mózgowia u chorych z SMA typu 0 [13,245,246] wykazywały znaczne zróżnicowanie: od braku istotnych zmian strukturalnych [245] do znacznego zaniku korowo-podkorowego, niekiedy z obecnością hiperintensywnego sygnału w sekwencji T2-zależnej w zakresie jąder podstawy i wzgórz [13,246]. W kontrolnych badaniach MR przeprowadzonych u nielicznych chorych zaobserwowano progresję stopnia i rozległości zaniku, początkowo głównie nadnamiotowego, a następnie obejmującego wzgórze, jądra podstawy i mózdzek [13,246]. W opisach przypadków dzieci z SMA typu 1 i 2 w MR mózgowia oprócz zaniku korowo-podkorowego stwierdzano hiperintensywne zmiany w obrazach T2-zależnych wokół rogów tylnych komór bocznych [11,247] i w przednio-bocznych częściach obu wzgórz [248], w pojedynczych przypadkach ze współistniejącą hipoplazją ciała modzelowatego [247] oraz dysplazją korową o charakterze „agyria-pachygyria” [249]. Natomiast u dzieci z łagodniejszymi postaciami

choroby (typ 3 i 4 SMA) w MR mózgowia nie uwidoczniło żadnych istotnych nieprawidłowości [250,251]. Analiza obrazu MR mózgowia w większych grupach dorosłych z tym rozpoznaniem wykazała z kolei zmniejszenie objętości kory ruchowej w półkuli dominującej u chorych z SMA typu 4 w porównaniu z typem 3 [252] oraz zmniejszoną objętość mózdzku u chorych na SMA w stosunku do grupy kontrolnej [253]

Jako możliwe podłoże zmian strukturalnych uwidocznionych w MR u dzieci z ciężkim przebiegiem SMA, sugerowano niedotlenienie [244] oraz zaburzenia rozwoju mózgu spowodowane niedoborem białka SMN [13].

Nieprawidłowości w zakresie OUN w badaniach neurofizjologicznych

Oprócz oceny zmian strukturalnych w mózgowiu, u chorych z SMA podejmowano nieliczne próby analizy funkcjonalnej OUN, przy użyciu metod elektrofizjologicznych. U dzieci z ciężkimi postaciami SMA (niekiedy współistniejącymi z dysplazją korową lub encefalopatią niedotlenieniową), u których występowały ogniskowe lub uogólnione napady padaczkowe, w zapisie EEG stwierdzano wyładowania napadowe (m.in. o charakterze iglic i wieloiglic), a w pojedynczych przypadkach wzorzec „salwa-stłumienie” lub uogólnione fale theta [246,247,254]. Czynność napadową lub hipsarytmię opisywano także u dzieci bez napadów padaczkowych w wywiadzie [13,248,249].

W polskim badaniu prof. Friedmana [255], obejmującym dzieci z SMA i dystrofią mięśniową Duchenne’a, stwierdzono nieprawidłowy w stosunku do wieku zapis EEG (z cechami niedojrzałości bioelektrycznej) u ok. 40% chorych z SMA (przy ok. 70% w podgrupie z dystrofią mięśniową).

Opublikowano także pojedyncze doniesienia [12,238,248] na temat wyników potencjałów wywołanych bodźcami o różnej modalności (wzrokowe, słuchowe, somatocuciowe) u dzieci z SMA typu 1 i 2, wykazując nieprawidłowe parametry odpowiedzi wywołanych u części badanych. Na tej podstawie sugerowano, że w przebiegu choroby dochodzi do zajęcia/dysfunkcji dróg czuciowych o niejednoznacznym, prawdopodobnie złożonym mechanizmie.

W dostępnej literaturze brak jest natomiast badań oceniających wyniki potencjałów wywołanych u osób dorosłych chorujących na SMA.

1.4. Elektrofizjologiczne metody oceny funkcji ośrodkowego układu nerwowego

Metody elektrofizjologiczne umożliwiają rejestrację czynności bioelektrycznej układu nerwowego, jej analizę oraz charakterystykę w formie obiektywnych, wymiernych parametrów. Pozwalają na ocenę zaburzeń funkcjonalnych szlaków nerwowych, będących następstwem uszkodzenia strukturalnego lub występujących niezależnie od niego. W ocenie funkcji OUN zastosowanie znajdują przede wszystkim elektroencefalografia (EEG) i potencjały wywołane. Są to metody nieinwazyjne, powtarzalne i przydatne zarówno w badaniach naukowych, jak i w praktyce klinicznej.

1.4.1. Elektroencefalografia

EEG jest metodą rejestracji i analizy spontanicznej czynności bioelektrycznej mózgu. Czynność ta generowana jest przez sieci neuronalne posiadające zdolność do wyładowań rytmicznych, głównie przez wzajemnie na siebie oddziałujące struktury kory mózgowej i wzgórza. Sygnał stanowiący odbicie sumujących się potencjałów błonowych neuronów, po odpowiednim wzmocnieniu i przetworzeniu, może być rejestrowany z powierzchni czaszki [256].

Podczas badania EEG elektrody powierzchniowe umieszczane są na skórze głowy w określonych punktach wyznaczanych przez system „10–20”, zazwyczaj przy użyciu odpowiedniego czepka. Różnice potencjałów między parami elektrod, połączonych ze sobą w różnych konfiguracjach (tzw. montażach), zapisywane są w postaci kilku-kilkunastu krzywych.

Standardowy zapis EEG rejestrowany jest w spoczynku, w pozycji leżącej i z zamkniętymi oczami. Stosowane podczas badania tzw. próby aktywacyjne (np. hiperwentylacja lub fotostymulacja z użyciem lampy stroboskopowej) służą zwiększeniu czułości badania i ujawnieniu nieprawidłowych zjawisk bioelektrycznych. Analiza zapisu EEG obejmuje parametry czynności podstawowej (częstotliwość i amplitudę) i jej topografię (m.in. porównanie między półkulami) oraz obecność zjawisk (tzw. grafoelementów) patologicznych i ich charakterystykę (morfologię, liczbę, lokalizację) [257].

EEG jest podstawowym badaniem pomocniczym w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu padaczki. Metoda ta znajduje także zastosowanie w zapaleniach mózgu (infekcyjnych i autoimmunologicznych), encefalopatiach w przebiegu zaburzeń metabolicznych lub schorzeń układowych, zaburzeniach snu oraz zaburzeniach świadomości o różnej etiologii [256].

EEG cechuje wysoka rozdzielczość czasowa, natomiast niska przestrzenna. Wraz z rozwojem technik neuroobrazowania, znacznie zmniejszyła się rola tego badania w określaniu lokalizacji uszkodzenia OUN. Innym ograniczeniem EEG jest niewielka specyficzność – brak możliwości różnicowania etiologii zmian na podstawie zapisu. EEG może jednak stanowić cenne uzupełnienie metod obrazujących zmiany strukturalne, ponieważ odzwierciedla dynamiczne zmiany funkcji OUN. Pozwala ponadto na charakterystykę zaburzeń czynności

mózgu w przypadku zmian rozlanych oraz w okresie subklinicznym schorzenia - poprzedzającym manifestację kliniczną i ujawnienie się zmian w badaniach obrazowych. W praktyce klinicznej niezbędna jest łączna interpretacja zapisu EEG z obrazem klinicznym i wynikami innych badań pomocniczych [256,257].

Zaawansowane techniki EEG, stosowane głównie w diagnostyce i planowaniu postępowania terapeutycznego w padaczce lekoopornej obejmują m.in. zwiększenie liczby elektrod (niekiedy z zastosowaniem inwazyjnych elektrod wewnątrzczaszkowych) i wydłużenie czasu rejestracji zapisu wraz z dodatkowymi metodami aktywacji nieprawidłowej czynności. Opracowywane są także nowoczesne algorytmy analizy ilościowej sygnału EEG, z uwzględnieniem jego topografii przestrzennej (stereo-EEG, *mapping*) oraz funkcjonalnych oddziaływań między poszczególnymi obszarami (*functional connectivity*) [256].

1.4.2. Potencjały wywołane

Metoda badania potencjałów wywołanych (ang. *evoked potentials*, EP) oparta jest na zjawisku zmiany czynności bioelektrycznej OUN w odpowiedzi na bodziec zewnętrzny o określonej modalności. Odpowiednie oprogramowanie komputerowe umożliwia wyodrębnienie takiej odpowiedzi z tła spontanicznej czynności bioelektrycznej i jej wzmocnienie, a następnie zsumowanie i uśrednienie odpowiedzi wywołanych serią kilkudziesięciu-kilkuset bodźców. Potencjały wywołane rejestrowane są przy użyciu elektrod powierzchniowych, umieszczonych – w zależności od metody badania i modalności bodźca – na powierzchni czaszki, na wysokości rdzenia kręgowego, splotów nerwowych lub mięśni [258,259].

Poszczególnym modalnościom bodźców i schematom stymulacji odpowiada także charakterystyczny kształt odpowiedzi wywołanej – krzywej składającej się z określonych fal/załamków. Podstawowe elementy analizy potencjałów wywołanych obejmują obecność odpowiednich załamków, ich latencję (czas między momentem zadziałania bodźca a szczytem załamka) i amplitudę (maksymalne wychylenie od linii podstawnej lub od szczytu poprzedniego załamka).

Ze względu na miejsce i czas generowania odpowiedzi wywołanej oraz stopień zaangażowania osoby badanej, potencjały wywołane dzieli się na egzogenne oraz endogenne) [258,259].

1.4.2.1. Egzogenne potencjały wywołane

Odpowiedź wywołana stanowi bezpośrednią reakcję na bodziec zewnętrzny i uzależniona jest w dużej mierze od jego parametrów fizycznych. Nie wymaga natomiast aktywności ani współpracy ze strony badanego. Ze względu na stosunkowo krótkie wartości latencji (zazwyczaj < 100 ms) potencjały te nazywane są „wczesnymi”. W zależności od modalności bodźca wyróżnia się:

- wzrokowe potencjały wywołane (ang. *visual evoked potentials*, VEP)
- słuchowe pniowe potencjały wywołane (ang. *brainstem auditory evoked potentials*, BAEP)
- somatocuciowe potencjały wywołane (ang. *somatosensory evoked potentials*, SSEP)

Załamki VEP i SSEP oznacza się najczęściej literą P (w przypadku dodatniego wychylenia ich wierzchołka w stosunku do linii izoelektrycznej) lub literą N (w przypadku ujemnego wychylenia) oraz wartością liczbową ich średniej latencji. W przypadku BAEP kolejne dodatnie załamki opisuje się cyframi rzymskimi (od I do VII) [258,259].

VEP powstają pod wpływem stymulacji siatkówki za pomocą błysków świetlnych lub zmieniającego się obrazu na ekranie (najczęściej naprzemienny/odwracalny wzór szachownicy). Odpowiedź generowana jest przez struktury drogi wzrokowej i rejestrowana z okolicy potylicznej [258,260]. W uśrednionej odpowiedzi wywołanej można wyróżnić następujące załamki (składowe), odpowiadające poszczególnym częściom drogi wzrokowej:

- N75 - odpowiada aktywacji przyśrodkowej części płata potylicznego
- P100 - główna analizowana składowa VEP, powstaje w korze potylicznej pierwszorzędowej (prążkowanej)
- N145 - nie ustalono dokładnie miejsca jego generowania, może odpowiadać różnym obszarom kory potylicznej [258,260,261].

BAEP są generowane pod wpływem bodźców akustycznych: tonów lub kliknięć emitowanych w słuchawkach. Odpowiedź powstaje w strukturach drogi słuchowej, głównie w obszarze pnia mózgu, i rejestrowana jest ze szczytu czaszki. W zapisie BAEP można wyróżnić następujące załamki, odpowiadające poszczególnym strukturom drogi słuchowej:

- I (o latencji ok. 1,75ms)– nerw słuchowy (część bliższa) i/lub lub ślimak
- II (o latencji ok. 2,8 ms)– nerw słuchowy lub jądro ślimakowe
- III (o latencji ok. 3,9 ms)– dolna część mostu (jądra grzbietowe oliwki, ciało czworoboczne)
- IV (o latencji ok. 5,1ms)– górna część mostu /dolna część śródmózgowia, najmniej stały komponent BAEP
- V (o latencji ok. 5,7 ms)– górna część mostu /dolna część śródmózgowia (wstęga boczna, wzgórk dolne)
- VI i VII – niestałe składowe, nie mają określonych wartości normatywnych dla parametrów ani jednoznacznie ustalonego pochodzenia (prawdopodobnie ciała kolankowate przyśrodkowe)

Ze względu na stałość i powtarzalność w analizie BAEP najczęściej uwzględnia się załamki I, III i V oraz różnice czasu latencji (tzw. interlatencje) pomiędzy nimi (I-III, III-V i I-V) [258,259,262,263].

SSEP powstają pod wpływem przezskórnego drażnienia nerwów obwodowych kończyn górnych lub dolnych (najczęściej nerwu pośrodkowego lub piszczelowego) bodźcami czuciowymi - impulsami elektrycznym o krótkim czasie trwania i niskim natężeniu, emitowanymi przez elektrodę stymulującą. Odpowiedź może być rejestrowana na kolejnych poziomach dróg czuciowych: znad splotów nerwowych, rdzenia kręgowego lub okolicy ciemieniowej. W zapisie SSEP uzyskanym poprzez stymulację nerwu pośrodkowego wyróżnia się następujące załamki, które odpowiadają określonym strukturom drogi czuciowej:

- N9 - splot ramienny
- P10 - przyśrodkowa część splotu ramiennego
- N13 - istota szara rogów tylnych odcinka szyjnego rdzenia kręgowego i/lub korzenie tylne odcinka szyjnego
- P16 (lub P14) - dolna część pnia mózgu, wstęga przyśrodkowa lub jądro klinowate
- N20 (lub N19) - płat ciemieniowy, zakręt zaśrodkowy - pierwszorzędowa kora czuciowa
- P22 (lub P25) - kora czuciowa

Ponadto w analizie SSEP oznacza się interlatencje pomiędzy poszczególnymi załawkami: N9-N13, P9-P16, P16-N20, N9-N20, N13-N20 (czas przewodzenia ośrodkowego – „*transit time to cortex*” -TT) [258,264,265].

Należy podkreślić, że podane powyżej średnie wartości latencji dla poszczególnych załawków potencjałów wywołanych mają charakter przybliżony i zostały ustalone w oparciu o badania u młodych osób dorosłych. Ze względu na znaczną zmienność parametrów potencjałów pod wpływem różnych czynników (związanych m.in. z warunkami otoczenia i aspektami technicznymi badania), w badaniach naukowych zalecane jest ustalanie zakresu ich wartości normatywnych indywidualnie dla danej pracowni, na podstawie badań przeprowadzonych w odpowiednio dobranej grupie kontrolnej [12,266–269].

Oprócz analizy czynnościowej szlaków wstępujących, ruchowe potencjały wywołane (ang. *motor evoked potentials*, MEP) pozwalają na badanie funkcji eferentnych dróg ruchowych. Za pomocą przezczaszkowej stymulacji magnetycznej indukowane są odpowiedzi ruchowe, rejestrowane z mięśni kończyn. Parametry tej odpowiedzi stanowią wskaźniki przewodnictwa i pobudliwości głównie ośrodkowego neuronu ruchowego [270–273].

Analiza potencjałów wywołanych może być przydatna w obiektywnym stwierdzeniu zmian funkcjonalnych, określaniu lokalizacji i rozległości uszkodzenia w zakresie odpowiednich dróg aferentnych. Parametry BAEP i SSEP mogą także stanowić elektrofizjologiczny wskaźnik integralności pnia mózgu i rdzenia kręgowego. Potencjały wywołane są powszechnie stosowane w diagnostyce i monitorowaniu stwardnienia rozsianego i innych schorzeń demielinizacyjnych. Znajdują zastosowanie także w innych schorzeniach przebiegających z rozlanym lub wieloogniskowym uszkodzeniem OUN. Wobec dużej czułości parametrów

elektrofizjologicznych mogą odegrać istotną rolę w wykazaniu subklinicznego zajęcia OUN – m.in. w przebiegu schorzeń układowych, przewlekłego narażenia toksycznego lub u bezobjawowych nosicieli mutacji. Nieinwazyjność metody i brak konieczności współpracy badanego sprzyjają jej zastosowaniu u niemowląt (np. przesiewowa diagnostyka zaburzeń słuchu) i małych dzieci oraz u osób z zaburzeniami świadomości. Oprócz wartości diagnostycznej parametry EP mogą mieć znaczenie prognostyczne zarówno w odniesieniu do zlokalizowanych uszkodzeń (np. remielinizacja po przebytych zapaleniu nerwu wzrokowego), jak i rozlanych zmian w OUN (przewlekłe zaburzenia świadomości) [270–274].

1.4.2.2. Endogenne/sytuacyjne potencjały wywołane

Endogenne/sytuacyjne potencjały wywołane (ang. *endogenous/event-related potentials*, ERP) to odmiana EP, która wymaga aktywnego udziału osoby badanej i zaangażowania w określone zadanie związane z bodźcami (np. ich liczenie lub rozróżnianie). Odpowiedź wywołana odzwierciedla procesy poznawcze i reakcję emocjonalną związane z analizą bodźców. Na jej parametry w niewielkim stopniu wpływa modalność i fizyczne cechy bodźca, natomiast zależą one głównie od stanu osoby badanej i warunków otoczenia (wpływających np. na stopień koncentracji, trudność zadania).

ERP znajdują zastosowanie w elektrofizjologicznej ocenie procesów poznawczych w różnych schorzeniach z pierwotnym lub wtórnym zajęciem OUN. Stanowią cenne uzupełnienie badania neuropsychologicznego [274].

Do ograniczeń potencjałów wywołanych należą: duża zmienność indywidualna parametrów odpowiedzi, niska specyficzność metody w odniesieniu do etiologii schorzenia oraz umiarkowana wartość lokalizacyjna. Czułość i wielowymiarowość badania zwiększa zastosowanie stymulacji z różnymi rodzajami bodźców (multimodalne potencjały wywołane). Wzrost rozdzielczości metody z kolei można uzyskać poprzez zwiększenie liczby elektrod oraz zastosowanie algorytmów czasowej i przestrzennej analizy sygnału z utworzeniem map lub modeli funkcjonalnych [259].

2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY

Rdzeniowy zanik mięśni jest chorobą uwarunkowaną genetycznie, a mutacja stanowiąca jego podłoże dotyczy genu odpowiedzialnego za produkcję białka warunkującego przeżycie motoneuronów - SMN. W następstwie jego niedoboru dochodzi do wielopoziomowego, postępującego uszkodzenia obwodowego neuronu ruchowego [2]. Obraz kliniczny SMA obejmuje niedowład mięśni kończyn i tułowia, zaburzenia artykulacji mowy i połykania, często także zaburzenia oddychania; lokalizacja i stopień nasilenia objawów zależne są od typu schorzenia [275].

Badania nad molekularnym podłożem SMA, prowadzone w ostatnich latach, wykazały istotną rolę białka SMN w licznych procesach zapewniających utrzymanie homeostazy komórkowej, m.in.: przetwarzaniu RNA (składanie/*splicing*, transkrypcja, translacja i transport aksonalny mRNA), procesach energetycznych i szlakach sygnałowych [6,276–278]. Stwierdzono ponadto, że poziom ekspresji białka SMN u chorych na SMA ulega obniżeniu nie tylko w rdzeniu kręgowym i mięśniach, ale także w nerkach, fibroblastach oraz we krwi [171,279]. Badania na modelach zwierzęcych oraz obserwacje kliniczne wskazują na możliwość występowania w przebiegu SMA, oprócz deficytu neurologicznego, dysfunkcji innych narządów, m.in.: serca, płuc, trzustki, jelit, śledziony, gonad i kości [7–10].

Wyniki tych obserwacji oraz brak jednoznacznego wyjaśnienia przyczyny wybiórczego uszkodzenia obwodowego neuronu ruchowego w SMA przemawiają za celowością pogłębionych badań nad strukturalnym i funkcjonalnym zajęciem ośrodkowego układu nerwowego w tym schorzeniu. W niewielkich grupach chorych na SMA opisano zmiany w badaniach obrazowych mózgowia (np. zanik korowo-podkorowy, nieprawidłowy sygnał w zakresie skorupy, wzgórza i wokół komór bocznych) [11,146]. Kazuistyczne doniesienia dotyczyły występowania u chorych z SMA napadów padaczkowych [246,247,254]. U dzieci z SMA przeprowadzono także nieliczne badania z użyciem metod elektrofizjologicznych, których wyniki wskazywały na bezobjawowe zaburzenia czynności bioelektrycznej mózgu [255], także w zakresie funkcji szlaków aferentnych [12,238]. Na podstawie tych przesłanek można wysunąć hipotezę, że w przebiegu SMA oprócz uszkodzenia motoneuronów dochodzi również (wtórnie do pierwotnego procesu lub niezależnie od niego) do zwyrodnienia neuronów w zakresie szlaków czuciowych oraz połączeń korowo-podkorowych. Zmiany te mogłyby stanowić podłoże pozaruchowych objawów deficytu neurologicznego, wymagających uwzględnienia w kompleksowej ocenie obrazu klinicznego, a także w postępowaniu terapeutycznym i rehabilitacji. Przydatnymi narzędziami do oceny (także subklinicznej) dysfunkcji wymienionych struktur mogą być czułe i nieinwazyjne badania elektrofizjologiczne. Lepsze poznanie funkcji ośrodkowego układu nerwowego i jego implikacje kliniczne nabierają aktualnie szczególnego znaczenia w kontekście wydłużającego się okresu przeżycia chorych z SMA, związanego z dostępnością skutecznego leczenia.

Celem niniejszej pracy była elektrofizjologiczna ocena funkcji ośrodkowego układu nerwowego u chorych na SMA, przy użyciu elektroencefalografii oraz potencjałów wywołanych, w odniesieniu do genetycznego podłoża SMA, stanu klinicznego i funkcjonalnego chorych oraz wybranych parametrów laboratoryjnych.

Szczegółowe cele pracy stanowiły:

- Ocena zapisu EEG jako wskaźnika globalnej czynności bioelektrycznej OUN u chorych na SMA
- Ocena parametrów wzrokowych, słuchowych i somatocuciowych potencjałów wywołanych jako elektrofizjologicznych wskaźników funkcji poszczególnych szlaków czuciowych u chorych na SMA
- Analiza zależności między parametrami elektrofizjologicznymi a klinicznymi wskaźnikami uszkodzenia neuronu ruchowego i stanu funkcjonalnego chorych
- Zbadanie zależności między parametrami elektrofizjologicznymi a wybranymi markerami genetycznymi i biochemicznymi

4. MATERIAŁ I METODY

4.1. Grupy badane

Badaniem objęto 35 chorych na rdzeniowy zanik mięśni (SMA): 15 kobiet i 20 mężczyzn, w wieku od 18 do 56 lat (średnio 35,3 lat). Chorzy ci byli hospitalizowani w Klinice Neurologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu i zakwalifikowani do Programu Leczenia Rdzeniowego Zaniku Mięśni (B.102.FM) w latach 2019 – 2023.

Kryteria włączenia do badania obejmowały:

- rozpoznanie SMA ustalone w oparciu o obraz kliniczny i badanie genetyczne (homozygotyczna delecja eksonu 7 lub 7 i 8 w genie *SMN1* na chromosomie 5q)
- pełna dokumentacja dotychczasowego przebiegu choroby

Kryteria wykluczające stanowiły:

- przebyte lub współistniejące inne schorzenia OUN
- współistniejące schorzenia ogólnoustrojowe, z potencjalnym wtórnym zajęciem OUN
- ostra lub przewlekła niewydolność oddechowa w przebiegu SMA
- istotne wady/uszkodzenia narządu wzroku i słuchu

W celu jednoznacznego wykluczenia zmian w OUN, u wszystkich chorych wykonano badanie obrazowe mózgowia: u 33 osób rezonans magnetyczny (MR), u 2- z powodu przeciwwskazań do MR - tomografię komputerową (TK). Ponadto jako przesiewową ocenę funkcji poznawczych (w celu wykluczenia ich zaburzeń) przeprowadzono Montrealską Skalę do Oceny Funkcji Poznawczych (ang. *Montreal Cognitive Assessment*, MoCA) w polskiej wersji językowej. Służy ona do oceny różnych obszarów funkcjonowania poznawczego: funkcji wzrokowo–przestrzennych, uwagi, pamięci (w tym pamięci operacyjnej), funkcji językowych, zdolności kalkulacyjnych, myślenia koncepcyjnego oraz orientacji co do miejsca i czasu. Skala składa się z 12 zadań, z możliwością uzyskania za odpowiedzi maks. 30 punktów, za wynik prawidłowy uznaje się min. 26 pkt [280,281].

Grupę kontrolną stanowiło 36 zdrowych ochotników, odpowiednio dobranych pod względem płci (18 kobiet, 18 mężczyzn), wieku (średnia wieku 35,1 lat) i długości kończyn. U wszystkich osób z grupy kontrolnej przeprowadzono badanie podmiotowe i przedmiotowe w celu wykluczenia objawów deficytu neurologicznego.

Szczegółową charakterystykę grupy chorych na SMA przedstawiono w rozdziale 5.1.

4.2. Ocena kliniczna grupy chorych na SMA

Na podstawie dokumentacji medycznej ustalono dane dotyczące dotychczasowego przebiegu choroby, badań diagnostycznych będących podstawą rozpoznania SMA, typu SMA zgodnie z aktualną klasyfikacją (rozdział 1.2.4) oraz schorzeń współistniejących i stosowanych leków.

U wszystkich chorych przeprowadzono badanie podmiotowe i przedmiotowe z określeniem stopnia deficytu neurologicznego. Sprawność ruchową badanych oceniono przy użyciu skal funkcjonalnych przeznaczonych dla osób z SMA: skali Sprawności Motorycznej Hammersmith - HFMSE (ang. *Hammersmith Functional Motor Scale – Expanded*) i skali sprawności motorycznej CHOP-INTEND (ang. *The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders*) [112,113]. Skala HFMSE ocenia zakres wykonania 33 ćwiczeń/czynności ruchowych (wyniki cząstkowe 0-2 pkt, całościowy 0–64 pkt) i zalecana jest do oceny chorych chodzących lub siedzących. Skala CHOP-INTEND obejmuje 16 podpunktów odpowiadających ćwiczeniom/czynnościom ruchowym (wyniki cząstkowe 0-4, całościowy 0-64 pkt), przeznaczona jest głównie do oceny chorych leżących lub siedzących [282]. Ocenę w skali HFMSE przeprowadzono u wszystkich chorych, a w skali CHOP-INTEND u chorych niezdolnych do samodzielnego chodzenia.

Do oceny jakości życia w grupie chorych i grupie kontrolnej zastosowano kwestionariusz WHOQOL-BREF (ang. *World Health Organization Quality of Life BREF*) w polskiej adaptacji. Kwestionariusz składa się z 26 pytań (punktacja odpowiedzi w zakresie 1-5 punktów) ujętych w 4 domeny (dziedziny): funkcjonowanie w sferze fizycznej, psychicznej, społecznej i w środowisku, oraz dotyczące ogólnej percepcji jakości życia i stanu zdrowia [283–285].

4.3. Badania laboratoryjne

Spśród parametrów biochemicznych oznaczanych w krwi żyłnej u chorych na SMA, w ramach oceny ich stanu i kwalifikacji do leczenia w Programie Lekowym [59], wybrano do analizy stężenie kreatyniny i kinazy kreatynowej (CK) w surowicy, ze względu na ich potencjalną przydatność jako markerów zaawansowania choroby [127,211].

4.4. Badania elektrofizjologiczne

W grupie chorych na SMA oraz w grupie kontrolnej przeprowadzono badanie potencjałów wywołanych przy użyciu różnych modalności: wzrokowych (VEP), słuchowych pniowych (BAEP) i somatocuciowych (SSEP). U chorych na SMA wykonano także badanie elektroencefalograficzne (EEG).

Wszystkie badania przeprowadzono w Samodzielnej Pracowni Neuroelektrofizjologii Klinicznej przy Katedrze i Klinice Neurologii UMW, pod opieką specjalisty - neurofizjologa klinicznego certyfikowanego w tej dziedzinie. Metodyka badań elektrofizjologicznych oraz interpretacja ich wyników były zgodne ze standardami Międzynarodowej Federacji

Neurofizjologii Klinicznej (ang. *International Federation of Clinical Neurophysiology*, IFCN) [260,262,264,286]. Badania przeprowadzano o stałej porze dnia (w godzinach przedpołudniowych) i w jednakowych warunkach (w zaciemnionym i wyciszonym pomieszczeniu, o stałej temperaturze – 22-23°C, po upływie ok. godziny od spożycia posiłku).

4.4.1. Potencjały wywołane

Badania EP przeprowadzono przy użyciu aparatu Nicolet Viking Quest. Stosowano kubkowe elektrody powierzchniowe (Ag/AgCl) o średnicy 10mm (firmy Nicolet Instrument Corporation), które przyklejano na oczyszczonej skórze głowy za pomocą pasty adhezyjno-przewodzącej - Ten20 Conductive Paste (firmy D.O. Weaver and Co). Oporność elektrod przy rejestracji BAEP nie przekraczała 2 k Ω , przy VEP i SSEP – 5k Ω . W celu zapewnienia powtarzalności pomiarów, rejestrację potencjałów dla poszczególnych modalności i stron wykonywano dwukrotnie.

VEP były wywoływane za pomocą emitowanego na ekranie strukturalnego bodźca szachownicy, ze zmieniającymi się na przemian polami białymi i czarnymi z częstotliwością 1,88Hz. Osoba badana, siedząca w odległości 1m od ekranu, miała skupić wzrok na centralnym punkcie ekranu (jedno oko pozostawało zasłonięte). Elektroda odbiorcza była umieszczana w linii środkowej okolicy potylicznej (punkcie Oz), elektroda odniesienia w okolicy czołowej (punkcie Fz) – wg systemu 10-20, a elektroda uziemiająca - na przedramieniu. W czasie badania stymulowano kolejno lewe i prawe oko. Rejestrowano i uśredniano 100 kolejnych odpowiedzi (przy automatycznym odrzuceniu artefaktów) w paśmie częstotliwości 1-30Hz, przy czasie analizy 500ms; dla każdej ze stron wykonano 2 serie stymulacji. Oceniano latencję fal N75, P100 i N145, międzyoczną różnicę latencji fali P100 (tzw. latencję względną, P100 OL-OP) oraz amplitudę kompleksu P100/N145 („*peak to peak*”).

BAEP wywoływano przy użyciu serii kliknięć o czasie trwania 0,1ms, częstotliwości 20,3Hz i natężeniu 65dB powyżej indywidualnie ustalonego progu słyszalności, emitowanych w słuchawkach kolejno do lewego i prawego ucha. Do drugiego ucha nadawano jednocześnie szum „maskujący” o natężeniu 35dB powyżej progu słyszalności. Badanie odbywało się w pozycji leżącej. Elektrode odbiorczą umieszczano na szczycie czaszki, a elektrody odniesienia na płatkach usznych (Cz, A1 i A2 wg systemu 10-20), elektrodę uziemiającą – na przedramieniu. Rejestrowano i uśredniano 2000 odpowiedzi w paśmie częstotliwości 150 – 3000 Hz, przy czasie analizy 10ms; dla każdej ze stron wykonano 2 serie stymulacji. Oznaczano latencje składowych I, III i V, interlatencje międzyszczytowe I-III, III-V, I-V oraz amplitudy („*peak to peak*”) składowych I i V.

Ze względu na specyfikę SMA i ograniczenie sprawności chorych, wykonano SSEP tylko przy stymulacji kończyn górnych. Badanie odbywało się w pozycji leżącej. Stymulowano nerw pośrodkowy w okolicy nadgarstka za pomocą impulsu elektrycznego o czasie trwania 0,1ms, częstotliwości 4,7Hz i natężeniu wywołującym minimalny ruch kciuka (3-15mA). Elektrody odbiorcze były umieszczane nad punktem Erba (EPi) w okolicy nadobojczykowej

(z elektrodą odniesienia na przeciwległym punkcie Erba (EPc), na wysokości siódmego kręgu szyjnego (C7) (z elektrodą odniesienia w Fz) oraz w okolicy ciemieniowej lewej (CP3) i prawej (CP4) z elektrodą odniesienia w okolicy czołowej odpowiednio w punkcie F3 i F4. Elektrode uziemiającą umieszczano na przedramieniu. Rejestrowano i uśredniano 300 odpowiedzi, czas analizy wynosił 100ms. Dla każdej ze stron wykonano 2 serie stymulacji. Oceniano latencję następujących składowych SSEP: obwodowych – N9 i N10, szyjnych – N13 i P16, korowych - N20 i P22 oraz interlatencje N9-N13, N9-N20 oraz N13-N20 (czas przewodzenia ośrodkowego - TT) Ponadto analizowano („*peak to peak*”) amplitudy N9/P10, N13/P16 oraz N20/P22.

Uzyskane parametry potencjałów wywołanych zostały uśrednione dla obu serii badań oraz dla poszczególnych stron.

Zakres wartości prawidłowych dla latencji i interlatencji potencjałów wywołanych wyznaczono na podstawie średnich wartości tych parametrów uzyskanych w grupie kontrolnej $\pm 2,5$ SD (na podstawie: [263,266,268,287]). Ustalono w ten sposób wartości normatywne dla VEP, BAEP i SSEP przedstawiono w rozdziale 5.

W odniesieniu do amplitud za nieprawidłowe uznano: dla VEP - ponad 50% różnicę wartości amplitudy P100/N145 między prawym a lewym okiem; dla BAEP - równoczesną ponad 50% różnicę amplitud fal I i V uzyskanych podczas stymulacji lewego i prawego ucha; dla SSEP - ponad 50% różnicę amplitud dla strony lewej i prawej dla co najmniej 2 spośród załamek: N9/P10, N13/P16 i N20/P22 (na podstawie: [266,268]).

4.4.2. Elektroencefalografia (EEG)

EEG przeprowadzano za pomocą 24 – kanałowego aparatu EEG NicoletOne. Elektrody powierzchniowe rozmieszczono na skórze głowy (po wcześniejszym zwilżeniu roztworem 0.9% NaCl) wg międzynarodowego schematu „10-20”, utrzymując oporność poniżej 10 k Ω . Elektroda uziemiająca była umieszczana na środku czoła. Zapis EEG rejestrowano z częstotliwością próbkowania 256Hz, w zakresie częstotliwości 0,5 – 100Hz, z wykorzystaniem analogowego filtra sieciowego 50Hz. Osoba badana miała pozostawać podczas 20-minutowego zapisu w stanie czuwania, w pozycji leżącej i z zamkniętymi oczami. W czasie zapisu badanych proszono kilkakrotnie o otwarcie i zamknięcie oczu oraz o głębokie oddychanie przez 3 min (próba hiperwentylacji). Przez kolejne 3 min nad głową badanego były emitowane błyski lampy stroboskopowej o zmieniającej się częstotliwości w zakresie 4-30Hz (próba fotostymulacji). Zapis EEG był oceniany wizualnie, z uwzględnieniem częstotliwości i amplitudy czynności podstawowej oraz elementów patologicznych.

Ocena kliniczna i badania elektrofizjologiczne były przeprowadzane w grupie badanej tego samego dnia, z zapewnieniem osobom badanym odpoczynku/przerw między nimi zależnie od ich potrzeb.

Projekt badawczy będący podstawą niniejszej pracy uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu – opinia Nr KB - 436/2020. Wszystkie osoby uczestniczące w badaniu (chorzy na SMA i zdrowi ochotnicy z grupy kontrolnej) uzyskały pełną informację na jego temat i wyraziły pisemnie świadomą zgodę na udział w badaniu.

4.5. Analiza statystyczna

Wyniki badań elektrofizjologicznych oraz wyniki badania oceny jakości życia zostały porównane w grupie chorych na SMA i kontrolnej. W grupie chorych wyniki badań elektrofizjologicznych zostały odniesione do danych klinicznych/wykładników deficytu neurologicznego.

Wyniki badań poddano opracowaniu statystycznemu. Dla wszystkich grup zostały wyliczone liczba przypadków (n), średnia, odchylenie standardowe (SD), mediana, zakres (min.-max.) oraz dolny i górny kwartył (Q1, Q3) badanych parametrów ilościowych.

W zależności od rozkładu dane ilościowe przedstawiano:

- jako średnia \pm SD, w przypadku zmiennych o rozkładzie normalnym;
- jako mediana (M) i zakres międzykwartyłowy (Q1-Q3), w przypadku zmiennych o rozkładzie nie spełniającym warunków normalności.

Zmienne jakościowe przedstawiono jako wartości bezwzględne i odsetki (%).

Normalność rozkładu sprawdzano testem Shapiro-Wilka, a jednorodność wariancji testem Levene'a.

Weryfikację hipotezy o równości średnich parametrów w grupach niezależnych o jednorodnej wariancji przeprowadzono metodą analizy wariancji ANOVA lub dla grup o niejednorodnej wariancji testem nieparametrycznym U Mann-Whitney'a.

Dla wybranych par parametrów przeprowadzono analizę korelacji wyliczając współczynnik korelacji Spearmana (R).

Dla parametrów jakościowych częstość występowania cechy w grupach analizowano testem χ^2 .

Wartości $p \leq 0.05$ uznawano za istotne statystycznie. Wartości p w przedziale 0,05-0,1 określono jako odpowiadające tendencji statystycznej. Analizę statystyczną przeprowadzono wykorzystując komputerowe pakiety programów statystycznych EPIINFO Ver. 7.2.5.0 oraz Statistica Ver. 13.3.

5. WYNIKI

5.1. Charakterystyka grupy chorych

5.1.1. Czynniki demograficzne

Porównano strukturę demograficzną grupy chorych na SMA i grupy kontrolnej (tab. 1). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic między grupami w zakresie wieku ($p=0,951$) i struktury płci ($\chi^2=0,364$, $p=0,546$) (tab.2).

Tabela 2. Struktura wieku i płci grupy chorych na SMA i grupy kontrolnej

	Grupa chorych na SMA n=35	Grupa kontrolna n=36	p
Wiek [lata]: średnia \pm SD (zakres)	35,3 \pm 11,6 (18 - 56)	35,1 \pm 10,53 (18 - 60)	0,951
Płeć			
kobiety: n (%)	20 (57,1)	18 (50)	0,546
mężczyźni: n (%)	15 (42,9)	18 (50)	

5.1.2. Wskaźniki antropometryczne

Wskaźniki antropometryczne dla grupy chorych oraz grupy kontrolnej przedstawiono w tabeli 3.

Mediana masy ciała i BMI w grupie badanej była istotnie niższa w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie wykazano natomiast istotnej różnicy pomiędzy grupami w zakresie wzrostu oraz długości kończyny górnej (wartość uśredniona dla prawej i lewej kończyny po zweryfikowaniu braku istotnych statystycznie różnic między stronami).

Tabela 3. Porównanie wzrostu, masy ciała, BMI i długości kończyny górnej w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej

	Grupa chorych na SMA n=35				Grupa kontrolna n=36				p
	zakres	Q1	M	Q3	zakres	Q1	M	Q3	
Wzrost [cm]	130-185	158	169	175	155-187	164,5	170	179,5	0,143
Masa ciała [kg]	22-106	45	60	75	54 -108	62	71	80	0,008
BMI [kg/m²]	10,8-33,1	18	21	25,1	21,1-33,3	23,1	24,1	25,5	0,005
Dł. kończyny górnej [cm]	55-91,5	67	73,5	80	66-86	68	74,5	79	0,841

5.1.3. Obraz kliniczny

W badaniu genetycznym u wszystkich chorych stwierdzono obualleleliczną delecję eksonu 7 (lub 7 i 8) w genie *SMN1* na chromosomie 5q oraz obecność 3 lub 4 kopii genu *SMN2*. Zgodnie z aktualną klasyfikacją, u chorych rozpoznano typ 2, 3 lub 4 SMA. W tabeli 4 przedstawiono dane demograficzne, genetyczne oraz kliniczne z podziałem grupy chorych na poszczególne typy SMA.

Tabela 4. Dane demograficzne, genetyczne i kliniczne w grupie chorych z podziałem na typy SMA

	SMA typu 2	SMA typu 3	SMA typu 4	Razem
Liczba (%)	5 (14)	28 (80)	2 (6)	35
Dane demograficzne				
wiek [lata]: mediana (Q1–Q3)	25 (21-34)	36 (26-45,5)	44,5 (40;49)	36 (25-44)
płeć:				
kobiety: n (%)	3	12	0	15 (43)
mężczyźni: n (%)	2	16	2	20 (57)
Liczba kopii genu <i>SMN2</i>				
3 kopie: n (%)	5	16	0	21 (6)
4 kopie: n (%)	0	12	2	14 (40)
Przebieg choroby				
Wiek wystąpienia pierwszych objawów [lata]: mediana (Q1-Q3)	0,7 (0,7-1)	3,5 (2-7)	28,5 (22;35)	3 (2-7)
Czas trwania choroby od wystąpienia pierwszych objawów [lata]: mediana (Q1-Q3)	24 (20,3-32,5)	31,5 (23-37)	16 (14;18)	30 (20,3-36,8)
Ogólny poziom sprawności ruchowej				
Liczba osób nie chodzących samodzielnie	5	14	0	19 (54,3)
Liczba osób chodzących samodzielnie	0	14	2	16 (45,7)
Wyniki w skalach funkcjonalnych				
CHOP-INTEND [liczba punktów]: mediana (Q1-Q3)	27 (22-27)	46 (30-47)*	-	39 (27-46)*
HFMSE [liczba punktów]: mediana (Q1-Q3)	2 (2-3)	22 (9-38,5)	55,5 (53;58)	18 (4-42)

* dotyczy pacjentów nie chodzących samodzielnie (n=19)

U wszystkich chorych na SMA stwierdzono niedowład czterech kończyn z cechami uszkodzenia obwodowego neuronu ruchowego. U żadnego pacjenta nie obserwowano (aktualnie ani w przeszłości) objawów opuszkowych (dysfagia i/lub dysartria) ani zaburzeń oddychania.

Za chodzących samodzielnie uznano chorych, którzy są w stanie wykonać 4 lub więcej kroków bez pomocy (sprzętu lub drugiej osoby). Sprawność ruchową chorych oceniono szczegółowo za pomocą skal funkcjonalnych: ocenę w HFMSE przeprowadzono u wszystkich 35 osób z grupy badanej, w CHOP-INTEND dodatkowo u 19 osób nie chodzących samodzielnie.

Zgodnie z charakterystyką postaci klinicznych choroby, najmniejszy zakres sprawności ruchowej (ocenionej w skalach funkcjonalnych) wykazywali chorzy z SMA typu 2, a największy zakres z SMA typu 4.

Nie stwierdzono istotnych różnic w wynikach skal funkcjonalnych między kobietami i mężczyznami chorymi na SMA (tab. 5)

Tabela 5. Porównanie wyników skal funkcjonalnych między kobietami i mężczyznami w grupie chorych na SMA

	Grupa chorych na SMA: Kobiety					Grupa chorych na SMA: Mężczyźni					P
	n	zakres	Q1	M	Q3	n	zakres	Q1	M	Q3	
CHOP-INTEND [liczba punktów]	8	2-61	3	18	42	11	18-51	23	30	47	0,678
HFMSE [liczba punktów]	15	27-49	46	42	46	20	2-63	6	19,5	37,5	0,856

Na podstawie wywiadu oraz dostępnej dokumentacji medycznej u chorych ustalono dane dotyczące występowania chorób współistniejących oraz przewlekłego stosowania leków.

U ponad połowy chorych (n = 18, 51%) stwierdzono skoliozę, w tym 6 osób przebyło jej korekcję operacyjną.

Objawy ze strony innych układów i schorzenia współistniejące w grupie chorych przedstawiono w tabeli 6. Z powodu tych schorzeń 4 osoby stosowały regularnie leki hipotensyjne (inhibitory konwertazy angiotensyny, blokery kanały wapniowego), 3 osoby - antyarytmiczne (beta-blokery), 2 osoby - lewotyroksynę i 1 - metforminę.

Tabela 6. Objawy ze strony innych układów/schorzenia współistniejące w grupie chorych na SMA

Choroba współistniejąca	n (%)
Układ kostny	
przebyte złamanie kości	5 (14,3)
Układ sercowo-naczyniowy	
nadciśnienie tętnicze	4 (11,4)
zaburzenia rytmu serca (tachykardia/bradykardia)	3 (8,6)
Układ pokarmowy i stan odżywienia	
nadwaga/otyłość (BMI>25)	9 (25,7)
niedowaga - BMI <18,5	9 (25,7)
kamica żółciowa / stan po cholecystektomii	2 (5,7)
cukrzyca t.2 / insulinooporność	1 (2,9)
Układ hormonalny	
niedoczynność tarczycy	2 (5,7)
Układ moczowy	
kamica nerkowa	3 (8,6)

30 chorych z grupy badanej zostało zakwalifikowanych do terapii nusinersenem lub rysdyplamem w ramach programu lekowego B102.FM; badania przeprowadzono u nich przed rozpoczęciem leczenia. U 5 chorych terapię nusinersenem rozpoczęto wcześniej (1 do 26 miesięcy, średnia 14,6) w ramach programu w innym ośrodku; do grupy badanej zostali włączeni po przejściu pod opiekę Kliniki Neurologii (w związku ze zmianą miejsca zamieszkania lub osiągnięciem 18 roku życia i zakończeniem leczenia w Oddziale Neurologii Dziecięcej).

5.1.4. EMG i neurografia

U chorych z grupy badanej przeprowadzono badanie EMG oraz przewodnictwa nerwowego, których wyniki zostały opublikowane w odrębnych doniesieniach [239] [288].

Badanie EMG u wszystkich chorych wykazało cechy uszkodzenia motoneuronów alfa w postaci zwiększenia parametrów jednostek ruchowych.

W badaniu przewodnictwa ruchowego stwierdzono wydłużenie latencji końcowej oraz zmniejszenie amplitudy potencjałów ruchowych, wskazujące na przebudowę struktury nerwów ruchowych. Ponadto u chorych z wynikiem poniżej 10 punktów w skali HFMSE zaobserwowano dodatkowo zmniejszenie szybkości przewodzenia we włóknach ruchowych sugerujące ich niewielką demielinizację [239].

Standardowe badanie przewodnictwa czuciowego i z wykorzystaniem metody QST (ang. *quantitative sensory testing*) wykazało niewielkie zmiany głównie w obrębie włókien A-delta i C [288].

5.1.5. Badania laboratoryjne

Jako potencjalne markery biochemiczne aktywności SMA oznaczono w grupie badanej stężenie kinazy kreatynowej (CK) i kreatyniny w surowicy krwi. Za wartości prawidłowe (określone w normach laboratoryjnych) dla stężenia CK przyjęto 0-145 U/L dla kobiet i 0-171 U/L dla mężczyzn, a kreatyniny 0,55-1,02 mg/dl dla kobiet i 0,73-1,18 mg/dl dla mężczyzn. Wyniki badań w grupie chorych przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Wartości stężenia CK i kreatyniny w grupie chorych na SMA

Parametr laboratoryjny	Wynik
Kinaza kreatynowa (CK) [U/L], n=35	
średnia ± SD (zakres)	397,8 ± 584,6 (19,0 – 2860,0)
wynik prawidłowy: n (%)	17 (48,57)
podwyższony poziom: n (%)	18 (51,43)
Kreatynina [mg/dl], n=35	
średnia ± SD (zakres)	0,4 ± 0,16 (0,24 – 1,04)
wynik prawidłowy: n (%)	1 (2,9)
obniżony poziom: n (%)	34 (97,1)

5.1.6. Badania neuroobrazowe

W celu wstępnego wykluczenia zmian w OUN u wszystkich chorych przeprowadzono badanie obrazowe mózgowia: u 33 badanie MR, u 2 TK (z powodu przeciwwskazań do MR). U 1 pacjentki z SMA badanie MR wykazało obecność mikrogruczolaka przysadki (po konsultacji endokrynologicznej nie stwierdzono klinicznych ani laboratoryjnych cech jego aktywności hormonalnej). U pozostałych 34 chorych w badaniach obrazowych nie stwierdzono zmian strukturalnych w mózgowiu.

5.1.7. Badanie funkcji poznawczych

U wszystkich chorych przeprowadzono także przesiewową ocenę funkcji poznawczych przy użyciu Montrealskiej Skali Oceny Funkcji Poznawczych (MoCA). Uzyskane wyniki (zakres 26-30 pkt, średnia 28,3) u wszystkich badanych mieściły się w granicach normy.

5.1.8. Ocena jakości życia

Wyniki kwestionariusza WHO-QOL BREF w grupie chorych i kontrolnej porównano w zakresie 26 szczegółowych pytań oraz w zakresie domen: somatycznej, psychologicznej, socjalnej i środowiskowej oraz przedstawiono w tabeli 8.

W grupie chorych na SMA w porównaniu do grupy kontrolnej uzyskano istotnie niższą medianę wyniku dla następujących pytań:

2. „Czy jest Pani/Pan zadowolony ze swojego zdrowia?”
3. „Jak bardzo ból fizyczny przeszkadzał Pani/Panu robić to, co Pan/Pani powinna/powinien?”
4. „W jakim stopniu potrzebuje Pani/Pan leczenia medycznego do codziennego funkcjonowania?”
11. „Czy jest Pani/Pan w stanie zaakceptować swój wygląd fizyczny?”
17. „W jakim stopniu jest Pani/Pan zadowolona/y ze swojej wydolności w życiu codziennym?”
18. „W jakim stopniu jest Pani/Pan zadowolona/y ze swojej zdolności (gotowości) do pracy?”
21. „Czy jest Pani/Pan zadowolona/y ze swojego życia intymnego?”

Natomiast istotnie wyższą medianę wyniku w grupie chorych na SMA uzyskano dla pytania:

24. „Jak bardzo jest Pani/Pan zadowolona/y z placówek służby zdrowia?”

Nie wykazano istotnych różnic między grupą chorych a kontrolną przy porównaniu median sum wyników dla głównych domen kwestionariusza WHO-QOL BREF (tab. 9)

Tabela 8. Wyniki kwestionariusza WHO-QOL-BREF w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej - szczegółowe pytania

Nr pytania wg kwestionariusza WHO-QOL i oceniany parametr	Grupa chorych na SMA (n=35)				Grupa kontrolna (n=36)				p
	zakres	Q1	M	Q3	zakres	Q1	M	Q3	
I. Samoocena zdrowia fizycznego (domena somatyczna)									
3. Ból fizyczny	2-5	3	4	5	2-5	4	5	5	0,025
4. Potrzeba korzystania z leczenia	1-5	1	2	3	2-5	4	5	5	< 0,001
10. Poziom energii w codziennym życiu	1-5	3	3	4	1-5	3	4	4	0,146
15. Uczucie dyskomfortu w codziennym życiu	1-5	3	3	4	2-5	3	4	4	0,086
16. Jakość snu	1-5	3	4	5	1-5	3	3,5	4	0,407
17. Zdolność do wykonywania codziennych czynności	1-5	2	3	4	2-5	3	4	4	0,006
18. Zdolność do pracy	2-5	2	3	4	2-5	4	4	4	0,019
II. Samoocena psychologiczna (domena psychologiczna)									
5. Pozytywne uczucia	2-5	3	4	4	1-5	3	4	4	0,363
6. Poczucie własnej wartości	1-5	3	4	5	1-5	4	4	5	0,635
7. Koncentracja uwagi	2-5	4	4	5	2-5	3,5	4	4	0,150
11. Wygląd fizyczny	2-5	3	4	4	2-5	4	4	5	0,008
19. Zadowolenie z samego siebie	2-5	3	4	4	2-5	3,5	4	5	0,122
26. Negatywne uczucia	2-5	3	4	4	3-5	4	4	4	0,660
III. Samoocena relacji społecznych (domena społeczna)									
20. Osobiste relacje z innymi osobami	2-5	4	4	4	2-5	3	4	4	0,205
21. Życie intymne	1-5	2	3	4	2-5	3	4	5	0,003
22. Wsparcie społeczne	2-5	3	4	5	2-5	3,5	4	4	0,333
IV. Samoocena czynników środowiskowych (domena środowiskowa)									
8. Poczucie bezpieczeństwa	2-5	3	4	5	2-5	4	4	5	0,236
9. Wsparcie ze strony otoczenia	2-5	3	4	4	1-5	3	3	4	0,109
12. Zasoby finansowe	1-5	3	3	4	1-5	3	3,5	4	0,407
13. Możliwość zdobycia nowych informacji	2-5	4	4	5	3-5	4	4	5	0,941
14. Możliwość realizacji własnych zainteresowań	2-5	3	4	4	1-5	3	4	4	0,968
23. Warunki mieszkaniowe	2-5	4	4	5	1-5	3,5	4	5	0,824
24. Placówki ochrony zdrowia	1-5	3	4	4	1-5	2	3	3	< 0,001
25. Transport	1-5	3	3	4	1-5	3	3	4	0,771
Ogólna ocena jakości życia i stanu zdrowia									
1. Ogólna samoocena jakości życia	2-5	3	4	4	3-5	4	4	4,5	0,181
2. Ogólna samoocena stanu zdrowia	1-5	2	3	4	2-5	4	4	4,5	< 0,001

Tabela 9. Wyniki kwestionariusza WHO-QOL-BREF w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej – główne domeny

WHO-QOL BREF	Grupa chorych na SMA n = 35				Grupa kontrolna n = 36				p
	zakres	Q1	M	Q3	zakres	Q1	M	Q3	
Domena									
I. Domena somatyczna	14-29	20	23	25	16-27	19,5	21,5	24	0,300
II. Domena psychologiczna	14-26	19	22	24	15-27	21	22,5	24	0,440
III. Domena społeczna	7-15	10	12	13	8-15	10,5	12	13	0,461
IV. Domena środowiskowa	20-40	27	30	32	23-36	26	29	32	0,328

5.2. Wyniki badań elektrofizjologicznych

5.2.1. Badanie EEG

Badanie EEG wykonano u wszystkich 35 pacjentów z SMA. Analizowano zapis rejestrowany w spoczynku oraz podczas prób aktywacyjnych (fotostymulacji i hiperwentylacji). U wszystkich pacjentów zapis spoczynkowy był prawidłowy. Średnia częstotliwość fal alfa dominujących w czynności podstawowej wynosiła 9,9 Hz (zakres 9-12 Hz, SD 1,14).

Nieprawidłowości w zapisie EEG w trakcie prób aktywacyjnych stwierdzono u 4 osób z grupy badanej (11,4%):

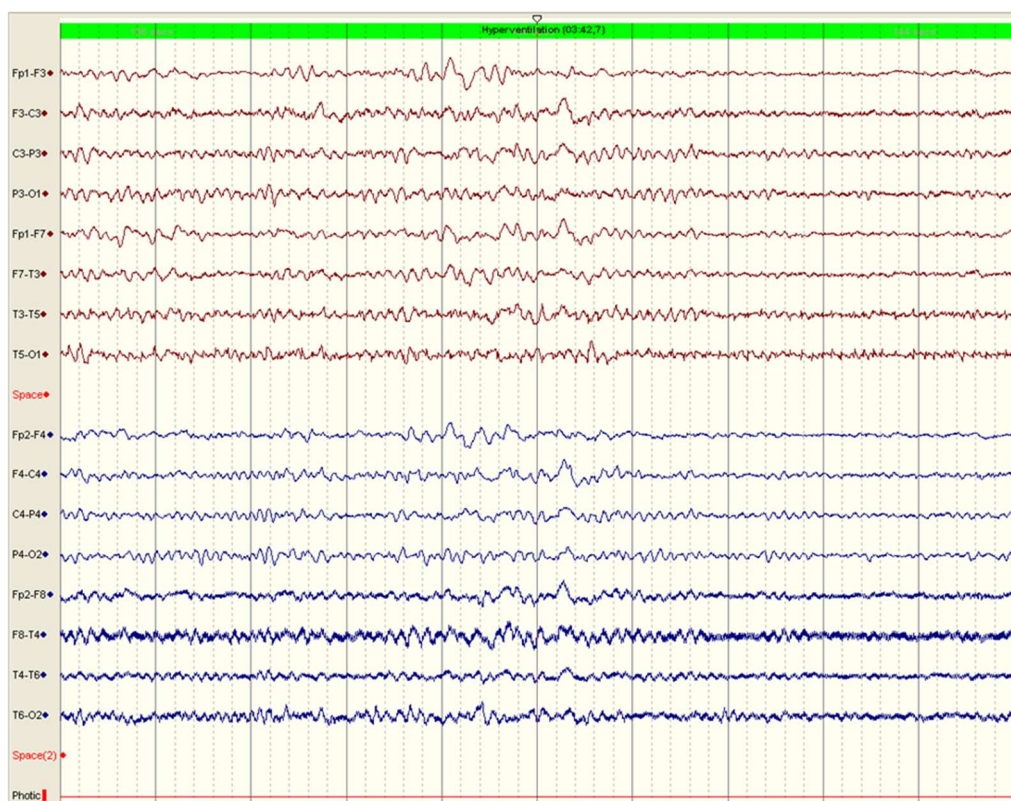
- 1) 25-letni mężczyzna z SMA typu 3: nieliczne uogólnione grupy fal theta o wyższej od tła amplitudzie (ryc. 2 a i b).
- 2) 18-letnia kobieta z SMA typu 2: obustronnie w odprowadzeniach czołowo-skroniowych i potylicznych grupy fal theta o amplitudzie tła lub wyższej i zaokrąglonych wierzchołkach (ryc. 3 a i b)
- 3) 18-letnia kobieta z SMA typu 3: obustronne niezbyt liczne grupy fal theta oraz sporadyczne pojedyncze fale ostre
- 4) 33-letnia kobieta z SMA typu 3: nieliczne napadowe grupy fal wolnych w lewej półkuli z propagacją do prawej półkuli, sprowokowane fotostymulacją.

U wszystkich wymienionych pacjentów wywiad w kierunku zaburzeń świadomości lub incydentów napadowych był ujemny.

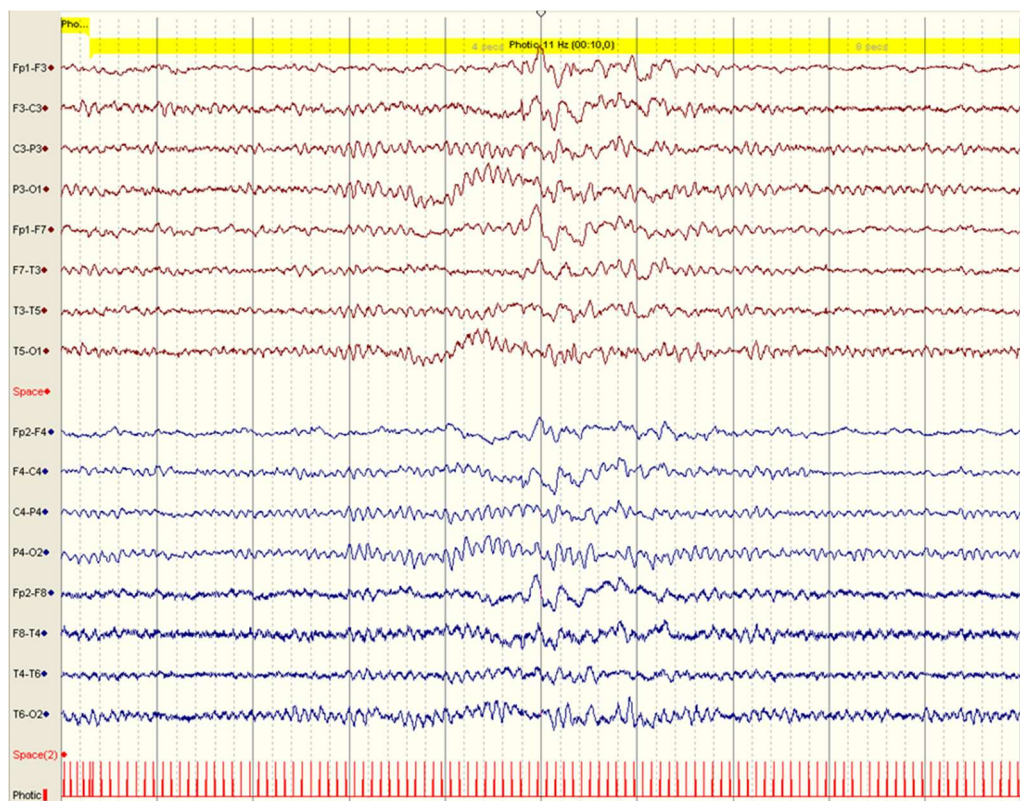
U 28 (80%) chorych z SMA zapis EEG obarczony był artefaktami mięśniowymi (ryc. 4).

Rycina 2. Zapis EEG u 25-letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronne grupy napadowych fal theta podczas hiperwentylacji (a) i fotostymulacji (b)

a)

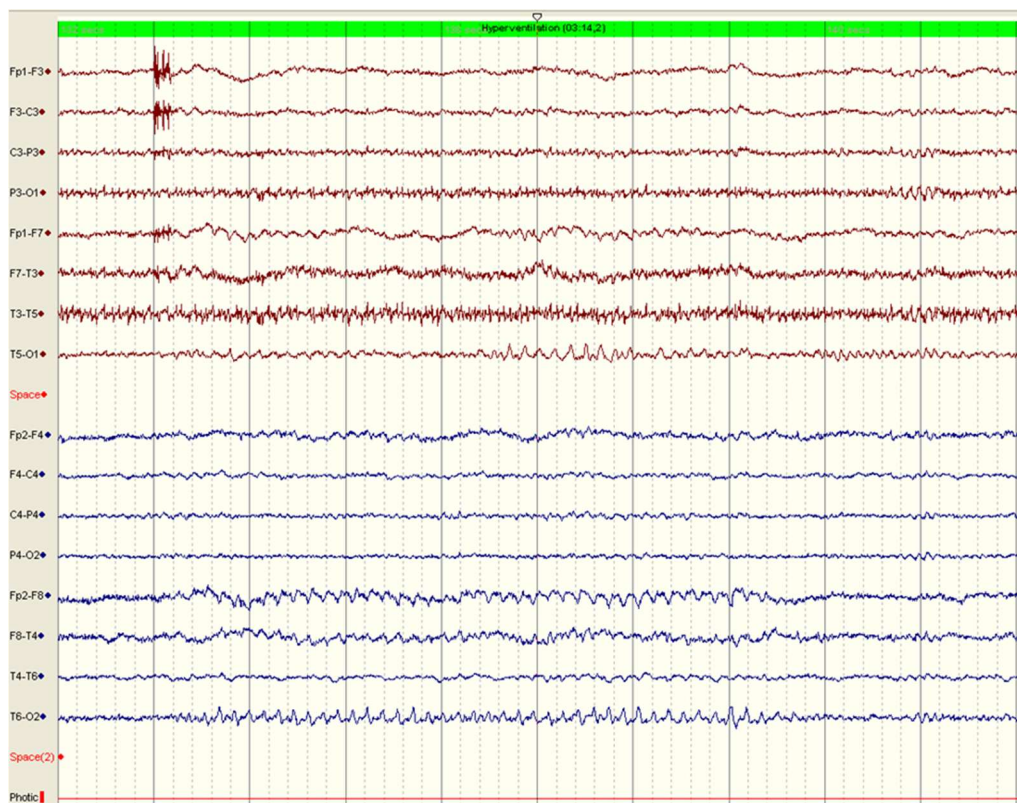


b)

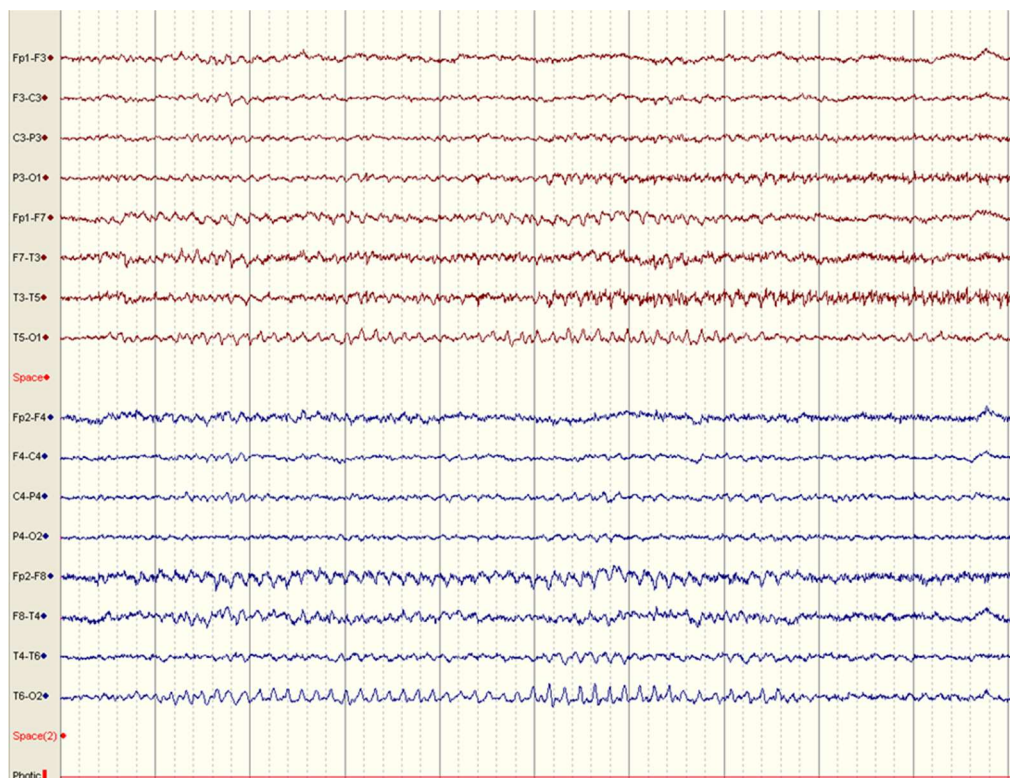


Rycina 3. Zapis EEG u 18-letniej kobiety z SMA typu 2: obustronnie w odprowadzeniach czołowo-skroniowych i potylicznych grupy fal theta (7 Hz) o amplitudzie tła lub wyższej i zaokrąglonych wierzchołkach w czasie hiperwentylacji (a) oraz po jej zakończeniu (b)

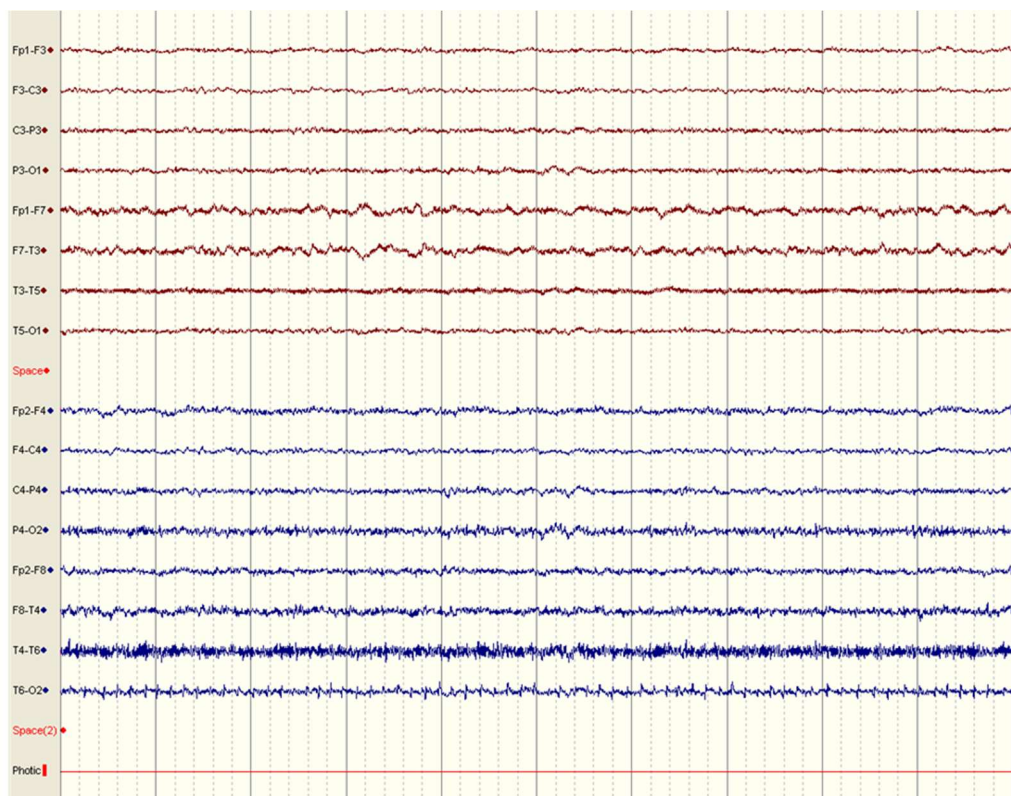
a)



b)



Rycina 4. Artefakty mięśniowe w zapisie EEG u 36-letniej kobiety z SMA typu 3



5.2.2. Wzrokowe potencjały wywołane (VEP)

W oparciu o wyniki badań uzyskane w grupie kontrolnej wyznaczono zakres wartości normatywnych dla latencji i latencji względnej (OL-OP) załamek P100 VEP (tab.10) (rozdział: 4.1.1.).

Tabela 10. Wartości normatywne dla latencji i latencji względnej P100 VEP

Latencja (ms)	Średnia \pm SD	Górna granica normy (średnia + 2,5 SD)
P100	102,9 \pm 4,2	113,4
P100 OL-OP	2,08 \pm 1,56	5,98

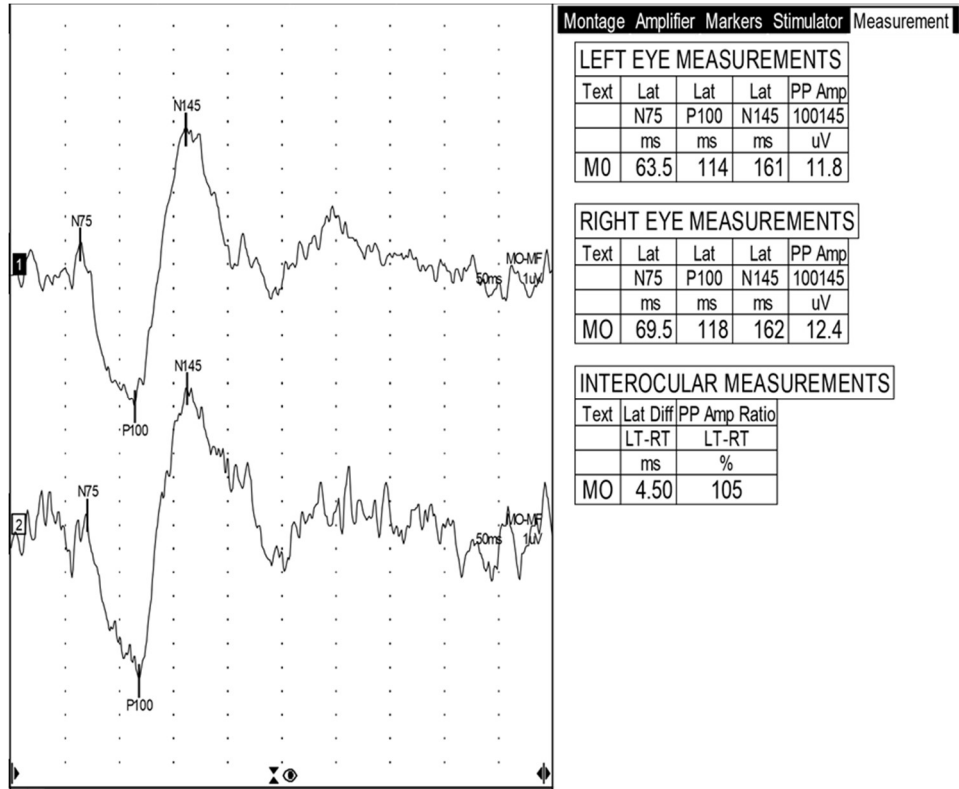
Na podstawie powyższych wartości normatywnych latencji oraz kryteriów przyjętych dla oceny amplitudy P100 (rozdział 4.4.1.), ustalono liczbę i odsetek nieprawidłowych wyników VEP w grupie badanej.

Odpowiedź VEP zarejestrowano u wszystkich 35 chorych na SMA.

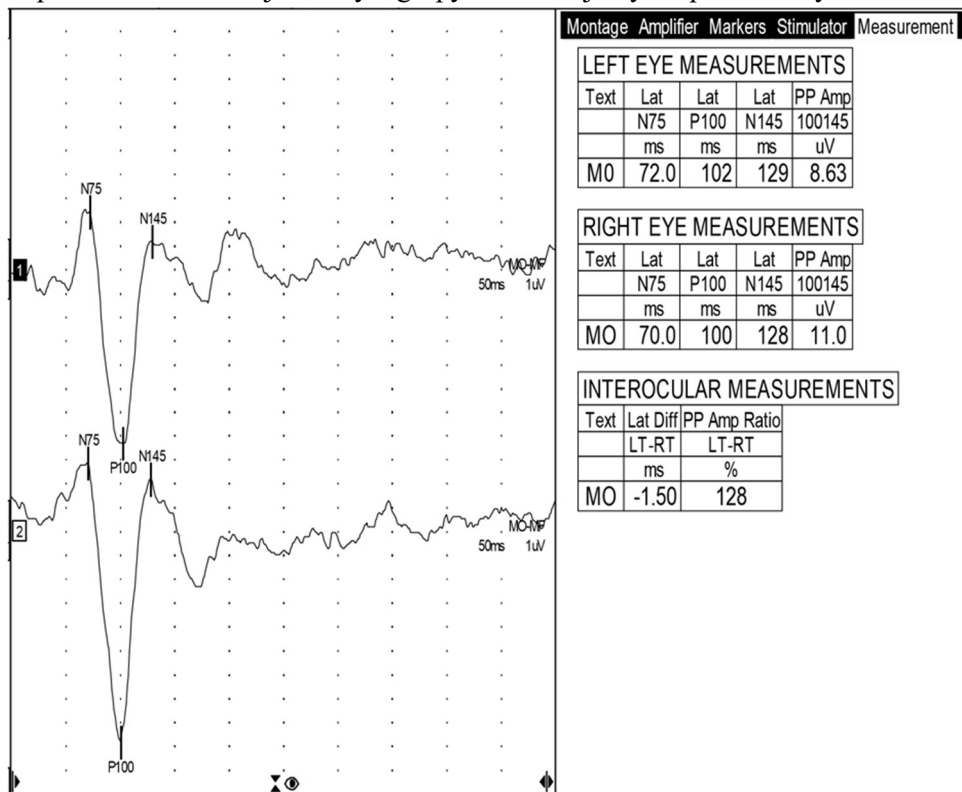
Nieprawidłowe wyniki VEP (amplitudy i/lub latencje) stwierdzono łącznie u 12 osób (34,3%) z grupy badanej, w tym nieprawidłowe latencje - u 10 chorych (28,6%). Jednostronnie wydłużoną latencję P100 stwierdzono u 5 chorych (14,3%) , obustronnie wydłużoną latencję P100 – u 2 (5,7%), wydłużoną latencję względną - u 5 (14,3%), a nieprawidłowe amplitudy – u 2 (5,7%).

Przykłady zapisów VEP w grupie chorych i grupie kontrolnej przedstawiono na rycinach 5 i 6.

Rycina 5. Zapis VEP u 27- letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronnie wydłużone latencje P100



Rycina 6. Zapis VEP u 40-letniej kobiety z grupy kontrolnej: wynik prawidłowy



Przy porównaniu median analizowanych parametrów VEP (uśrednionych dla OP i OL) w grupie chorych i kontrolnej, stwierdzono w grupie chorych istotnie wyższą medianę latencji względnej P100 oraz tendencję do wydłużenia latencji N75. Nie wykazano istotnych różnic między grupami dla pozostałych parametrów VEP.

Tabela 11. Porównanie parametrów VEP w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej

VEP	Grupa chorych na SMA n = 35					Grupa kontrolna n = 36					p
	min.	max.	Q1	M	Q3	min.	max.	Q1	M	Q3	
Latencja (ms)											
N75	54,3	91,8	65,8	73,8	78,5	61	86	66,8	68,9	73	<u>0,072</u>
P100	92,8	118	101	105	110	93,8	113	100	102,8	105,8	0,109
N145	126,5	161,5	135	145	152,5	123	177	137,5	148,3	155,8	0,426
P100 OL-OP	0,5	12,5	1,5	3	4,5	0	7	1	2	2,75	0,012
Amplituda (µV)											
P100/N145	3,8	19,2	7,3	10,3	15	3,3	23,6	8	11	13	0,668

5.2.3. Słuchowe pniowe potencjały wywołane (BAEP)

W oparciu o wyniki badań uzyskane w grupie kontrolnej wyznaczono zakres wartości normatywnych dla latencji składowych BAEP (tab.12) (rozdział: 4.4.1.).

Tabela 12. Wartości normatywne dla latencji składowych BAEP

Latencja	Średnia ± SD	Górna granica normy (średnia + 2,5 SD)
I	1,67 ± 0,13	2,00
III	3,82 ± 0,13	4,15
V	5,71 ± 0,22	6,26
I-III	2,15 ± 0,1	2,40
III-V	1,89 ± 0,18	2,34
I-V	4,04 ± 0,19	4,52

Na podstawie powyższych wartości normatywnych latencji oraz kryteriów przyjętych dla oceny amplitud składowych BAEP (rozdział 4.4.1.), ustalono liczbę i odsetek nieprawidłowych wyników BAEP w grupie badanej.

BAEP zarejestrowano u wszystkich chorych na SMA.

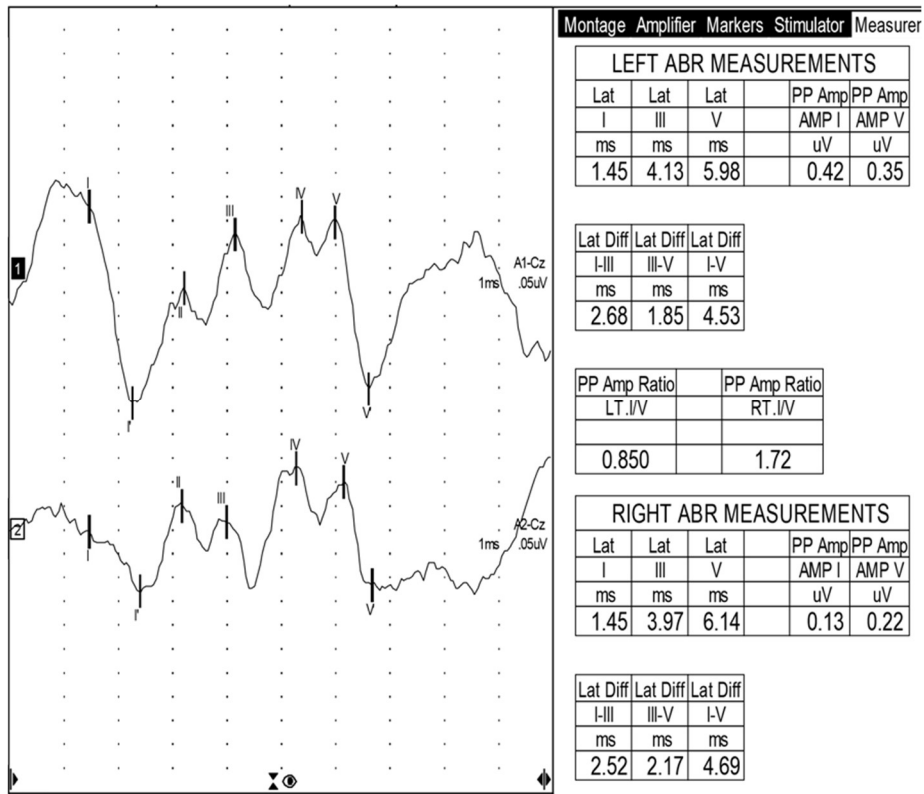
Nieprawidłowe wyniki BAEP stwierdzono łącznie u 10 (28,6%) osób. (szczegółowe zestawienie w tab.13).

Przykłady zapisów BAEP w grupie chorych i grupie kontrolnej przedstawiono na rycinach 7 i 8.

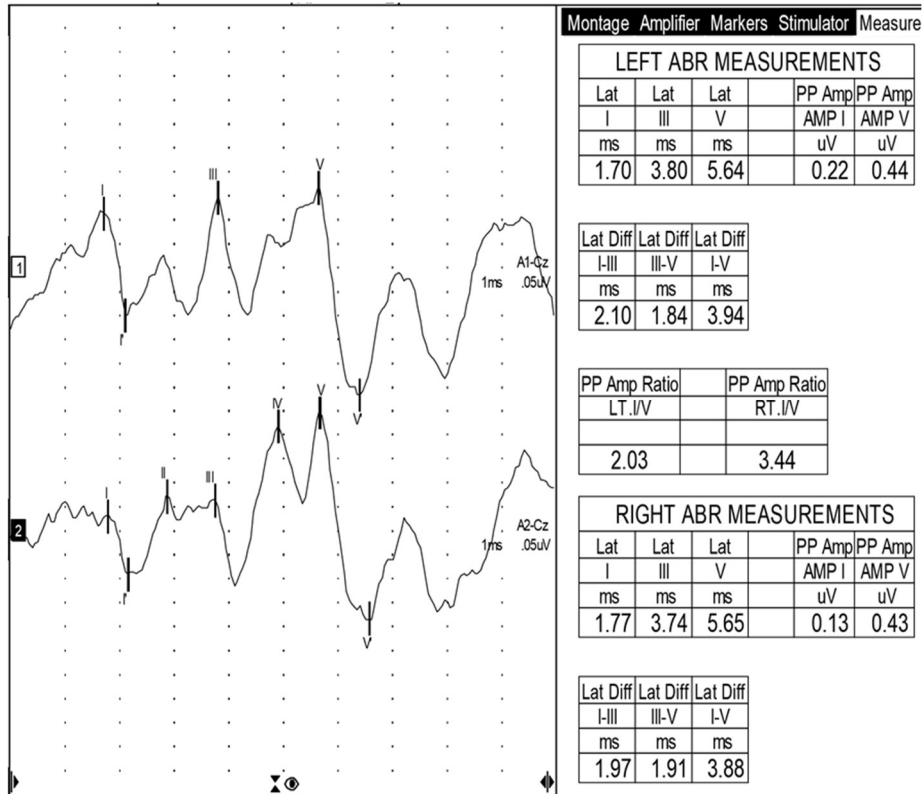
Tabela 13. Nieprawidłowe parametry BAEP w grupie chorych na SMA

BAEP	Grupa chorych na SMA (n=35)
Nieprawidłowe latencje:	n (%)
I - wydłużone obustronnie	1 (2,9)
III - wydłużone jednostronnie	2 (5,7)
III - wydłużone obustronnie	1 (2,9)
V - wydłużone jednostronnie	1 (2,9)
I - III - wydłużone jednostronnie	3 (8,6)
I - III - wydłużone obustronnie	2 (5,7)
III - V - wydłużone jednostronnie	2 (5,7)
I - V - wydłużone jednostronnie	3 (8,6)
Razem: liczba pacjentów z nieprawidłowymi latencjami	9 (25,7)
Nieprawidłowe amplitudy	2 (5,7)
Razem: liczba pacjentów z nieprawidłowymi latencjami i/lub amplitudami	10 (28,6)

Rycina 7. Zapis BAEP u 47- letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronnie wydłużone interlatencje I-III oraz I-V



Rycina 8. Zapis BAEP u 27-letniej kobiety z grupy kontrolnej: wynik prawidłowy



Przy porównaniu median analizowanych parametrów BAEP (uśrednionych dla prawej i lewej strony) w grupie chorych i kontrolnej stwierdzono w grupie chorych na SMA istotnie dłuższą latencję załamka V oraz istotnie niższą amplitudę załamka I i V; zaobserwowano ponadto tendencję statystyczną do wydłużenia latencji załamka I. Dla pozostałych parametrów BAEP nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupami (tab. 14).

Tabela 14. Porównanie parametrów BAEP w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej

BAEP	Grupa chorych na SMA n=35					Grupa kontrolna n=36					P
	min.	max.	Q1	M	Q3	min.	max.	Q1	M	Q3	
Latencja (ms)											
I	1,49	2,09	1,66	1,73	1,81	1,39	1,9	1,58	1,66	1,77	<u>0,076</u>
III	3,54	4,25	3,73	3,93	4,01	3,59	4,11	3,73	3,82	3,93	0,094
V	5,23	6,18	5,65	5,86	5,98	5,28	6,19	5,53	5,73	5,86	0,030
I-III	1,77	2,56	2,05	2,19	2,3	1,94	2,39	2,07	2,16	2,23	0,461
III-V	1,67	2,28	1,82	1,93	2,02	1,55	2,25	1,77	1,89	2,05	0,363
I-V	3,5	4,57	3,88	4,16	4,28	3,63	4,42	3,92	4,02	4,16	0,245
Amplituda (µV)											
I	0,075	0,3	0,13	0,175	0,25	0,115	0,475	0,225	0,275	0,353	< 0,001
V	0,09	0,675	0,25	0,32	0,445	0,185	0,755	0,293	0,423	0,515	0,033

5.2.4. Somatoczućciowe potencjały wywołane (SSEP)

W oparciu o wyniki badań uzyskane w grupie kontrolnej wyznaczono zakres wartości normatywnych dla latencji składowych SSEP (tab.15) (rozdział 4.4.1.)

Tabela 15. Wartości normatywne dla latencji składowych SSEP

Latencja	Średnia ± SD	Górna granica normy (średnia + 2,5 SD)
N20	19,10 ± 1,04	21,69
P22	21,83 ± 1,12	24,62
N13	13,17 ± 1,22	16,23
P16	16,51 ± 1,16	19,41
N9	9,89 ± 0,93	12,20
P10	11,44 ± 1,01	13,96
N9-N13	3,28 ± 0,64	4,87
N9-N20	9,21 ± 0,63	10,78
TT (N13-N20)	5,93 ± 0,73	7,75

Na podstawie powyższych wartości normatywnych oraz kryteriów przyjętych dla oceny amplitud składowych SSEP (rozdział 4.4.1), ustalono liczbę i odsetek nieprawidłowych wyników SSEP w grupie badanej .

SSEP zarejestrowano u wszystkich chorych z grupy SMA.

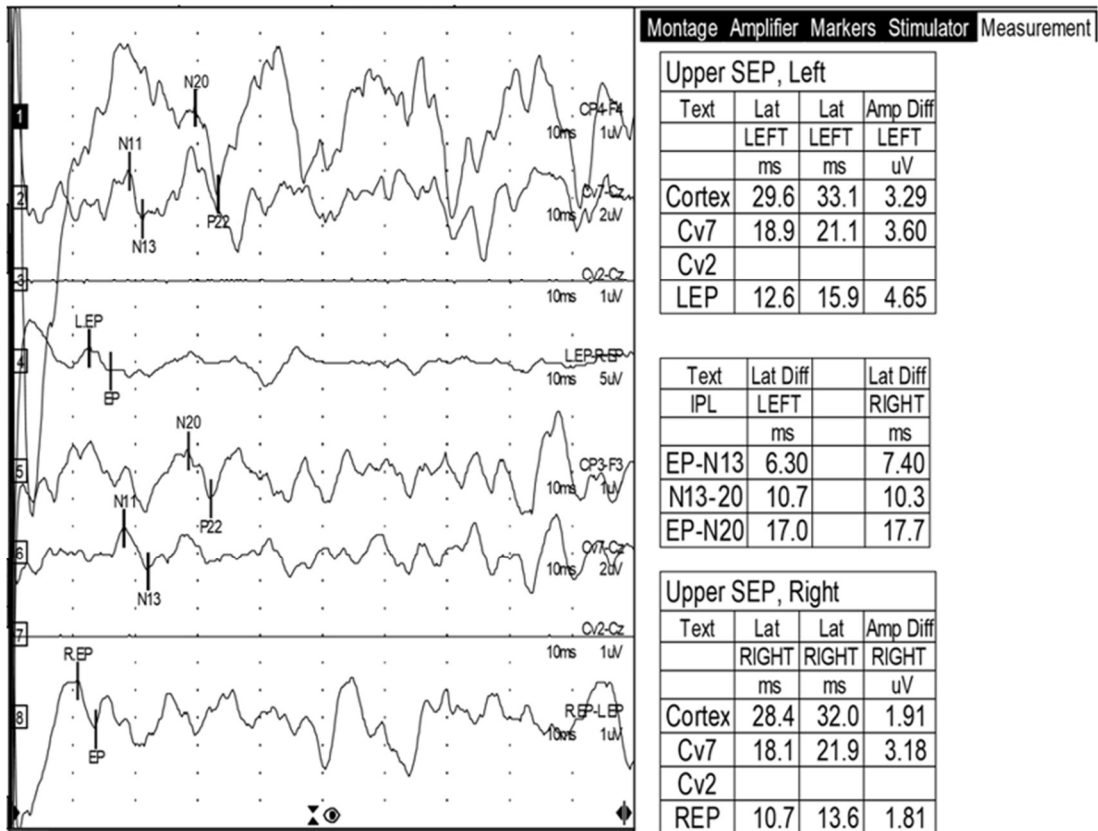
Nieprawidłowe wyniki uzyskano łącznie u 17 (62,9%) osób (szczegółowe zestawienie przedstawiono w Tab. 16).

Przykłady zapisu SSEP w grupie chorych i grupie kontrolnej przedstawiono na rycinach 9, 10 i 11.

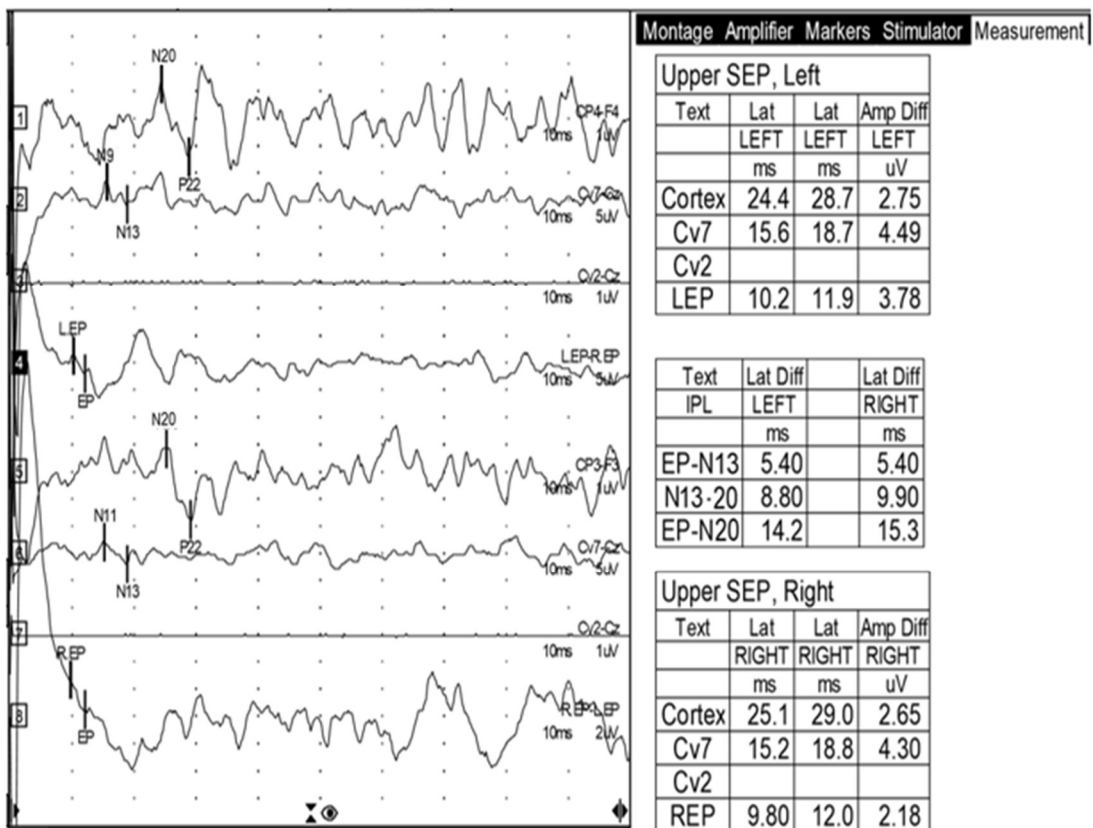
Tabela 16. Nieprawidłowe parametry SSEP w grupie chorych na SMA

SSEP	Grupa chorych na SMA (n=35)
	n (%)
Nieprawidłowe latencje:	
N20 - wydłużone jednostronnie	5 (14,3)
N20 - wydłużone obustronnie	6 (17,1)
P22 - wydłużone jednostronnie	4 (11,4)
P22 - wydłużone obustronnie	5 (14,3)
N13 - wydłużone jednostronnie	1 (2,9)
N13 - wydłużone obustronnie	1 (2,9)
P16 - wydłużone jednostronnie	2 (5,7)
P16 - wydłużone obustronnie	1 (2,9)
N9 - wydłużone jednostronnie	1 (2,9)
P10 - wydłużone jednostronnie	1 (2,9)
N9-N13 - wydłużone jednostronnie	4 (11,4)
N9-N13 - wydłużone obustronnie	8 (22,9)
N9-N20 - wydłużone jednostronnie	7 (20)
N9-N20 - wydłużone obustronnie	10 (28,6)
TT [N13-N20] - wydłużone jednostronnie	3 (8,6)
TT [N13-N20] - wydłużone obustronnie	4 (11,4)
Razem: liczba pacjentów z nieprawidłowymi latencjami	20 (57,1)
Nieprawidłowe amplitudy	
amp. N20/P22	9 (25,7)
amp. N13/P16	9 (25,7)
amp. N9/P10	11 (31,4)
Nieprawidłowe amplitudy równocześnie dla min. 2 załamek	8 (22,9)
Razem: liczba pacjentów z nieprawidłowymi latencjami i/lub amplitudami	22 (62,9)

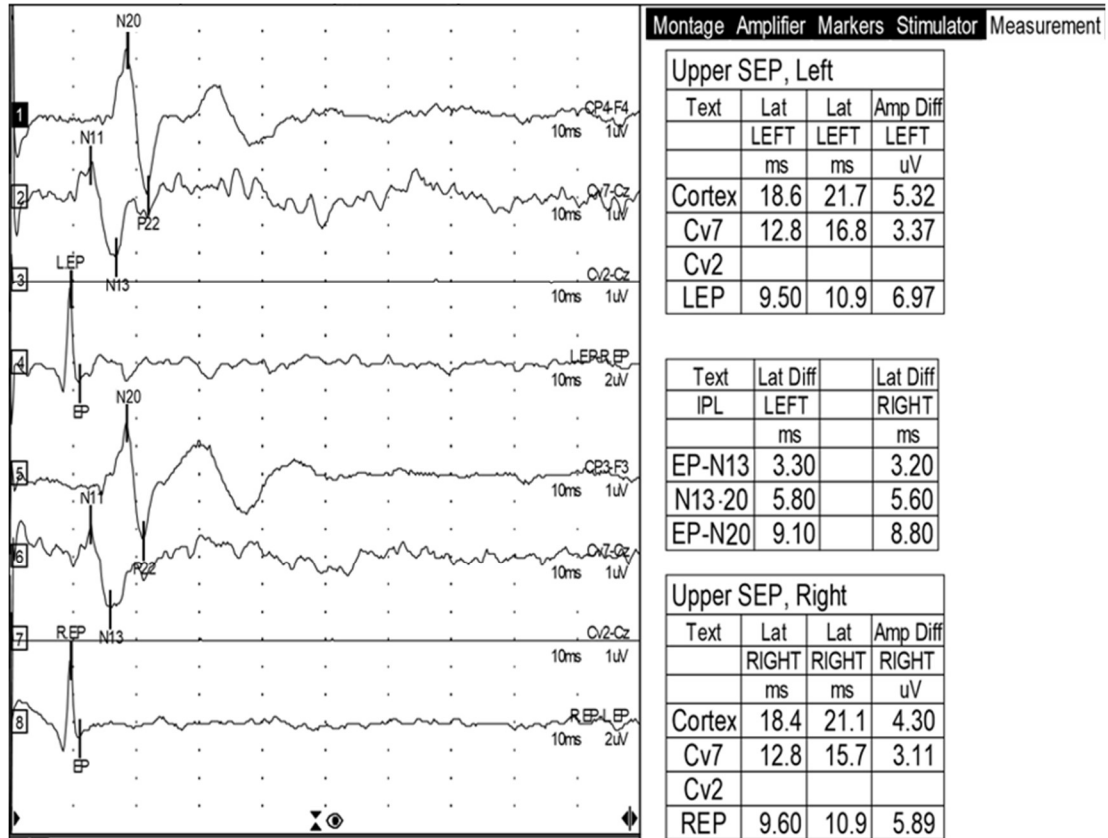
Rycina 9. Zapis SSEP u 37-letniego mężczyzny z SMA typu 2: obustronnie wydłużone latencje wszystkich załamek oraz interlatencje



Rycina 10. Zapis SSEP u 38-letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronnie wydłużone latencje N20 i P22 oraz wszystkie interlatencje



Rycina 11. SSEP u 31-letniego mężczyzny z grupy kontrolnej: wynik prawidłowy



Przy porównaniu median analizowanych parametrów SSEP (uśrednionych dla prawej i lewej strony) w grupie chorych i kontrolnej stwierdzono w grupie chorych na SMA istotnie dłuższą latencję załamka N20 oraz interlatencje N9-N13 i N9-N20, a także istotnie wyższą amplitudę N20/P22. Zaobserwowano ponadto tendencję do wydłużenia latencji N9 ($p=0,074$) i parametru TT ($p=0,06$) oraz wyższej amplitudy N13/P16 ($p=0,054$) w grupie chorych.

Dla pozostałych parametrów SSEP nie wykazano istotnych statystycznie różnic między grupami (tab. 17).

Tabela 17. Porównanie parametrów SSEP w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej

SSEP	Grupa chorych na SMA n=35					Grupa kontrolna n=36					P
	min.	max.	Q1	M	Q3	min.	max.	Q1	M	Q3	
Latencja (ms)											
N20	17,10	29,00	18,85	19,65	21,45	17,30	21,25	18,28	19,00	19,93	0,049
P22	20,00	32,55	21,05	21,95	24,35	19,85	24,55	20,95	21,73	22,83	0,120
N13	10,70	18,50	12,45	13,90	14,70	10,45	15,20	12,23	13,43	14,23	0,109
P16	13,70	21,50	15,25	16,20	18,00	14,75	18,65	15,55	16,43	17,60	<u>0,710</u>
N9	6,85	11,65	8,65	9,40	10,15	8,40	12,00	9,08	9,95	10,70	<u>0,074</u>
P10	8,25	14,75	10,40	11,15	11,65	9,90	13,65	10,48	11,40	12,43	0,274
N9-N13	2,55	6,85	3,35	4,30	5,25	1,55	5,00	2,98	3,35	3,65	< 0,001
N9-N20	8,15	17,35	9,40	10,30	12,35	7,90	11,65	8,88	9,08	9,48	< 0,001
TT (N13-N20)	4,30	10,50	5,70	6,20	7,00	4,00	8,20	5,45	5,88	6,18	<u>0,060</u>
Amplituda (µV)											
N20/P22	0,48	5,91	1,19	1,80	2,70	0,09	5,04	0,82	1,25	2,01	<u>0,054</u>
N13/P16	1,21	5,85	1,60	2,67	3,84	0,56	4,20	0,97	1,56	2,62	< 0,001
N9/P10	0,69	10,49	1,89	3,13	4,95	1,20	8,72	1,99	2,91	4,73	0,932

5.3. Zależności między parametrami elektrofizjologicznymi a badanymi czynnikami w grupie chorych na SMA

5.3.1. Czynniki demograficzne

5.2.1.1. EEG

Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy średnią częstotliwością czynności podstawowej EEG a wiekiem chorych na SMA. Nie wykazano istotnej różnicy w średniej częstotliwości czynności podstawowej EEG między podgrupami mężczyzn i kobiet w grupie badanej.

5.2.1.2. Parametry potencjałów wywołanych

Nie wykazano istotnych statystycznie zależności pomiędzy wiekiem chorych na SMA a parametrami VEP i BAEP. Spośród parametrów SSEP stwierdzono jedynie ujemną istotną statystycznie korelację pomiędzy wiekiem a amplitudą N9/P10 ($R = -0,42$, $p=0,012$).

Porównując parametry potencjałów wywołanych między płciami w grupie chorych na SMA, u mężczyzn stwierdzono istotnie dłuższą latencję P100 VEP, istotnie dłuższą latencję załamka V, interlatencje III-V i I-V oraz istotnie obniżoną amplitudę załamka V BAEP, a także istotnie dłuższe latencje załamków N20, P22, N13, P16, N9 i P10 SSEP (tab. 18).

Tabela 18. Porównanie parametrów potencjałów wywołanych między kobietami i mężczyznami w grupie chorych na SMA

	Grupa chorych na SMA: Kobiety n = 15					Grupa chorych na SMA: Mężczyźni n = 20					p
	min.	max.	Q1	M	Q3	min.	max.	Q1	M	Q3	
VEP											
Latencja (ms)											
N75	63	81	64,3	71,5	76	54,3	91,8	67,25	75,6	81,88	0,191
P100	92,8	111,5	97	103	107,5	96,5	118	104	105,5	111	0,033
N145	126,5	159,5	131	144,5	150,5	129	161,5	139,5	145	152,75	0,419
P100 OL-OP	0,5	8	1	2,5	5	0,5	12,5	1,75	3,5	4,5	0,831
Amplituda (µV)											
P100/N145	3,8	16,6	7,3	11,3	15,2	3,8	19,2	6,65	9	12,65	0,564
BAEP											
Latencja (ms)											
I	1,54	1,94	1,66	1,74	1,82	1,49	2,09	1,66	1,71	1,81	0,681
III	3,54	4,25	3,64	3,8	3,99	3,59	4,19	3,9	3,96	4,03	0,05
V	5,23	6,18	5,53	5,65	5,86	5,4	6,14	5,81	5,96	6,02	0,004
I-III	1,79	2,48	1,83	2,05	2,32	1,77	2,56	2,14	2,23	2,29	0,069
III-V	1,67	2,05	1,78	1,87	1,93	1,74	2,28	1,86	2	2,07	0,023
I-V	3,5	4,36	3,74	3,9	4,21	3,59	4,57	4,12	4,23	4,31	0,005
Amplituda (µV)											
I	0,08	0,3	0,15	0,19	0,24	0,08	0,3	0,13	0,16	0,27	0,587
V	0,09	0,68	0,32	0,4	0,51	0,13	0,54	0,22	0,28	0,35	0,011
SSEP											
Latencja (ms)											
N20	17,1	23,85	18,05	18,85	19,2	18,3	29	19,6	20,5	22,13	< 0,001
P22	20	27,6	20,5	21,25	21,95	20,75	32,55	21,85	23,6	25,68	0,002
N13	10,7	15	12	12,45	14	12,25	18,5	13,75	14,25	15,05	0,001
P16	13,7	18,55	14,2	15,3	16,35	13,85	21,5	16,08	17	18,13	0,005
N9	7,15	10,15	8,3	9	9,4	6,85	11,65	9,35	9,8	10,7	< 0,001
P10	8,25	11,55	9,4	10,4	11,35	8,95	14,75	11,1	11,45	12,4	0,002
N9-N13	2,55	5,75	3,25	4,05	5	2,7	6,85	3,9	4,35	5,38	0,2
N9-N20	8,15	14,6	8,85	9,55	11,15	8,95	17,35	9,7	10,58	12,93	<u>0,07</u>
TT (N13-N20)	4,3	8,85	5,6	6,1	6,85	4,95	10,5	5,78	6,55	7,43	0,33
Amplituda (µV)											
N20/P22	0,99	5,91	1,21	1,71	2,73	0,48	4,3	1,1	1,81	2,67	0,52
N13/P16	1,38	5,85	1,9	3,5	4,28	1,21	4,65	1,42	2,62	3,51	0,11
N9/P10	0,69	10,49	2,5	3,57	5,83	0,79	9,86	1,61	2,61	3,84	0,1

5.3.2. Wskaźniki antropometryczne

5.2.1.1. EEG

Nie wykazano istotnych statystycznie zależności pomiędzy średnią częstotliwością czynności podstawowej a czynnikami antropometrycznymi (masa ciała, wzrost, BMI, długość kończyny górnej) w grupie chorych.

5.2.1.2. Parametry potencjałów wywołanych

Nie wykazano istotnych statystycznie zależności pomiędzy parametrami VEP a wskaźnikami antropometrycznymi w grupie chorych.

Analizując zależności między parametrami BAEP a wskaźnikami antropometrycznymi, wykazano istotne statystycznie dodatnie korelacje pomiędzy wzrostem a latencją załamka V ($R=0,39$, $p=0,019$), interlatencją III-V ($R=0,34$, $p=0,042$) oraz interlatencją I-V ($R=0,42$, $p=0,012$).

Istotne statystycznie korelacje pomiędzy parametrami SSEP a wskaźnikami antropometrycznymi przedstawiono w tabeli 19. Dotyczyły one przede wszystkim wzrostu i długości kończyny górnej.

Tabela 19. Zależności pomiędzy parametrami SSEP a wskaźnikami antropometrycznymi

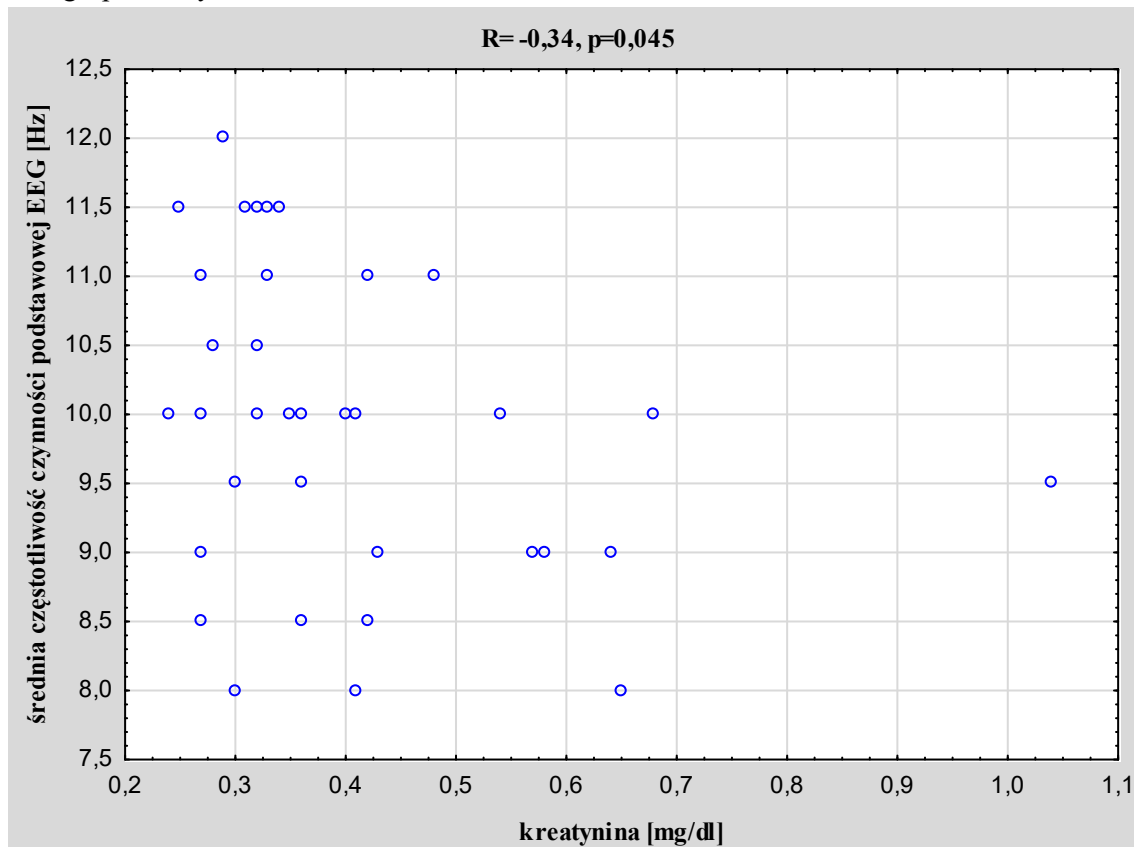
SSEP	Wzrost		Masa ciała		BMI		Długość kończyny górnej	
	R	p	R	p	R	p	R	p
Latencja								
N20	0,28	0,102	0,04	0,811	-0,03	0,862	0,37	0,027
P22	0,19	0,262	-0,01	0,950	-0,05	0,782	0,27	0,124
N13	0,45	0,007	0,21	0,230	0,10	0,549	0,45	0,007
P16	0,48	0,004	0,35	0,040	0,28	0,102	0,47	0,004
N9	0,50	0,002	0,32	0,058	0,22	0,205	0,58	>0,001
P10	0,31	0,069	0,26	0,131	0,24	0,168	0,47	0,005
N9-N13	0,07	0,708	-0,09	0,594	-0,14	0,422	0,02	0,892
N9-N20	-0,06	0,743	-0,22	0,211	-0,24	0,162	0,08	0,649
TT (N13-N20)	-0,22	0,196	-0,37	0,030	-0,37	0,028	0,04	0,832
Amplituda								
N20/P22	-0,18	0,297	-0,19	0,276	-0,11	0,534	-0,31	0,068
N13/P16	-0,11	0,541	-0,06	0,736	0,01	0,958	-0,23	0,189
N9/P10	-0,24	0,165	-0,18	0,300	-0,11	0,517	-0,35	0,036

5.3.3. Czynniki kliniczne

5.3.3.1. EEG

W grupie chorych stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy średnią częstotliwością czynności podstawowej EEG a poziomem kreatyniny w surowicy ($R = -0,34, p=0,045$) (ryc. 12). Nie stwierdzono takiej zależności dla poziomu CK w surowicy.

Rycina 12. Korelacja między poziomem kreatyniny a średnią częstotliwością czynności podstawowej EEG w grupie chorych na SMA



Nie wykazano istotnych zależności między średnią częstotliwością czynności podstawowej EEG a czynnikami genetycznymi (typ SMA, liczba kopii genu *SMN2*), wskaźnikami klinicznymi (czas trwania choroby, ocena w skalach funkcjonalnych) ani oceną jakości życia.

5.3.3.2. Parametry potencjałów wywołanych

a) typ i przebieg SMA

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic parametrów VEP, BAEP i SSEP między podgrupami chorych z poszczególnymi typami SMA.

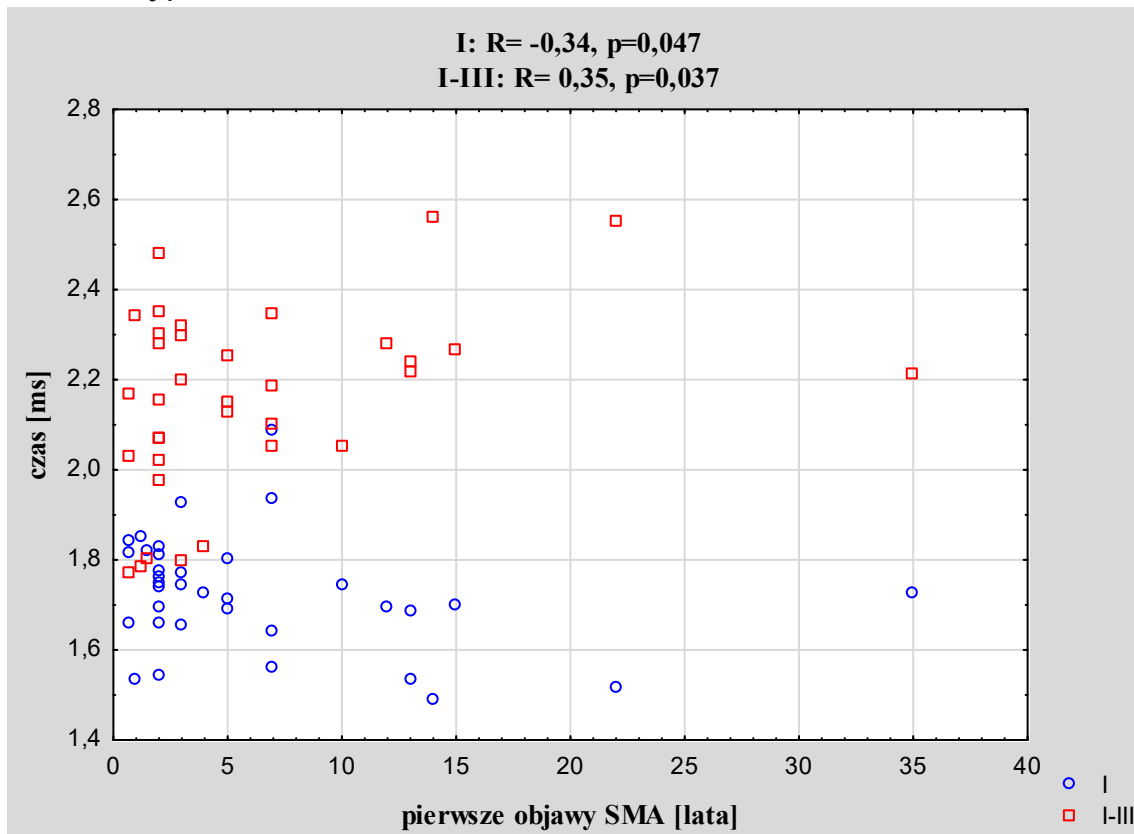
Porównując parametry VEP, BAEP i SSEP między podgrupami chorych różniącymi się liczbą kopii (3 lub 4) genu *SMN2*, w podgrupie z 4 kopiami genu wykazano istotnie dłuższą średnią latencję załamka III (2,23 ms vs 2,11 ms, $p=0,012$) i istotnie niższą średnią amplitudę załamka I (0,16 μV vs 0,2 μV , $p = 0,037$) BAEP oraz tendencję (na granicy istotności) do wydłużenia latencji załamka P16 (17,08 ms vs 16,09 ms, $p = 0,056$) SSEP. Nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie pozostałych parametrów.

Wykazano istotnie statystycznie korelacje pomiędzy parametrami BAEP (latencją załamka I oraz interlatencją I-III) a wiekiem wystąpienia pierwszych objawów choroby (tab. 20, ryc. 13).

Tabela 20. Zależności pomiędzy parametrami BAEP a wiekiem wystąpienia pierwszych objawów SMA

BAEP	Wiek wystąpienia pierwszych objawów SMA	
	R	p
Latencja		
I	-0,34	0,047
III	0,30	0,079
V	0,14	0,421
I-III	0,35	0,037
III-V	0,02	0,926
I-V	0,30	0,077
Amplituda		
I	0,16	0,358
V	-0,08	0,632

Rycina 13. Korelacja między wiekiem wystąpienia pierwszych objawów SMA a latencją załamka I oraz interlatencją I-III BAEP



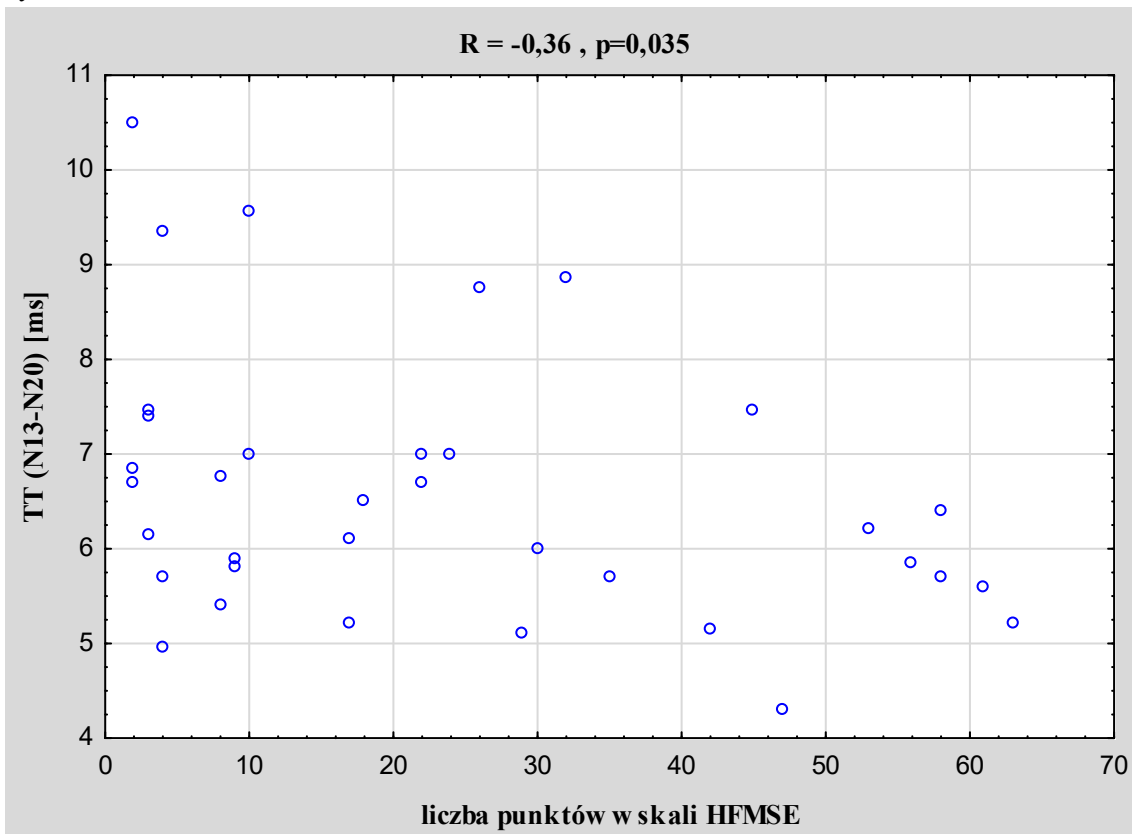
Nie stwierdzono istotnych zależności między wiekiem wystąpienia pierwszych objawów lub czasem trwania choroby a pozostałymi parametrami potencjałów wywołanych.

b) stan funkcjonalny – zakres sprawności

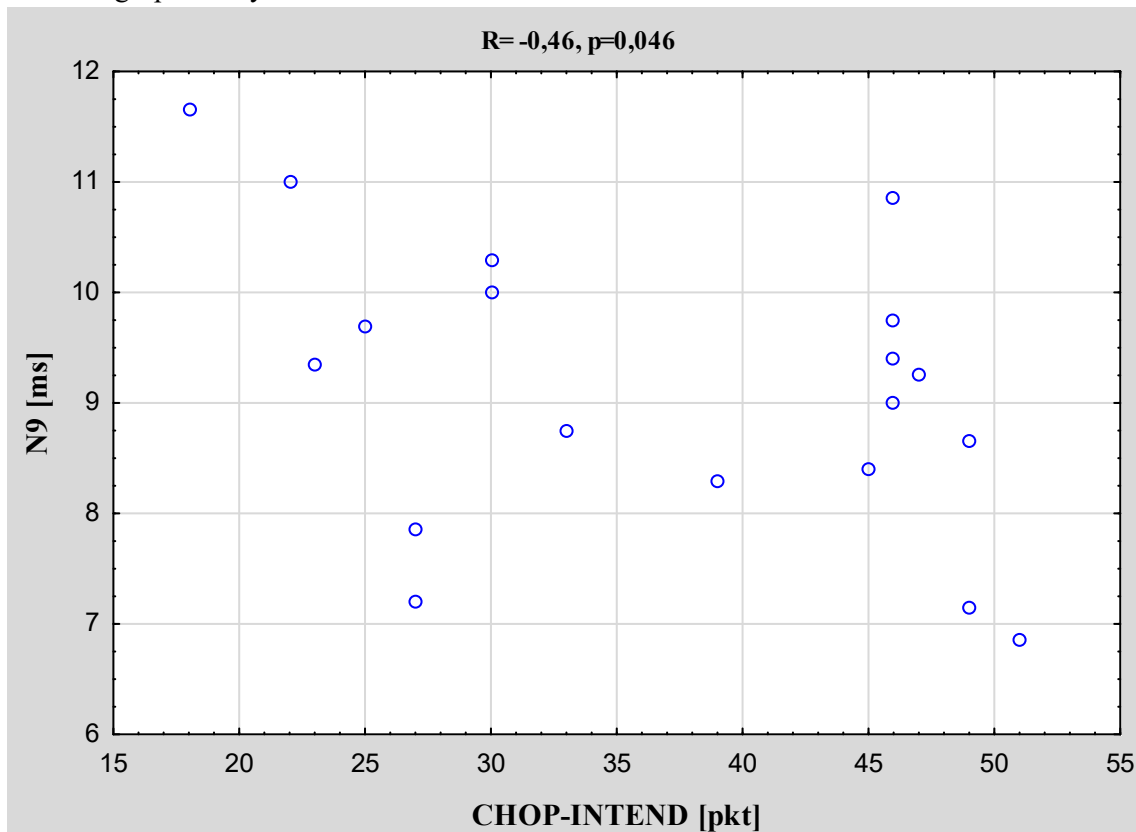
Analizując w grupie chorych zależności między parametrami potencjałów wywołanych a wynikami skal funkcjonalnych, stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy interlatencją N13-N20 (TT) SSEP a wynikiem skali HFMSE ($R = -0,36, p = 0,035$) (ryc. 14)

Stwierdzono także istotną ujemną korelację pomiędzy latencją załamka N9 SSEP a wynikiem w skali CHOP-INTEND ($R = -0,46, p = 0,046$) (ryc. 15).

Rycina 14. Korelacja między czasem TT SSEP a wynikiem w skali funkcjonalnej HFMSE w grupie chorych na SMA



Rycina 15. Korelacja między latencją załamka N9 SSEP a wynikiem w skali funkcjonalnej CHOP-INTEND w grupie chorych na SMA



Nie wykazano istotnie statystycznych zależności pomiędzy wynikami w skalach funkcjonalnych a parametrami VEP i BAEP. Nie stwierdzono również istotnych różnic w zakresie parametrów VEP, BAEP i SSEP między podgrupami chorych chodzących i niechodzących.

c) parametry biochemiczne

Porównując parametry potencjałów wywołanych między podgrupami chorych różniących się stężeniem CK w surowicy, w podgrupie z podwyższonym CK wykazano istotnie niższą amplitudę N13/P16 SSEP (1,71 vs 3,21, $p=0,037$) oraz tendencję do wydłużonej latencji N9 SSEP (9,55 vs 9,25, $p=0,062$).

Nie stwierdzono istotnych różnic między podgrupami w zakresie parametrów VEP i BAEP.

Stwierdzono ponadto istotne dodatnie korelacje między stężeniem CK w surowicy a interlatencją I-V BAEP ($R= 0,39$, $p = 0,019$) i latencją załamka N9 SSEP ($R= 0,39$, $p=0,019$) oraz istotną ujemną korelację między stężeniem CK w surowicy a amplitudą N13/P16 SSEP ($R= -0,42$, $p = 0,01$).

Nie wykazano istotnych zależności między parametrami potencjałów wywołanych a stężeniem kreatyniny w surowicy.

d) wskaźniki jakości życia

Analizując zależności między parametrami potencjałów wywołanych a wynikami skali oceniającej jakość życia, stwierdzono istotne dodatnie korelacje między wynikiem domeny IV (środowiskowej) kwestionariusza WHO-QOL-BREF a latencją załamka P100 VEP ($R = 0,4$, $p=0,018$), latencją załamka N20 ($R = 0,4$, $p=0,012$), P22 ($R = 0,35$, $p=0,039$) oraz interlatencją N13-N20 (TT) SSEP ($R = 0,34$, $p=0,045$). Nie stwierdzono istotnych zależności między wynikami tej skali a parametrami BAEP.

6. OMÓWIENIE WYNIKÓW

W ostatnich latach dokonał się znaczący postęp w zakresie wiedzy na temat etiologii SMA, a także możliwości diagnostycznych i terapeutycznych w tym schorzeniu. Zmiana perspektywy dotyczącej rokowania: wydłużenia czasu przeżycia i funkcjonowania chorych wpłynęła na poszerzenie zakresu tematyki prac badawczych poświęconych SMA, obejmujących różne aspekty podłoża schorzenia oraz ich implikacje kliniczne.

Wyniki licznych aktualnych badań dostarczają przesłanek do traktowania SMA jako choroby ogólnoustrojowej, w przebiegu której dochodzi do zajęcia różnych narządów i układów [7–10]. Natomiast niewiele prac poświęcono dotychczas zmianom w ośrodkowym układzie nerwowym (poza motoneuronami alfa) w przebiegu schorzenia. W odniesieniu do obrazu klinicznego, analizowano występowanie u pacjentów tzw. pozaruuchowych objawów deficytu neurologicznego (m.in. objawów autonomicznych, neuropsychiatrycznych, zaburzeń snu) [289]. Na podstawie badań neuropatologicznych oraz neuroobrazowych stwierdzono w niewielkich grupach chorych obecność niespecyficzných zmian strukturalnych w mózgowiu [13,15,240,243,246], a pojedyncze doniesienia wykazywały u nich także zaburzenia czynności bioelektrycznej mózgu [12,238,255].

To stosunkowo mało poznane, a zasługujące na uwagę zagadnienie skłaniało do podjęcia badań w jego zakresie. Jako cel niniejszej pracy założono więc ocenę funkcji ośrodkowego układu nerwowego u chorych na SMA przy użyciu metod elektrofizjologicznych, z odniesieniem do różnych wskaźników charakteryzujących przebieg choroby.

Zdecydowana większość dotychczasowych badań dotyczących zajęcia OUN w SMA została przeprowadzona u dzieci i obejmowała niewielkie ich grupy lub kazuistyczne opisy przypadków. W dostępnej literaturze brak zwłaszcza doniesień na temat badań elektrofizjologicznych u dorosłych chorych z SMA.

Grupa badana w niniejszej pracy objęła 35 chorych w wieku 18-56 lat (średnia 35,3), co pozwala uznać jej liczebność za reprezentatywną, biorąc pod uwagę aktualną epidemiologię SMA (szacowana liczba dorosłych chorych z SMA w Polsce wynosi ok. 600 osób) [63].

Wynik badania genetycznego (z określoną liczbą kopii genu *SMN2*) jako kryterium włączenia oraz użycie aktualnej klasyfikacji SMA pozwoliły uzyskać grupę reprezentatywną także pod względem obrazu klinicznego schorzenia u dorosłych, ze spektrum odpowiadającym poszczególnym typom SMA. W badanej grupie 80% stanowiły osoby z rozpoznaniem SMA typu 3, 14% - typu 2 i 6% - typu 4. Podobny rozkład i częstość występowania typów SMA w populacji osób dorosłych stwierdzono na podstawie polskiego rejestru obejmującego 790 chorych [290].

Chorzy z SMA typu 1 nie zostali zakwalifikowani do grupy badanej ze względu na niewydolność oddechową i jej potencjalny wpływ na funkcję OUN oraz parametry badań neurofizjologicznych. W celu uzyskania bardziej miarodajnych wyników, zastosowano także dodatkowe kryteria wykluczające: nieprawidłowy wynik badań obrazowych mózgowia oraz przesiewowego testu oceniającego funkcje poznawcze, a także współistnienie schorzeń

mogących wpływać na funkcje OUN. Dla możliwie pełnej charakterystyki przebiegu choroby w grupie badanej wykorzystano szeroki panel różnorodnych wskaźników: genetycznych, klinicznych, funkcjonalnych (oceniających sprawność ruchową oraz jakość życia) i laboratoryjnych.

Próbie oceny czynnościowej OUN podjęto przy zastosowaniu EEG i potencjałów wywołanych, umożliwiającą analizę spontanicznej czynności bioelektrycznej mózgowia oraz funkcjonowania głównych szlaków aferentnych (drogi wzrokowej, słuchowej i czucia somatycznego). Za użyciem tych metod przemawiała ponadto ich dobra rozdzielczość czasowa (rejestracja reakcji układu nerwowego na określone bodźce w czasie rzeczywistym), możliwość zastosowania bodźców o różnej modalności oraz nieinwazyjność.

6.1. Wyniki badań elektrofizjologicznych

6.1.1. Elektroencefalografia

W badanej grupie chorych z SMA nieprawidłowy zapis EEG stwierdzono u 4 osób (11,4%). Zmiany o charakterze napadowych grup fal wolnych i /lub pojedynczych ostrych zarejestrowano wyłącznie podczas prób aktywacyjnych lub po ich zakończeniu. W dotychczasowym wywiadzie u żadnej z tych osób nie odnotowano objawów sugerujących napad padaczkowy. Należy podkreślić, że nieprawidłowy wynik EEG przy braku nieprovokowanych epizodów napadowych (i innych objawów klinicznych zajęcia OUN) nie daje podstaw do rozpoznania schorzenia OUN (w szczególności padaczki), a tym bardziej wdrażania leczenia przeciwpadaczkowego [291]. Stanowi jedynie wskazanie do obserwacji pacjenta i kontrolnych badań EEG. Niski odsetek nieprawidłowych zapisów EEG w badanej grupie (porównywalny z populacją osób zdrowych) oraz niewielkie nasilenie zarejestrowanych zmian (wyłącznie pod wpływem prób aktywacyjnych) nie pozwalają traktować ich jako przejawu subklinicznych zaburzeń czynności bioelektrycznej u chorych na SMA.

W pojedynczych kazuistycznych doniesieniach opisujących dzieci z ciężkim przebiegiem SMA i współistniejącymi napadami padaczkowymi, zamieszczono fragmenty zapisu EEG zawierające wyładowania napadowe [246,247]. Padaczkę z towarzyszącymi zmianami w EEG stwierdzono również u jednej dorosłej chorej z SMA typu 3 [254]. Opisano także rzadki zespół obejmujący cechy rdzeniowego zaniku mięśni i postępującej padaczki mioklonicznej: SMA-PME (ang. *SMA associated with progressive myoclonic epilepsy*), z charakterystycznymi zmianami w EEG; zidentyfikowano jako jego podłoże odrębną mutację genu *ASAHI* (ang. *N-acylsphingosine amidohydrosilase 1*) na chromosomie 8 [292–296]. Zmiany w zapisie EEG stwierdzono także w kilku opublikowanych przypadkach dzieci z klasycznym SMA typu 0 lub 1 bez napadów padaczkowych. Zmiany te miały charakter uogólnionej czynności beta o wyższej od tła amplitudzie, sporadycznych wyładowań napadowych lub znacznej dezorganizacji (hipsarytmii), a ich nasilenie korespondowało z rozległością zmian strukturalnych w badaniach obrazowych mózgowia (zmiany w zakresie

wzgórza, mózdzku, ciała modzelowatego; dysplazje/malformacje korowe; zanik korowopodkorowy) [13,248,249].

Jedyna dostępna w piśmiennictwie praca analizująca zapis EEG w większej (40-osobowej) grupie chorych z SMA dotyczyła dzieci w wieku 3-16 lat (jako grupa porównawcza – dzieci z rozpoznaniem dystrofii mięśniowej Duchenne’a) [255]. Zapis spoczynkowy rejestrowano za pomocą 8-9 elektrod. Zmiany o granicznym lub niewielkim nasileniu (wzrost wskaźnika fal wolnych, pojedyncze fale ostre) stwierdzono u 42% pacjentów, przeważnie zlokalizowane w tylnym biegunie mózgu (70%), rzadziej uogólnione lub ogniskowe (12-18%). Jako ich przyczynę sugerowano niedojrzałość bioelektryczną mózgu. Brak w dostępnej literaturze opracowań dotyczących EEG u dorosłych chorych na SMA, do których można by odnieść wyniki niniejszej pracy.

6.1.2. Potencjały wywołane

W badanej grupie chorych z SMA nieprawidłowe parametry VEP stwierdzono u 34% (nieprawidłowe latencje u 20%), a statystycznie istotną różnicę w porównaniu do grupy kontrolnej wykazano jedynie dla średnich wartości latencji względnej (międzyocnej różnicy latencji) załamka P100. Wyniki te wskazują na niespecyficzne, asymetryczne zaburzenia przewodnictwa w zakresie drogi wzrokowej [258,263].

Nieprawidłowe parametry BAEP (w znacznej większości latencje/interlatencje) wykazano u 28% grupy badanej. Istotne różnice w porównaniu z grupą kontrolną dotyczyły wydłużenia średniej latencji załamka V (z tendencją do wydłużenia średniej latencji załamka I) oraz obniżenia amplitud załamka I i V. Za miejsce generowania załamka I BAEP uważa się część słuchową nerwu VIII (nerw słuchowy i/lub ślimak), a załamek V – struktury w obrębie pnia mózgu (wstęga boczna, wzgórkowe dolne), opisywane nieprawidłowości odpowiadają więc zaburzeniom integralności różnych etapów drogi słuchowej. Ze względu na dużą zmienność, amplitudy załamek BAEP uznawane są za mało wiarygodny parametr i są często pomijane w analizie [259,262,263].

Największy odsetek nieprawidłowych wyników w grupie chorych (63%) uzyskano w badaniu SSEP (w tym nieprawidłowe latencje u 57%, a amplitudy – u 23%). W porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono istotnie dłuższą latencję załamka N20 oraz interlatencję N9-N13 i N9-N20 oraz wyższą amplitudę N13/P16 (a także tendencję do wydłużenia latencji P16, N9 i interlatencji N13-N20 oraz zwiększenia amplitudy N20/P22). Załamek N20 generowany jest w pierwszorzędowej korze czuciowej płata ciemieniowego, natomiast interlatencje N9-N20 i N9 – N13 odzwierciedlają czas przewodzenia bodźca odpowiednio między splotem ramiennym a korą czuciową i splotem ramiennym a odcinkiem szyjnym rdzenia kręgowego [258,264,297]. Wydłużenie latencji /interlatencji tych składowych wskazuje na zaburzenia przewodnictwa w obrębie obwodowego i ośrodkowego odcinka dróg czuciowych. Amplituda N13/P16 stanowi wskaźnik odpowiedzi aksonalnej w odcinku drogi czuciowej pomiędzy splotem ramiennym a dolną częścią rdzenia przedłużonego i jej wzrost w grupie badanej może

sugerować kompensacyjne zwiększenie pobudliwości tych struktur. Jednak, podobnie jak w przypadku innych modalności, zmienność amplitud SSEP i brak jednoznacznych kryteriów dla ich wartości normatywnych utrudniają interpretację tego parametru [258,297].

Zaburzenia widzenia wynikające z atrofii nerwu wzrokowego oraz niedosłuch odbiorczy towarzyszące objawom uszkodzenia obwodowego neuronu ruchowego (porażenie opuszkowe, niedowład cztero kończynowy i niewydolność oddechowa) mogą występować w zespole Browna-Vialetto-Van Laerego (BVVL), spowodowanym mutacją w genach *SLC52A3* lub *SCLC52A2*, kodujących transportery dla ryboflawiny RFVT2 i RFVT3 [298,299]. W kazuistycznym doniesieniu Bamaga i wsp. opisano u 6-letniego dziecka z BVVL dobry efekt kliniczny wraz z poprawą parametrów VEP po zastosowaniu ryboflawiny [298]. Zaburzenia słuchu mogą ponadto współistnieć z rzadszymi postaciami rdzeniowego zaniku mięśni: SMA-PME (opisanym powyżej) [295,296] oraz łopatkowo-strzałkowym rdzeniowym zaniku mięśni (ang. *scapulooperoneal spinal muscular atrophy*, SPSMA) spowodowanym mutacją w genie *TRPV4* [300,301]. Obecność zaburzeń widzenia i słuchu nie jest typowa dla klasycznych postaci SMA z mutacją genu *SMN1* i powinna skłaniać do diagnostyki w kierunku innych postaci rdzeniowych zaników mięśni (tzw. non – 5q SMA), a także innych, wrodzonych lub nabytych przyczyn zaburzeń [299].

Stwierdzone w dotychczasowych pracach zaburzenia czucia u chorych z SMA dotyczyły głównie ciężkich postaci schorzenia (najczęściej SMA typu 1) i były związane z uszkodzeniem obwodowego neuronu czuciowego (czuciowa neuropatia aksonalna) [235–237].

Warto podkreślić, że w badanej grupie SMA wszystkie stwierdzone nieprawidłowości parametrów potencjałów wywołanych miały charakter subkliniczny. Zaburzenia widzenia i słuchu stanowiły kryterium wykluczające z grupy badanej, u chorych nie stwierdzono także w wywiadzie lub badaniu przedmiotowym zaburzeń czucia.

W piśmiennictwie na temat klasycznej postaci SMA dostępne są tylko pojedyncze doniesienia z zastosowaniem potencjałów wywołanych w tej grupie chorych.

Cheliou i wsp. [12] przeprowadzili badania multimodalnych potencjałów wywołanych w grupie 22 dzieci z SMA typu 1 i 2, w wieku od 3 do 17 lat, w porównaniu do 30-osobowej grupy kontrolnej dzieci zdrowych. Analizowano wyłącznie latencje załamek odpowiedzi wywołanej (pominięto amplitudy), przy użyciu kryteriów zbliżonych do niniejszej pracy. W grupie SMA stwierdzono w porównaniu z grupą kontrolną istotnie wydłużoną latencję załamka P100 VEP oraz załamka V i interlatencji I-V BAEP (nieprawidłowe wyniki VEP u 64%, a BAEP u 36% dzieci z SMA). SSEP ze stymulacją nerwu pośrodkowego wykonano tylko u 12 chorych na SMA, stwierdzając w 8 przypadkach istotnie dłuższą niż w grupie kontrolnej latencję załamka N20 oraz interlatencję N9-N20. W badaniach SSEP ze stymulacją nerwu piszczelowego, również wykonanych tylko u części chorych, stwierdzono wydłużoną latencję potencjałów korowych P40-P60, nie obliczono jednak interlatencji ze względu na niskie amplitudy pozostałych załamek.

W pracy Sultan i wsp., obejmującej grupę 40 dzieci z SMA typu 1 i 2 oraz 25-osobową grupę kontrolną analizowano wyłącznie SSEP ze stymulacją n. piszczelowego. Stwierdzono istotnie wyższą amplitudę załamka P37 w podgrupie SMA typu 2 w porównaniu z grupą kontrolną, bez różnic w zakresie latencji i bez analogicznych zależności dla podgrupy SMA typu 1 [238].

Wprawdzie różnice metodologiczne (wiek chorych, modalności potencjałów wywołanych) utrudniają porównanie wyników powyższych doniesień z niniejszą pracą, na uwagę zasługuje ich zbieżność w zakresie stwierdzonych zaburzeń przewodnictwa w pniowym odcinku drogi słuchowej (wydłużona latencja załamka V BAEP) oraz ośrodkowej części drogi czuciowej (wydłużona latencja N20 i interlatencja N9-N20), a także sugerowanego (na podstawie tendencji do wzrostu amplitud załamek SSEP) zwiększenia pobudliwości struktur drogi czuciowej.

6.2. Zależności pomiędzy parametrami elektrofizjologicznymi a pozostałymi badanymi czynnikami

6.2.1. Czynniki demograficzne i antropometryczne

W grupie badanej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy średnią częstotliwością czynności podstawowej EEG a czynnikami demograficznymi (wiekiem i płcią). Należy podkreślić, że u wszystkich chorych zarejestrowano czynność podstawową o częstotliwości odpowiadającej falam alfa, mieszczącą się w zakresie normy dla osób dorosłych. Nieprawidłowości zapisu, stwierdzone u 4 osób, dotyczyły nielicznych zmian o charakterze napadowym występujących na tle prawidłowej czynności podstawowej podczas prób aktywacyjnych.

W odniesieniu do potencjałów wywołanych, istotną ujemną korelację z wiekiem stwierdzono jedynie dla amplitudy N9/P10 SSEP. W literaturze opisywane jest zjawisko wydłużania się z wiekiem latencji i interlatencji odpowiedzi wywołanej (dla różnych modalności bodźca), związane z procesem starzenia się OUN. Natomiast wobec znacznej zmienności amplitud ich zależność od wieku zazwyczaj nie jest analizowana [258,302–304]. Brak istotnych zależności między latencjami potencjałów wywołanych a wiekiem w badanej grupie można odnieść do jej struktury wiekowej (średnia wieku 35,3 lat, brak osób w wieku podeszłym).

Porównanie parametrów potencjałów wywołanych między płciami w grupie chorych na SMA wykazało u mężczyzn istotnie dłuższe latencje i interlatencje odpowiedzi wywołanej dla wszystkich modalności (w największym zakresie dla SSEP) oraz obniżoną amplitudę załamka V BAEP. Analogiczne różnice między płciami opisywano dla osób zdrowych, uzasadniając je wpływem czynników hormonalnych na czynność bioelektryczną OUN, a także odmiennymi parametrami budowy ciała [302,305–308].

Analizując w grupie badanej wyniki potencjałów wywołanych w odniesieniu do wskaźników antropometrycznych, stwierdzono korelacje latencji i interlatencji BAEP ze

wzrostem oraz latencji licznych załamek SSEP (z wyłączeniem czasu ośrodkowego przewodzenia) ze wzrostem i długością kończyny górnej. Zależności takie zostały udokumentowane w literaturze przede wszystkim dla SSEP i odniesione do techniki badania (zależna od wzrostu i długości kończyny odległość pomiędzy elektrodą stymulującą a miejscem powstawania potencjału) [305,309,310].

Warto podkreślić, że grupa badana i kontrolna w niniejszej pracy nie różniły się istotnie pod względem wieku i płci, a także wskaźników antropometrycznych, co pozwala pominąć wpływ tych czynników przy analizie zależności między parametrami elektrofizjologicznymi a pozostałymi badanymi zmiennymi.

6.2.2. Czynniki genetyczne i kliniczne

Liczba kopii genu *SMN2* jest uznawana za najważniejszy czynnik determinujący przebieg SMA, jednak na ostateczny jego kształt mogą wpływać dodatkowe czynniki epigenetyczne (np. poziom metylacji genu *SMN2* lub stężenie neurokalcyne delta) [72,82,311]. W badanej grupie stwierdzono istotnie dłuższą średnią latencję załamek III i niższą średnią amplitudę załamek I BAEP a także tendencję do wydłużenia latencji załamek P16 SSEP u chorych z 4 kopiami genu *SMN2* w porównaniu do tych z 3 kopiami genu. Wyniki te mogą wskazywać na nieoczekiwany efekt – spowolnienie przewodnictwa nerwowego w fenotypie choroby o łagodniejszym przebiegu. Spośród klinicznych wskaźników przebiegu choroby, istotne (choć przeciwstawne) korelacje z wiekiem wystąpienia pierwszych objawów wykazano jedynie dla latencji załamek I i interlatencji I-III BAEP. Nie stwierdzono natomiast różnic parametrów potencjałów wywołanych (ani częstotliwości czynności podstawowej EEG) między chorymi z poszczególnymi typami SMA.

W badaniu Cheliou i wsp. nieprawidłowości latencji VEP, BAEP i SSEP były częściej obserwowane w grupie chorych na SMA typu 1 niż typu 2 [12]. Sultan i wsp. stwierdzili wzrost amplitudy SSEP w porównaniu z grupą kontrolną tylko u chorych z SMA typu 2 [238]. Oba cytowane doniesienia dotyczą dzieci, podczas gdy w niniejszej pracy badani byli wyłącznie dorośli, wśród których nie było osób z typem 1 schorzenia, o najcięższym przebiegu (spektrum nasilenia objawów w pozostałych typach jest mniej zróżnicowane). Przedział wiekowy badanych grup chorych na SMA, istotny dla charakterystyki przebiegu choroby ma również znaczenie dla analizy czynności bioelektrycznej OUN - w kontekście czasu trwania choroby potencjalnie wpływającej na zaburzenia tej czynności, ale także rozwoju mechanizmów adaptacyjnych. Ponadto ze względu na znaczną zmienność parametrów potencjałów wywołanych, pojedyncze ich oznaczenie utrudnia interpretację wyników.

Poza podziałem na główne typy SMA, bardziej precyzyjną charakterystykę obrazu klinicznego schorzenia umożliwiała ocena w skalach funkcjonalnych, określających zakres sprawności ruchowej pacjentów. W grupie badanej nie stwierdzono istotnych różnic parametrów elektrofizjologicznych między pacjentami chodzącymi a niechodzącymi. Wykazano natomiast istotne ujemne korelacje czasu ośrodkowego przewodzenia i latencji N9

SSEP z wynikami skal HFMSE i CHOP-INTEND, przemawiające za zaburzeniami przewodnictwa w obwodowym i ośrodkowym odcinku drogi czuciowej u chorych z większym deficytem ruchowym.

Spśród parametrów biochemicznych do analizy w niniejszej pracy wybrano aktywność kinazy kreatynowej i stężenie kreatyniny w surowicy krwi. Wykazano, że są one dobrym (choć mało specyficznym) wskaźnikiem zaburzonego metabolizmu mięśni i ich zaniku w wyniku odnerwienia, wobec czego mogą posłużyć jako marker nasilenia tych zmian w naturalnym przebiegu SMA oraz w odpowiedzi na leczenie [127,312]. W badanej grupie aktywność CK była podwyższona u ok. połowy chorych, a stężenie kreatyniny – obniżone u niemal wszystkich. Analizując związki między parametrami biochemicznymi i elektrofizjologicznymi, stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy średnią częstotliwością czynności podstawowej EEG a stężeniem kreatyniny oraz dodatnie korelacje pomiędzy interlatencją I-V BAEP i latencją N9 SSEP i ujemną korelację pomiędzy amplitudą N13/P16 SSEP a aktywnością CK.

Powszechnie opisywane jest zjawisko spowolnienia czynności podstawowej EEG (z obecnością fal theta i delta) u osób z niewydolnością nerek i podwyższonym stężeniem kreatyniny w surowicy [313,314]. Zbliżoną zależność zaobserwowano również w niniejszej pracy, należy jednak uwzględnić zarówno pozostający w granicach normy (częstotliwość alfa) zakres czynności podstawowej EEG, jak i prawidłowe parametry funkcji nerek u wszystkich badanych.

Analogicznie do zmian w EEG, nieprawidłowe parametry potencjałów wywołanych stwierdzano u chorych z podwyższonym stężeniem kreatyniny w przebiegu niewydolności nerek [315–317], natomiast ich zależności z aktywnością CK analizowano tylko sporadycznie. Wang i wsp. stwierdzili u chorych z pourazowym obrzękiem mózgu większe nieprawidłowości w zakresie parametrów BAEP przy podwyższonej aktywności CK [318]. Jak wspomniano powyżej, aktywność CK jest parametrem nieswoistym i może wzrastać w przebiegu różnych schorzeń z zajęciem układu nerwowego i/lub mięśniowego. Uzyskane w grupie badanej wyniki mogą wskazywać na związek zaburzeń przewodnictwa nerwowego w ośrodkowych drogach słuchowych i czuciowych ze stopniem neurogennego uszkodzenia mięśni w przebiegu SMA.

W badaniach obserwacyjnych i praktyce klinicznej coraz większe znaczenie w ocenie następstw różnych schorzeń przypisuje się pomiarom wyników na podstawie opinii pacjentów (ang. *patient-reported outcome measures*, PROM), do których należy m.in. ocena jakości życia [319]. Wyniki kwestionariusza WHOQOL - BREF w badanej grupie chorych na SMA wykazały obniżenie jakości życia w odniesieniu do poszczególnych aspektów stanu fizycznego (ból, wydolność) i funkcjonowania społecznego (wygląd, relacje intymne, aktywność zawodowa), jednak bez istotnych różnic wyniku całościowego i głównych domen skali w porównaniu z grupą kontrolną. Chorzy z SMA deklarowali natomiast większe niż grupa kontrolna zadowolenie z placówek ochrony zdrowia, co może wskazywać na dobrą jakość opieki nad chorymi (m.in. w ramach Programu Lekowego) lub wynikać z tzw. błędu stronniczości (ang. *performance bias*). Stwierdzono korelacje latencji odpowiedzi wywołanej (P100 VEP oraz

N20, P22 i czas ośrodkowego przewodzenia SSEP) jedynie z wynikiem domeny środowiskowej kwestionariusza WHO-QOL-BREF, określającej możliwość korzystania z materialnych i niematerialnych zasobów otoczenia. Wyniki oceny jakości życia w badanej grupie oraz ich wybiórcza zależność z parametrami elektrofizjologicznymi wskazują na złożony charakter powiązań między czynnikami wpływającymi na funkcjonowanie chorych w różnych aspektach życia.

6.3. Potencjalne podłoże zaburzeń czynności bioelektrycznej OUN u chorych na SMA

Wyniki niniejszej pracy oraz nielicznych cytowanych doniesień o tej tematyce wskazują na występowanie u chorych na SMA subklinicznych zaburzeń funkcjonalnych OUN. W oparciu o dane pochodzące z analizy badań elektrofizjologicznych, obrazowych i molekularnych, można rozważać różne hipotezy dotyczące podłoża tych zaburzeń.

Jedna z tych hipotez zakłada, że zmiany strukturalne i/lub czynnościowe w OUN u chorych na SMA mogą stanowić następstwo nawracających epizodów hipoksji w przebiegu zaburzeń oddechowych. Niedotlenienie uznano za istotny czynnik związany z podłożem uogólnionego zaniku mózgu stwierdzanego w TK w serii przypadków chorych z ciężkim przebiegiem SMA [320,321]. Podejrzewano również możliwą etiologię niedotlenieniowo - niedokrwienną w badaniach MR u dzieci z ciężką postacią SMA, u których poza zanikiem mózgu stwierdzono zmiany hiperintensywne w obrazach T2-zależnych w zakresie jąder podstawy mózgu oraz rogów przednich rdzenia kręgowego [321]. Teorię tę zakwestionowano w późniejszych badaniach wykorzystujących MR mózgowia w diagnostyce chorych z SMA typu 0, u których rozlany zanik mózgu oraz podwyższenie sygnałów w sekwencji T2-zależnej w obszarze jąder podstawy i wzgórz stwierdzano w przypadkach bez udokumentowanego w przeszłości niedotlenienia [13,14,246]. Ponadto stwierdzono brak nieprawidłowości w obrazach T2-zależnych w jądrach podstawy i wzgórzach u chorych w pierwszych miesiącach życia - okresie w którym występuje największa podatność na niedotlenienie; nieprawidłowości te pojawiały się w późniejszym wieku [13]. Co więcej podkreśla się, że stwierdzane u chorych nieprawidłowości w badaniach MR, a także w badaniach histopatologicznych mózgu mają odmienną morfologię w porównaniu do typowej encefalopatii niedotlenieniowo-niedokrwiennej [13,14,243]. Cheliou i wsp. [12] również rozważali niedotlenienie OUN jako potencjalny czynnik wpływający na parametry potencjałów wywołanych u dzieci z SMA typu 1 i 2. Nie potwierdzili jednak powyższej hipotezy wobec braku istotnych różnic między podgrupami chorych wymagających przewlekłej wentylacji (inwazyjnej i nieinwazyjnej) lub nie wykazujących cech niewydolności oddechowej.

W celu uzyskania bardziej jednoznacznych wyników, z grupy badanej w niniejszej pracy wykluczono chorych z niewydolnością oddechową oraz ze zmianami strukturalnymi mózgowia stwierdzanymi w badaniach obrazowych. Miarodajna ocena związków parametrów elektrofizjologicznych z hipoksją OUN wymagałaby badań prospektywnych w bardziej

zróznicowanej klinicznie grupie chorych, z monitorowaniem wskaźników wydolności oddechowej.

Zgodnie z inną koncepcją, zaburzenia funkcjonalne w zakresie dróg aferentnych można traktować jako wtórne do uszkodzenia obwodowego neuronu ruchowego w przebiegu SMA. U zdrowych dzieci opisywano związek zdolności wzrokowo-przestrzennych z poziomem sprawności ruchowej [322]. Sugerowano także, że zaburzony rozwój ruchowy w przebiegu schorzeń wrodzonych, a także następstwa deficytu ruchowego (ograniczona mobilność, wymuszona pozycja ciała) mogą wpływać na kształtowanie się zdolności percepcyjnych (zwłaszcza integracji wzrokowo-ruchowej) [323].

W niniejszej pracy nie stwierdzono jednak różnic w parametrach elektrofizjologicznych między podgrupami chorych chodzących i niechodzących, ani zależności między parametrami VEP i BAEP a zakresem sprawności ruchowej pacjentów (ocenianym za pomocą skal funkcjonalnych). Wykazano natomiast taką zależność dla parametrów SSEP (odpowiadających obwodowemu i ośrodkowemu odcinkowi drogi czuciowej).

Piśmiennictwo na temat SMA dostarcza licznych przesłanek przemawiających za zajęciem układu czuciowego i jego związkami z deficytem ruchowym w przebiegu choroby. W pośmiertnych badaniach neuropatologicznych u chorych z SMA, oprócz uszkodzenia obwodowego neuronu ruchowego, opisywano także utratę mieliny i zmiany zwyrodnieniowe w zakresie sznurów tylnych rdzenia, korzeni tylnych oraz zwojów czuciowych nerwów. Zmiany zwyrodnieniowe w obrębie mózgowia dotyczyły mózdzku oraz jąder wzgórza. (zwłaszcza formacji bocznej, brzusznej oraz tylnej) [15,231,242,243,324]. W biopsji nerwów obwodowych stwierdzano cechy uszkodzenia aksonalnego włókien czuciowych i mieszanych, głównie u chorych z cięższym przebiegiem SMA [232,233].

Oprócz SSEP analizowanych w cytowanych już pracach [12,238], przedmiotem badań elektrofizjologicznych u chorych na SMA były także parametry przewodnictwa nerwowego. U dzieci z SMA (głównie typu 1) opisywano obniżone amplitudy potencjałów czuciowych lub nieprawidłowe prędkości przewodzenia czuciowego. Występowanie cech neuropatii czuciowej głównie u dzieci w starszej grupie wiekowej sugerowało możliwość rozwijania się neuropatii w przebiegu choroby [234–237].

Warto zauważyć, że nieprawidłowości parametrów SSEP, wskazujące na zaburzenie przewodnictwa w obwodowym i ośrodkowym odcinku dróg czuciowych (wraz ze zmianami w ich zakresie uwidocznionymi w obrazowaniu metodą tensora dyfuzji MR), opisywano w kilku pracach dotyczących chorych na stwardnienie zanikowe boczne, również powodujące selektywne uszkodzenie neuronu ruchowego [325–327].

Jako uzasadnienie współistnienia deficytu czuciowego z osiowym dla schorzenia uszkodzeniem obwodowego neuronu ruchowego sugerowano dysfunkcję obwodu czuciowo-ruchowego (ang. *sensory-motor circuit*) [328,329] Hipoteza ta oparta jest na wynikach badań, które wykazały, że bodźce synaptyczne kontrolujące funkcje dolnych neuronów ruchowych pochodzą nie tylko z drogi piramidowej (górny neuron ruchowy), ale także

z proprioceptywnych neuronów czuciowych zlokalizowanych w zwojach rdzeniowych korzeni tylnych. Odkryto także, że neurony czuciowe tworzą połączenia monosynaptyczne z dolnymi neuronami ruchowymi i mogą regulować ich aktywność na zasadzie łuku odruchowego [330–333].

Podłoże uszkodzenia układu czuciowego w SMA można rozważać w kontekście koncepcji choroby ogólnoustrojowej, w której niedostateczna ekspresja białka SMN w różnych tkankach/strukturach stanowi przyczynę objawów wykraczających poza uszkodzenie dolnego neuronu ruchowego [6,9,10]. Stwierdzono, że jedna z izoform tego białka - aksonalne SMN – odgrywa rolę w rozwoju struktur obwodowego i ośrodkowego układu nerwowego (stymuluje aksonogenezę i dojrzewanie neuronów) [90]. W badaniach na liniach komórkowych wykazano udział w tym procesie insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) [334,335], którego synteza i transport aksonalny są stymulowane przez a-SMN. IGF-1 poprzez szlaki sygnałowe PI3K/AKT wpływa na proliferację mioblastów, różnicowanie się mięśni oraz dojrzewanie złącza nerwowo-mięśniowego [336,337]. Obniżony poziom IGF-1 w surowicy i mięśniach stwierdzano w modelach mysich oraz u chorych na SMA, obserwowano ponadto jego wzrost po zastosowaniu oligonukleotydu antysensownego modyfikującego *splicing* genu *SMN2* i zwiększającego ekspresję białka SMN [338,339].

W badaniach na modelach zwierzęcych SMA wykazano, że niedobór białka SMN powoduje także nieprawidłowy rozwój proprioceptywnych neuronów czuciowych, co w konsekwencji może prowadzić do dysfunkcji obwodu czuciowo-ruchowego [328,329]. Spójna z tą koncepcją wydaje się obecność zmian rozwojowych mózgowia (w badaniach histopatologicznych i neuroobrazowych) głównie w ciężkich postaciach SMA – typu 0 i 1, związanych z obecnością tylko 1 lub 2 kopii genu *SMN2* [13,243,247,248]. Podobne obserwacje dotyczyły występowania u chorych z SMA polineuropatii, z zaburzeniami głównie przewodnictwa czuciowego w badaniach neurograficznych [234,235]. Cheliou i wsp. również stwierdzili większe nieprawidłowości parametrów potencjałów wywołanych u dzieci z SMA typu 1 w porównaniu z typem 2 [12]. W niniejszej pracy nie potwierdzono zależności między parametrami elektrofizjologicznymi a typami SMA lub liczbą kopii genu *SMN2*. Grupa badana obejmowała jednak głównie osoby z typem 3 schorzenia (i w niewielkim odsetku z typami 2 i 4), posiadające co najmniej 3 kopie genu *SMN2*. Można przypuszczać, że poziom ekspresji białka SMN był u nich wystarczający dla zapobieżenia klinicznej manifestacji stwierdzanych zaburzeń czynności bioelektrycznej układu nerwowego.

Jak wspomniano powyżej, na fenotyp SMA oprócz liczby kopii genu *SMN2* mogą wpływać inne czynniki epigenetyczne. Jako jeden z możliwych patomechanizmów dysfunkcji obwodu czuciowo-ruchowego sugerowano obniżoną ekspresję w błonie synaptycznej białka katalizującego wychwyt glutaminianu przez pęcherzyki synaptyczne (ang. *vesicular glutamate transporter*, VGluT1+) [328,329,340]. Inna hipoteza dotyczy obniżonej ekspresji syntetazy glicylo-tRNA (ang. *glycyl-tRNA synthetase*, GARS), związanej z niską aktywnością enzymu aktywującego ubikwitynę (ang. *ubiquitin-like modifier activating enzyme 1*, UBA1). W badaniach na zwierzęcym modelu SMA stwierdzano obniżone stężenie GARS w rdzeniu

kręgowym. Wykryto także mutacje genu *GARS* u części osób z chorobą Charcot-Marie-Tooth (typ 2D), w której współistnieją cechy neuropatii czuciowej i ruchowej [329,341,342].

Badania wciąż niedostatecznie poznanego molekularnego podłoża dysfunkcji obwodu czuciowo-ruchowego, poza lepszym wglądem w patofizjologię układu nerwowego w SMA, mogą wskazywać także nowe punkty uchwytu dla potencjalnych terapii. W badaniu Simon i wsp., przeprowadzonym na modelu mysim SMA, wykazano, że zastosowanie blokera kanału potasowego - 4-aminopirydyny poprawiało parametry neuroprzebieżności w drogach czuciowych oraz zwiększało liczbę synaps proprioceptywnych i połączeń nerwowo-mięśniowych, prowadząc w efekcie do poprawy funkcji motorycznych u zwierząt [343]. Aktualnie prowadzone jest badanie kliniczne fazy 2 z oceną skuteczności i bezpieczeństwa innego blokera kanału potasowego, amifamprydyny, u chorych na SMA [344].

W świetle powyższych danych, analiza funkcjonalna szlaków aferentnych (z zastosowaniem parametrów elektrofizjologicznych, a także markerów molekularnych i radiologicznych) w SMA, ze szczególnym uwzględnieniem obwodu czuciowo-ruchowego, stanowi obiecujący kierunek dalszych badań, z możliwymi implikacjami klinicznymi ich wyników. Można oczekiwać, że znaczenie kompleksowej oceny i monitorowania obrazu klinicznego schorzenia oraz modyfikacji postępowania terapeutycznego będzie wzrastało wobec wydłużającego się czasu przeżycia chorych z SMA.

6.4. Ograniczenia pracy i dalsze plany badawcze

Wykonanie badań elektrofizjologicznych w grupie chorych na SMA w niniejszej pracy oraz ich interpretacja wiązały się z pewnymi problemami technicznymi. Wobec braku możliwości przebywania przez dłuższy czas w pozycji leżącej (np. z powodu zaawansowanej skoliozy), u części chorych badania elektrofizjologiczne zostały przeprowadzone w pozycji półleżącej lub siedzącej. Z tego samego powodu odpowiedź wywołaną SSEP uzyskano wyłącznie przy stymulacji kończyn górnych (natomiast dane z piśmiennictwa dotyczącego chorób neuronu ruchowego sugerują większe zmiany parametrów SSEP uzyskanych stymulacją kończyn dolnych). Zapisy EEG i potencjałów w większości były obciążone artefaktami mięśniowymi, co wymagało uwzględnienia w ich interpretacji i mogło wpłynąć na ostateczne wyniki.

Pomimo zastosowania kryteriów wykluczających nie udało się uniknąć niejednorodności grupy – oprócz chorych dotychczas nie leczonych, zdecydowano o włączeniu do niej 5 osób będących już w trakcie terapii nusinersenem, w celu zwiększenia liczebności i reprezentatywności grupy. Efekty leczenia mogły wpłynąć na wskaźniki kliniczne, a być może także parametry elektrofizjologiczne u tych osób, oraz - w niewielkim stopniu - na wyniki całej grupy badanej.

Skuteczność farmakoterapii i rehabilitacji u chorych na SMA, oceniana przy użyciu różnych markerów (w tym parametrów elektrofizjologicznych) stanowi niewątpliwie zagadnienie zasługujące na uwagę jako przedmiot dalszych badań w tej dziedzinie. Wobec

dużej zmienności potencjałów wywołanych i wpływu różnych czynników na ich parametry, jednorazowe przeprowadzenie badań można uznać za kolejne ograniczenie niniejszej pracy. Uzyskane wyniki mogą jednak stanowić punkt odniesienia do badań prospektywnych, z regularnym monitorowaniem wskaźników klinicznych i elektrofizjologicznych w dobrze zdefiniowanych grupach chorych. Stwierdzone zależności między parametrami potencjałów wywołanych a pozostałymi czynnikami, wraz z doniesieniami z piśmiennictwa, przemawiają ponadto za zasadnością prowadzenia dalszych badań nad dysfunkcją obwodu czuciowo-ruchowego u chorych na SMA, z zastosowaniem szerszego zakresu wskaźników elektrofizjologicznych, a także radiologicznych i molekularnych.

7. WNIOSKI

1. U większości (ponad 60%) chorych na SMA stwierdzono nieprawidłowe parametry multimodalnych potencjałów wywołanych (głównie SSEP), wskazujące na subkliniczne zaburzenia funkcji szlaków aferentnych w ośrodkowym układzie nerwowym.
2. Wykazano istotne zależności między wybranymi parametrami BAEP i SSEP a wynikami skal funkcjonalnych określających sprawność ruchową chorych oraz aktywnością CK jako wskaźnikiem neurogennego uszkodzenia mięśni.
3. Uzyskane wyniki przemawiają za związkiem zaburzeń funkcji szlaków aferentnych OUN z uszkodzeniem motoneuronów alfa w SMA, którego prawdopodobne podłoże stanowi dysfunkcja „obwodu czuciowo-ruchowego”.
4. Potencjały wywołane mogą znaleźć zastosowanie w kompleksowej ocenie zaburzeń funkcjonalnych (zwłaszcza pozaruchowych) układu nerwowego u chorych na SMA, z potencjalnym jej wykorzystaniem w monitorowaniu przebiegu schorzenia i efektu postępowania terapeutycznego.

8. STRESZCZENIE

Wstęp: Rdzeniowy zanik mięśni (ang. *spinal muscular atrophy*, SMA) jest chorobą uwarunkowaną genetycznie o dziedziczeniu autosomalnie recesywnym, spowodowaną mutacjami (najczęściej homozygotyczną delecją eksonu 7 lub 7 i 8) w genie *SMN1* kodującym białko warunkujące przeżycie motoneuronów – SMN (ang. *survival motor neuron*). W następstwie niedoboru białka SMN dochodzi do wielopoziomowego, postępującego uszkodzenia obwodowych neuronów ruchowych w rdzeniu kręgowym i pniu mózgu objawiającego się niedowładem mięśni kończyn i tułowia, zaburzeniami opuszkowymi (artykulacji mowy i połykania), często także niewydolnością oddechową. Badania nad podłożem SMA, prowadzone w ostatnich latach, wykazały istotną rolę białka SMN w licznych procesach zapewniających utrzymanie homeostazy komórkowej. Ponadto u chorych z SMA stwierdzano obniżony poziom ekspresji białka SMN w różnych tkankach i narządach. Aktualna koncepcja SMA jako choroby ogólnoustrojowej oraz brak jednoznacznego wyjaśnienia przyczyny wybiórczego uszkodzenia obwodowego neuronu ruchowego w tym schorzeniu przemawiają za celowością pogłębionych badań nad strukturalnym i funkcjonalnym zajęciem ośrodkowego układu nerwowego (OUN) w przebiegu SMA. Zbadanie dysfunkcji szlaków czuciowych oraz połączeń korowo-podkorowych, jako możliwego podłoża pozaruchowych objawów deficytu neurologicznego w SMA, nabiera aktualnie szczególnego znaczenia klinicznego w kontekście wydłużającego się okresu przeżycia chorych, związanego z dostępnością skutecznego leczenia.

Cel pracy: Elektrofizjologiczna ocena funkcji OUN u chorych na SMA przy użyciu elektroencefalografii (EEG) oraz potencjałów wywołanych w odniesieniu do wybranych czynników demograficznych, antropometrycznych i klinicznych.

Materiał i metody: Badaniem objęto 35 chorych z SMA w wieku od 18 do 56 lat (średnio 35,3 lat), hospitalizowanych w Klinice Neurologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu i zakwalifikowanych do Programu Leczenia Rdzeniowego Zaniku Mięśni (B.102.FM) w latach 2019 – 2023. Grupę kontrolną stanowiło 36 zdrowych ochotników, odpowiednio dobranych pod względem płci, wieku i długości kończyn górnych. W obu grupach przeprowadzono badanie wzrokowych (ang. *visual evoked potentials*, VEP), słuchowych pniowych (ang. *brainstem auditory evoked potentials*, BAEP) i somatocuciowych potencjałów wywołanych (ang. *somatosensory evoked potentials*, SSEP) i porównano ich parametry między grupami. U chorych na SMA wykonano także badanie EEG. Wyniki badań elektrofizjologicznych w grupie chorych na SMA odniesiono do czynników demograficznych, antropometrycznych, genetycznych (liczba kopii genu *SMN2*), wskaźników przebiegu choroby (w tym wiek zachorowania oraz typ SMA), stopnia deficytu neurologicznego ocenionego za pomocą skal funkcjonalnych: HFMSE (ang. *Hammersmith Functional Motor Scale – Expanded*) i CHOP-INTEND (ang. *The Children’s Hospital of Philadelphia Infant Test of*

Neuromuscular Disorders), parametrów biochemicznych (stężenia kreatyniny i kinazy kreatynowej - CK) oraz wskaźników jakości życia (ocenionej kwestionariuszem WHOQOL-BREF). Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej.

Wyniki: W grupie chorych na SMA nieprawidłowy zapis EEG stwierdzono u 4 (11,4%) badanych. Nieprawidłowe parametry VEP stwierdzono u 34%, BAEP u 28%, a SSEP u 63% chorych. W porównaniu do grupy kontrolnej, w grupie chorych wykazano istotnie dłuższą latencję względną załamka P100 VEP, załamka V BAEP, załamka N20 oraz interlatencję N9-N13 i N9-N20 SSEP, a także istotnie niższą amplitudę załamka I i V BAEP i istotnie wyższą amplitudę N20/P22 SSEP. Porównując parametry potencjałów wywołanych między płciami w grupie chorych na SMA, u mężczyzn stwierdzono istotne wydłużenie latencji P100 VEP, latencji załamka V i interlatencji III-V i I-V BAEP oraz latencji załamek N20, P22, N13, P16, N9 i P10 SSEP. Wykazano ponadto istotne statystycznie korelacje pomiędzy: latencją załamka N9 SSEP a wynikiem w skali CHOP-INTEND ($R = -0,46$, $p = 0,046$), interlatencją N13-N20 SSEP a wynikiem skali HFMSE ($R = -0,36$, $p = 0,035$), stężeniem CK w surowicy a interlatencją I-V BAEP ($R = 0,39$, $p = 0,019$) i latencją załamka N9 SSEP ($R = 0,39$, $p = 0,019$), a także pomiędzy parametrami BAEP (latencją załamka I oraz interlatencją I-III) a wiekiem wystąpienia pierwszych objawów choroby (odpowiednio $R = -0,34$, $p = 0,047$; $R = 0,35$, $p = 0,037$).

Wnioski:

1. U większości (ponad 60%) chorych na SMA stwierdzono nieprawidłowe parametry multimodalnych potencjałów wywołanych (głównie SSEP), wskazujące na subkliniczne zaburzenia funkcji szlaków aferentnych w ośrodkowym układzie nerwowym.
2. Wykazano istotne zależności między wybranymi parametrami BAEP i SSEP a wynikami skal funkcjonalnych określających sprawność ruchową chorych oraz aktywnością CK jako wskaźnikiem neurogenego zaniku mięśni.
3. Uzyskane wyniki przemawiają za związkiem zaburzenia funkcji szlaków aferentnych OUN z uszkodzeniem motoneuronów alfa w SMA, którego prawdopodobne podłoże stanowi dysfunkcja „obwodu czuciowo-ruchowego”.
4. Potencjały wywołane mogą znaleźć zastosowanie w kompleksowej ocenie zaburzeń funkcjonalnych (zwłaszcza pozaruchowych) układu nerwowego u chorych na SMA, z potencjalnym jej wykorzystaniem w monitorowaniu przebiegu schorzenia i efektu postępowania terapeutycznego.

Introduction: Spinal muscular atrophy (SMA) is an autosomal recessive disorder caused by mutations (most often homozygous deletion of exon 7 or exons 7 and 8) of *SMN1* gene, which encodes survival motor neuron protein (SMN). SMN protein deficiency leads to progressive degeneration of lower motor neurons in the spinal cord and brainstem, resulting in weakness in the limbs and trunk muscles, bulbar dysfunction (dysarthria and dysphagia) and often also respiratory insufficiency. Recent studies on the pathogenesis of SMA have shown that the SMN protein plays an important role in maintaining cellular homeostasis. Furthermore, decreased levels of SMN protein expression were found in different tissues and organs of patients with SMA. Considering the current perception of SMA as a multi-system disease and the lack of clear explanation for selective lower motor neuron degeneration, further research on the structural and functional involvement of the central nervous system (CNS) in the course of SMA seems necessary. Investigating the dysfunction of sensory pathways and cortico-subcortical networks, as possible reason for non-motor symptoms in SMA is currently gaining particular clinical importance given the prospects of extending patients' long-term survival chances due to effective treatment.

Aim of the study: The electrophysiological assessment of central nervous system functions in SMA patients, using electroencephalography and multimodal evoked potentials, as they relate to demographic, anthropometric and clinical parameters.

Materials and methods: The study group comprised 35 patients with SMA, aged 18 to 56 years (average of 35,3 years), hospitalized in the Department of Neurology, University Clinical Hospital in Wroclaw in the years 2019-2023. All of the patients were qualified for the SMA Treatment Program (B102.FM). The control group consisted of 36 healthy individuals matched for age, gender and upper extremity length. Visual evoked potentials (VEP), brainstem auditory evoked potentials (BAEP) and somatosensory evoked potentials (SSEP) were conducted and their parameters were compared in both groups. Additionally, EEG was performed in the SMA group. The results of electrophysiological studies in the SMA group were analyzed in relation to demographic parameters, anthropometric measures, genetic factors (number of *SMN2* gene copies), clinical indices (including the age of onset and type of SMA), motor function assessment in the Hammersmith Functional Motor Scale Expanded (HFMSE) and the Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP-INTEND), biochemical parameters (serum creatinine concentration and creatine kinase activity– CK) and patients' perception of quality of life (WHOQOL-BREF questionnaire).

Results: Abnormalities in EEG recording were found in 4 (11,4%) of cases. VEP parameters were abnormal in 34%, BAEP in 28% and SSEP in 63% of patients. Patients with SMA showed significantly longer relative P100 VEP latency, wave V BAEP latency, N20 SSEP latency, and both N9-N13 and N9-N20 SSEP interlatencies in comparison with the control group. Male patients with SMA in comparison with female ones had significantly prolonged latencies of P100 VEP, V BAEP, N20, P22, N13, P16, N9 and P10 SSEP, as well as III-V and I-V BAEP interlatencies. There were significant correlations between N9 SSEP latency and the

CHOP-INTEND score ($R = -0,46$, $p = 0,046$), N13-N20 SSEP interlatency and the HFMSE score ($R = -0,36$, $p = 0,035$), CK activity and I-V BAEP interlatency ($R = 0,39$, $p = 0,019$), CK activity and N9 SSEP latency ($R = 0,39$, $p = 0,019$). The significant correlations were also noted between the age of onset and latency I and interlatency I-III BAEP ($R = -0,34$, $p = 0,047$; $R = 0,35$, $p = 0,037$, respectively).

Conclusions:

1. The majority (over 60%) of SMA patients presented with abnormal parameters of multimodal evoked potentials (mainly SSEP), which indicates subclinical dysfunction of afferent central nervous system pathways.
2. Significant correlations were found between selected BAEP and SSEP parameters and motor function scales scores and CK activity (a biochemical marker of neurogenic muscle atrophy).
3. The results indicate the association between dysfunction of afferent CNS pathways and alpha motor neuron degeneration in SMA, possibly caused by underlying dysregulation of the sensory-motor circuit.
4. Multimodal evoked potentials may be used in a complex assessment of CNS dysfunctions in SMA (especially with regard to non-motor symptoms), with potential application in the monitoring of disease progression and treatment effectiveness.

9. PIŚMIENICTWO

1. Kolb SJ, Kissel JT. Spinal Muscular Atrophy. *Neurol Clin.* 2015;33(4):831-846.
2. Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, i in. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell.* 1995;80(1):155-165.
3. Jędrzejowska M, Kostera-Pruszczyk A. Rdzeniowy zanik mięśni-nowe terapie, nowe wyzwania Spinal muscular atrophy-novel therapies, new challenges. *Neurol Dziec.* 2017; 26, 52: 11-17
4. Kolb SJ, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: A timely review. *Arch Neurol.* 2011;68(8):979-984.
5. Jędrzejowska M, Kostera-Pruszczyk A. Spinal muscular atrophy — new therapies, new challenges. *Neurol Neurochir Pol.* 2020;54(1):8-13.
6. Chaytow H, Huang YT, Gillingwater TH, Faller KME. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2018;75(21):3877-3894.
7. Nash LA, Burns JK, Chardon JW, Kothary R, Parks RJ. Spinal Muscular Atrophy: More than a Disease of Motor Neurons? *Curr Mol Med.* 2016;16(9):779-792.
8. Shababi M, Lorson CL, Rudnik-Schöneborn SS. Spinal muscular atrophy: A motor neuron disorder or a multi-organ disease? *J Anat.* 2014;224(1):15-28.
9. Singh NN, Hoffman S, Reddi PP, Singh RN. Spinal muscular atrophy: Broad disease spectrum and sex-specific phenotypes. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2021;1867(4).
10. Hamilton G, Gillingwater TH. Spinal muscular atrophy: going beyond the motor neuron. *Trends Mol Med.* 2013;19(1):40-50.
11. Losito L, Gennaro L, Lucarelli E, Trabacca A. Brain MRI abnormalities in a child with spinal muscular atrophy type II. *Acta Neurol Belg.* 2021;121(6):1883-1885.
12. Cheliout-Heraut F, Barois A, Urtizberea A, Viollet L, Estournet-Mathiaud B. Evoked potentials in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol.* 2003;18(6):383-390.
13. Mendonça RH, Rocha AJ, Lozano-Arango A, i in. Severe brain involvement in 5q spinal muscular atrophy type 0. *Ann Neurol.* 2019;86(3):458-462.
14. Mugisha N, Oliveira-Carneiro A, Behlim T, Oskoui M. Brain Magnetic Resonance Imaging (MRI) in Spinal Muscular Atrophy: A Scoping Review. *J Neuromuscul Dis.* 2023;10(4):493-503.
15. Shishikura K, Hara M, Sasaki I, Misugi K. A Neuropathologic Study of Werdnig-Hoffmann Disease with Special Reference to the Thalamus and Posterior Roots. Vol 60. Springer-Verlag; 1983.
16. Dubowitz V. Ramblings in the history of spinal muscular atrophy. *Neuromuscular Disorders.* 2009;19(1):69-73.

17. Werdnig G. Zwei frühinfantile hereditäre Fälle von progressiver Muskelatrophie unter dem Bilde der Dystrophie, aber auf neurotischer Grundlage. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, Berlin 1891;22:437–81.
18. Werdnig G. Die frühinfantile progressive spinale Amyotrophie. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, Berlin 1894;26:707–44.
19. Hoffmann J. Über chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter auf familiärer Basis. *Deut Zeitsch Nervenheilkd* 1893;3:427–70.
20. Hoffmann J. Weiterer Beiträge zur Lehre von der hereditären progressiven spinalen Muskelatrophie im Kindesalter. *Deut Zeitsch Nervenheilkunde* 1897;10:292–320.
21. Hoffmann J. Dritter Beitrag zur Lehre von der hereditären progressiven spinalen Muskelatrophie im Kindesalter. *Deut Zeitsch Nervenheilkd* 1900;18:217–24.
22. Thomson J, Bruce A. Progressive muscular atrophy in a child with a spinal lesion. *Edinb Hosp Rep* 1893;1:372.
23. Beevor CE. A case of congenital spinal muscular atrophy (family type) and a case of hemorrhage into the spinal cord at birth, giving similar symptoms. *Brain* 1902;25:85–108.
24. Kugelberg E, Welander L. Heredofamilial juvenile muscular atrophy simulating muscular dystrophy. *Arch Neurol Psychiatry (Chic)* 1986;75:500–9.
25. Dubowitz V. Infantile muscular atrophy. A prospective study with particular reference to a slowly progressive variety. *Brain*. 1964;87(4):707-718.
26. Dubowitz V. Infantile muscular atrophy--a broad spectrum. *Clin Proc Child Hosp Dist Columbia*. 1967;23(8):223-239.
27. Hausmanowa-Petrusewicz I, Prot J, Sawicka E. W sprawie klinicznej zmienności dziecięcej i młodzieńczej postaci zaniku rdzeniowego mięśni *Rozprawy Wydz Nauk Medycznych* 1966, rozdz. X : 185.
28. Hausmanowa-Petrusewicz I, Askanas W, Badurska B, i in. Infantile and juvenile spinal muscular atrophy. *J Neurol Sci*. 1968;6(2):269-287.
29. Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J, Borkowska J, Prot J. Genetic investigations on chronic forms of infantile and juvenile spinal muscular atrophy. *J Neurol*. 1976;213(4):335-346.
30. Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J, Borkowska J. Juvenile motor neuron diseases--the sex influence in benign juvenile pseudodystrophic spinal muscular atrophy. *Human motor neuron diseases (red. L.P.Rowland)*, New York 1982, Raven Press.
31. Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J, Borkowska J, Szirkowiec W. Chronic proximal spinal muscular atrophy of childhood and adolescence: sex influence. *J Med Genet*. 1984;21(6):447-450.
32. Zaremba J. *Genetyka przewlekłej proksymalnej postaci rdzeniowego zaniku mięśni*. Warszawa 1983, Instytut Psychoneurologiczny.

33. Gilliam TC, Brzustowicz LM, Castilla LH, i in. Genetic homogeneity between acute and chronic forms of spinal muscular atrophy. *Nature*. 1990;345(6278):823-825.
34. Melki J, Abdelhak S, Sheth P, i in. Gene for chronic proximal spinal muscular atrophies maps to chromosome 5q. *Nature*. 1990;344(6268):767-768.
35. Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, i in. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*. 1995;80(1):155-165.
36. Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, i in. Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet*. 1997;16(3):265-269.
37. Lefebvre S, Bürglen L, Frézal J, Munnich A, Melki J. The role of the SMN gene in proximal spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 1998;7(10):1531-1536.
38. Coovert DD, Le TT, McAndrew PE, i in. The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 1997;6(8):1205-1214.
39. Monani UR, Sendtner M, Coovert DD, i in. The human centromeric survival motor neuron gene (SMN2) rescues embryonic lethality in *Smn(-/-)* mice and results in a mouse with spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 2000;9(3):333-339.
40. Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R, Wienker TF, Wirth B. Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet*. 2002;70(2):358-368.
41. Mailman MD, Heinz JW, Papp AC, i in. Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med*. 2002;4(1):20-26.
42. Jędrzejowska M. Dosiebny dziecięcy i młodzieńczy rdzeniowy zanik mięśni – podłoże molekularne a fenotyp choroby, promotor: Hausmanowa-Petrusewicz I. Praca na stopień doktora nauk medycznych wykonana w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M.J. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, Warszawa 2003.
43. Jędrzejowska M, Milewski M, Zimowski J, i in. Phenotype modifiers of spinal muscular atrophy: the number of SMN2 gene copies, deletion in the NAIP gene and probably gender influence the course of the disease. *Acta Biochim Pol*. 2009;56(1):103-108.
44. Jędrzejowska M, Borkowska J, Zimowski J, i in. Unaffected patients with a homozygous absence of the SMN1 gene. *Eur J Hum Genet*. 2008;16(8):930-934.
45. Jędrzejowska M, Jakubowska-Pietkiewicz E, Kostera-Pruszczyk A. X-linked spinal muscular atrophy (SMA2) caused by de novo c.1731C>T substitution in the UBA1 gene. *Neuromuscul Disord*. 2015;25(8):661-666.
46. Jędrzejowska M, Dębek E, Kowalczyk B, i in. The remarkable phenotypic variability of the p.Arg269His variant in the TRPV4 gene. *Muscle Nerve*. 2019;59(1):129-133.
47. Lim SR, Hertel KJ. Modulation of survival motor neuron pre-mRNA splicing by inhibition of alternative 3' splice site pairing. *J Biol Chem*. 2001;276(48):45476-45483.

48. Andreassi C, Jarecki J, Zhou J, i in. Aclarubicin treatment restores SMN levels to cells derived from type I spinal muscular atrophy patients. *Hum Mol Genet*. 2001;10(24):2841-2849.
49. Chang JG, Hsieh-Li HM, Jong YJ, Wang NM, Tsai CH, Li H. Treatment of spinal muscular atrophy by sodium butyrate. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(17):9808-9813.
50. Qiu J, Wu L, Qu R, i in. History of development of the life-saving drug “Nusinersen” in spinal muscular atrophy. *Front Cell Neurosci*. 2022;16:942976.
51. Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, i in. Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMN(Rx)) in children with spinal muscular atrophy. *Neurology*. 2016;86(10):890-897.
52. Finkel RS, Chiriboga CA, Vajsar J, i in. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. *Lancet*. 2016;388(10063):3017-3026.
53. Informacja Amerykańskiej Agencji Żywności i Leków o zatwierdzeniu leku nusinersen do leczenia rdzeniowego zaniku mięśni. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-drug-spinal-muscular-atrophy> [dostęp: 09.05.2024].
54. Informacja Europejskiej Agencji Leków o zatwierdzeniu leku nusinersen do leczenia rdzeniowego zaniku mięśni. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/spinraza-epar-summary-public_pl.pdf [dostęp: 09.05.2024].
55. Informacja Amerykańskiej Agencji Żywności i Leków o zatwierdzeniu leku onasemnogen abeparvovec wraz z opisem wskazań rejestracyjnych <https://www.fda.gov/media/127961/download> [dostęp 09.05.2024].
56. Informacja Europejskiej Agencji Leków o zatwierdzeniu leku onasemnogene abeparvovec do leczenia rdzeniowego zaniku mięśni. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/zolgensma-epar-medicine-overview_pl.pdf [dostęp: 09.05.2024].
57. Informacja Amerykańskiej Agencji Żywności i Leków o zatwierdzeniu leku rysdyplam do leczenia rdzeniowego zaniku mięśni. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-oral-treatment-spinal-muscular-atrophy> [dostęp: 09.05.2024].
58. Informacja Europejskiej Agencji Leków o zatwierdzeniu leku rysdyplam do leczenia rdzeniowego zaniku mięśni. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/evrysdi-epar-medicine-overview_pl.pdf [dostęp: 09.05.2024].
59. Program leczenia rdzeniowego zaniku w Polsce (B102.FM). <https://www.gov.pl/attachment/3622f90d-c6ab-4b9e-90cb-251082a1bfb6> [dostęp: 09.05.2024].

60. Informacja o rządowym programie badań przesiewowych noworodków w Polsce na lata 2019-2026. <https://www.gov.pl/web/zdrowie/program-badan-przesiewowych-noworodkow-w-polsce-na-lata-2019-2026> [dostęp: 09.05.2024].
61. Sugarman EA, Nagan N, Zhu H, i in. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. *Eur J Hum Genet.* 2012;20(1):27-32.
62. Verhaart IEC, Robertson A, Leary R, i in. A multi-source approach to determine SMA incidence and research ready population. *J Neurol.* 2017;264(7):1465-1473.
63. Kostera-Pruszczyk A, Łusakowska A, Jędrzejowska M. Rdzeniowy zanik mięśni 5q. W: Kostera-Pruszczyk A (red.), Potulska-Chromik A (red.). *Choroby nerwowo-mięśniowe.* Warszawa, PZWL 2023: 597-612.
64. Monani UR, Lorson CL, Parsons DW, i in. A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2. *Hum Mol Genet.* 1999;8(7):1177-1183.
65. Singh RN, Singh NN. Mechanism of Splicing Regulation of Spinal Muscular Atrophy Genes. *Adv Neurobiol.* 2018;20:31-61.
66. Wang CC, Chang JG, Chen YL, Jong YJ, Wu SM. Multi-exon genotyping of SMN gene in spinal muscular atrophy by universal fluorescent PCR and capillary electrophoresis. *Electrophoresis.* 2010;31(14):2396-2404.
67. Lorson CL, Hahnen E, Androphy EJ, Wirth B. A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(11):6307-6311.
68. Lorson CL, Androphy EJ. An exonic enhancer is required for inclusion of an essential exon in the SMA-determining gene SMN. *Hum Mol Genet.* 2000;9(2):259-265.
69. Wirth B. Spinal Muscular Atrophy: In the Challenge Lies a Solution. *Trends Neurosci.* 2021;44(4):306-322.
70. Jędrzejowska M, Wiszniewski W, Zimowski J, i in. Application of a rapid non-invasive technique in the molecular diagnosis of spinal muscular atrophy (SMA). *Neurol Neurochir Pol.* 2005;39(2):89-94.
71. Wirth B. An update of the mutation spectrum of the survival motor neuron gene (SMN1) in autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA). *Hum Mutat.* 2000;15(3):228-237.
72. Calucho M, Bernal S, Alías L, i in. Correlation between SMA type and SMN2 copy number revisited: An analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2834 reported cases. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(3):208-215.
73. Jędrzejowska M, Kostera-Pruszczyk A. Spinal muscular atrophy – novel therapies, new challenges. *Child Neurology.* 2017;26(52):11-17.

74. Wirth B, Brichta L, Schrank B, i in. Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased SMN2 copy number. *Hum Genet.* 2006;119(4):422-428.
75. Cuscó I, Bernal S, Blasco-Pérez L, i in. Practical guidelines to manage discordant situations of SMN2 copy number in patients with spinal muscular atrophy. *Neurol Genet.* 2020;6(6):e530.
76. Serra-Juhe C, Tizzano EF. Perspectives in genetic counseling for spinal muscular atrophy in the new therapeutic era: early pre-symptomatic intervention and test in minors. *Eur J Hum Genet.* 2019;27(12):1774-1782.
77. Prior TW, Krainer AR, Hua Y, i in. A positive modifier of spinal muscular atrophy in the SMN2 gene. *Am J Hum Genet.* 2009;85(3):408-413.
78. Cao Y yan, Qu Y jin, He S xi, i in. Association between SMN2 methylation and disease severity in Chinese children with spinal muscular atrophy. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2016;17(1):76-82.
79. Hauke J, Riessland M, Lunke S, i in. Survival motor neuron gene 2 silencing by DNA methylation correlates with spinal muscular atrophy disease severity and can be bypassed by histone deacetylase inhibition. *Hum Mol Genet.* 2009;18(2):304-317.
80. Oprea GE, Kröber S, McWhorter ML, i in. Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science.* 2008;320(5875):524-527.
81. Kaifer KA, Villalón E, Osman EY, i in. Plastin-3 extends survival and reduces severity in mouse models of spinal muscular atrophy. *JCI Insight.* 2017;2(5):e89970.
82. Riessland M, Kaczmarek A, Schneider S, i in. Neurocalcin Delta Suppression Protects against Spinal Muscular Atrophy in Humans and across Species by Restoring Impaired Endocytosis. *Am J Hum Genet.* 2017;100(2):297-315.
83. Singh RN, Howell MD, Ottesen EW, Singh NN. Diverse role of survival motor neuron protein. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2017;1860(3):299-315.
84. Lorson CL, Strasswimmer J, Yao JM, i in. SMN oligomerization defect correlates with spinal muscular atrophy severity. *Nat Genet.* 1998;19(1):63-66.
85. Le TT, Pham LT, Butchbach MER, i in. SMNDelta7, the major product of the centromeric survival motor neuron (SMN2) gene, extends survival in mice with spinal muscular atrophy and associates with full-length SMN. *Hum Mol Genet.* 2005;14(6):845-857.
86. Burnett BG, Muñoz E, Tandon A, Kwon DY, Sumner CJ, Fischbeck KH. Regulation of SMN protein stability. *Mol Cell Biol.* 2009;29(5):1107-1115.
87. Cho S, Dreyfuss G. A degron created by SMN2 exon 7 skipping is a principal contributor to spinal muscular atrophy severity. *Genes Dev.* 2010;24(5):438-442.
88. Seo J, Singh NN, Ottesen EW, Lee BM, Singh RN. A novel human-specific splice isoform alters the critical C-terminus of Survival Motor Neuron protein. *Sci Rep.* 2016;6:30778.

89. Ottesen EW, Seo J, Singh NN, Singh RN. A Multilayered Control of the Human Survival Motor Neuron Gene Expression by Alu Elements. *Front Microbiol.* 2017;8:2252.
90. Setola V, Terao M, Locatelli D, Bassanini S, Garattini E, Battaglia G. Axonal-SMN (a-SMN), a protein isoform of the survival motor neuron gene, is specifically involved in axonogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(6):1959-1964.
91. Gennarelli M, Lucarelli M, Capon F, i in. Survival motor neuron gene transcript analysis in muscles from spinal muscular atrophy patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;213(1):342-348.
92. Paushkin S, Gubitz AK, Massenet S, Dreyfuss G. The SMN complex, an assemblyosome of ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14(3):305-312.
93. Liu Q, Dreyfuss G. A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein. *EMBO J.* 1996;15(14):3555-3565.
94. Carissimi C, Baccon J, Straccia M, i in. Unrip is a component of SMN complexes active in snRNP assembly. *FEBS Lett.* 2005;579(11):2348-2354.
95. Massenet S, Pellizzoni L, Paushkin S, Mattaj IW, Dreyfuss G. The SMN complex is associated with snRNPs throughout their cytoplasmic assembly pathway. *Mol Cell Biol.* 2002;22(18):6533-6541.
96. Gubitz AK, Feng W, Dreyfuss G. The SMN complex. *Exp Cell Res.* 2004;296(1):51-56.
97. Battle DJ, Kasim M, Yong J, i in. The SMN Complex: An Assembly Machine for RNPs. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2006;71(0):313-320.
98. Darras BT. Spinal muscular atrophies. *Pediatr Clin North Am.* 2015;62(3):743-766.
99. Mercuri E, Sumner CJ, Muntoni F, Darras BT, Finkel RS. Spinal muscular atrophy. *Nat Rev Dis Primers.* 2022;8(1):52.
100. D'Amico A, Mercuri E, Tiziano FD, Bertini E. Spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:71.
101. Ioos C, Leclair-Richard D, Mrad S, Barois A, Estournet-Mathiaud B. Respiratory capacity course in patients with infantile spinal muscular atrophy. *Chest.* 2004;126(3):831-837.
102. Wijngaarde CA, Brink RC, de Kort FAS, i in. Natural course of scoliosis and lifetime risk of scoliosis surgery in spinal muscular atrophy. *Neurology.* 2019;93(2):e149-e158.
103. Munsat TL, Davies KE. International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany). *Neuromuscul Disord.* 1992;2(5-6):423-428.
104. Rad N, Cai H, Weiss MD. Management of Spinal Muscular Atrophy in the Adult Population. *Muscle Nerve.* 2022;65(5):498-507.
105. Mercuri E, Bertini E, Iannaccone ST. Childhood spinal muscular atrophy: controversies and challenges. *Lancet Neurol.* 2012;11(5):443-452.

106. MacLeod MJ, Taylor JE, Lunt PW, Mathew CG, Robb SA. Prenatal onset spinal muscular atrophy. *Eur J Paediatr Neurol.* 1999;3(2):65-72.
107. Dubowitz V. Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype. *Eur J Paediatr Neurol.* 1999;3(2):49-51.
108. Grotto S, Cuisset JM, Marret S, i in. Type 0 Spinal Muscular Atrophy: Further Delineation of Prenatal and Postnatal Features in 16 Patients. *J Neuromuscul Dis.* 2016;3(4):487-495.
109. Wijngaarde CA, Blank AC, Stam M, Wadman RI, van den Berg LH, van der Pol WL. Cardiac pathology in spinal muscular atrophy: a systematic review. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):67.
110. Kinali M, Banks LM, Mercuri E, Manzur AY, Muntoni F. Bone Mineral Density in a Paediatric Spinal Muscular Atrophy Population. *Neuropediatrics.* 2004;35(6):325-328.
111. Vicino A, Bello L, Bonanno S, i in. Respiratory function in a large cohort of treatment-naïve adult spinal muscular atrophy patients: a cross-sectional study. *Neuromuscular Disorders.* 2023;33(12):911-916.
112. Glanzman AM, Mazzone E, Main M, i in. The Children’s Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP INTEND): test development and reliability. *Neuromuscul Disord.* 2010;20(3):155-161.
113. O’Hagen JM, Glanzman AM, McDermott MP, i in. An expanded version of the Hammersmith Functional Motor Scale for SMA II and III patients. *Neuromuscul Disord.* 2007;17(9-10):693-697.
114. Main M, Kairon H, Mercuri E, Muntoni F. The Hammersmith functional motor scale for children with spinal muscular atrophy: a scale to test ability and monitor progress in children with limited ambulation. *Eur J Paediatr Neurol.* 2003;7(4):155-159.
115. Finkel RS, Mercuri E, Meyer OH, i in. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 2: Pulmonary and acute care; medications, supplements and immunizations; other organ systems; and ethics. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(3):197-207.
116. Farrar MA, Vucic S, Johnston HM, du Sart D, Kiernan MC. Pathophysiological insights derived by natural history and motor function of spinal muscular atrophy. *J Pediatr.* 2013;162(1):155-159.
117. Mercuri E, Finkel RS, Muntoni F, i in. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(2):103-115.
118. Tiziano FD, Pinto AM, Fiori S, i in. SMN transcript levels in leukocytes of SMA patients determined by absolute real-time PCR. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(1):52-58.
119. Milligan JN, Larson JL, Filipovic-Sadic S, i in. Multisite Evaluation and Validation of a Sensitive Diagnostic and Screening System for Spinal Muscular Atrophy that Reports SMN1 and SMN2 Copy Number, along with Disease Modifier and Gene Duplication Variants. *J Mol Diagn.* 2021;23(6):753-764.

120. Niba ETE, Rochmah MA, Harahap NIF, i in. Spinal Muscular Atrophy: Advanced Version of Screening System with Real-Time mCOP-PCR and PCR-RFLP for SMN1 Deletion. *Kobe J Med Sci.* 2019;65(2):E49-E53.
121. Kotulska K, Jozwiak S, Jedrzejowska M, i in. Newborn screening and gene therapy in SMA: Challenges related to vaccinations. *Front Neurol.* 2022;13:890860.
122. Gos M, Jędrzejowska M. Informacja dotycząca badań genetycznych w kierunku SMA. http://zgm.imid.med.pl/wp-content/uploads/2022/04/informacja-PTGC-_14.03.2022.pdf [dostęp: 12.05.2024].
123. Gos M, Jędrzejowska M, Ołtarzewski M. Badania przesiewowe noworodków w kierunku rdzeniowego zaniku mięśni. *Postępy Neonatologii.* 2021, 3: 27-34.
124. Informacja Europejskiego Sojuszu na rzecz Badań Przesiewowych Noworodków w kierunku Rdzeniowego Zaniku Mięśni nt. badań przesiewowych noworodków w kierunku SMA w Europie. [dostęp: 12.05.2024].
125. Hausmanowa-Petrusewicz I, Karwańska A. Electromyographic findings in different forms of infantile and juvenile proximal spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve.* 1986;9(1):37-46.
126. Krocza S, Steczkowska M, Kaciński M. Neurophysiological studies on muscles and peripheral nerves in children with molecularly diagnosed spinal muscular atrophy. *Neurol Dziec* 2009; 18, 35: 27-34.
127. Freigang M, Wurster CD, Hagenacker T, i in. Serum creatine kinase and creatinine in adult spinal muscular atrophy under nusinersen treatment. *Ann Clin Transl Neurol.* 2021;8(5):1049-1063.
128. Muqit MMK, Moss J, Sewry C, Lane RJM. Phenotypic variability in siblings with type III spinal muscular atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004;75(12):1762-1764.
129. Bayoumy S, Verberk IMW, Vermunt L, i in. Neurofilament light protein as a biomarker for spinal muscular atrophy: a review and reference ranges. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM).* 2024;62(7):1252-1265.
130. Darras BT, Crawford TO, Finkel RS, i in. Neurofilament as a potential biomarker for spinal muscular atrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019;6(5):932-944.
131. Hua Y, Sahashi K, Hung G, i in. Antisense correction of SMN2 splicing in the CNS rescues necrosis in a type III SMA mouse model. *Genes Dev.* 2010;24(15):1634-1644.
132. Nusinersen. Charakterystyka produktu leczniczego. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spinraza-epar-product-information_pl.pdf [dostęp: 12.05.2024].
133. Wood MJA, Talbot K, Bowerman M. Spinal muscular atrophy: antisense oligonucleotide therapy opens the door to an integrated therapeutic landscape. *Hum Mol Genet.* 2017;26(R2):R151-R159.
134. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, i in. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med.* 2017;377(18):1723-1732.

135. Mercuri E, Darras BT, Chiriboga CA, i in. Nusinersen versus Sham Control in Later-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med.* 2018;378(7):625-635.
136. De Vivo DC, Bertini E, Swoboda KJ, i in. Nusinersen initiated in infants during the presymptomatic stage of spinal muscular atrophy: Interim efficacy and safety results from the Phase 2 NURTURE study. *Neuromuscul Disord.* 2019;29(11):842-856.
137. Mercuri E, Darras B, Chiriboga C, i in. SMA – THERAPY: P.257 Longer-term treatment with nusinersen: Results in later-onset spinal muscular atrophy from the SHINE study. *Neuromuscular Disorders.* 2020;30:S121.
138. Acsadi G, Crawford TO, Müller-Felber W, i in. Safety and efficacy of nusinersen in spinal muscular atrophy: The EMBRACE study. *Muscle Nerve.* 2021;63(5):668-677.
139. Rosiak G, Lusakowska A, Milczarek K, i in. Ultra-low radiation dose protocol for CT-guided intrathecal nusinersen injections for patients with spinal muscular atrophy and severe scoliosis. *Neuroradiology.* 2021;63(4):539-545.
140. Zanfini BA, Catarci S, Patanella AK, i in. Ultrasound assisted lumbar intrathecal administration of nusinersen in adult patients with spinal muscular atrophy: A case series. *Muscle Nerve.* 2021;64(5):594-599.
141. Farrar MA, Park SB, Vucic S, i in. Emerging therapies and challenges in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 2017;81(3):355-368.
142. Charakterystyka produktu leczniczego Zolgensma.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zolgensma-epar-product-information_pl.pdf [dostęp 12.05.2024].
143. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, i in. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med.* 2017;377(18):1713-1722.
144. Mendell JR, Al-Zaidy SA, Lehman KJ, i in. Five-Year Extension Results of the Phase 1 START Trial of Onasemnogene Apeparvovec in Spinal Muscular Atrophy. *JAMA Neurol.* 2021;78(7):834-841.
145. Day JW, Finkel RS, Chiriboga CA, i in. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy in patients with two copies of SMN2 (STRIVE): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2021;20(4):284-293.
146. Mercuri E, Muntoni F, Baranello G, i in. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STRIVE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2021;20(10):832-841.
147. Strauss KA, Farrar MA, Muntoni F, i in. Onasemnogene abeparvovec for presymptomatic infants with three copies of SMN2 at risk for spinal muscular atrophy: the Phase III SPRINT trial. *Nat Med.* 2022;28(7):1390-1397.
148. Podsumowanie planu zarządzania ryzykiem Europejskiej Agencji Leków dla leku onasemnogen abeparvovec. https://www.ema.europa.eu/en/documents/rmp-summary/zolgensma-epar-risk-management-plan-summary_en.pdf [dostęp: 13.05.2024].

149. Kirschner J, Butoianu N, Goemans N, i in. European ad-hoc consensus statement on gene replacement therapy for spinal muscular atrophy. *Eur J Paediatr Neurol*. 2020;28:38-43.
150. Ratni H, Scalco RS, Stephan AH. Risdiplam, the First Approved Small Molecule Splicing Modifier Drug as a Blueprint for Future Transformative Medicines. *ACS Med Chem Lett*. 2021;12(6):874-877.
151. Rysdyplam. Charakterystyka produktu leczniczego. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2023/20230816160248/anx_160248_pl.pdf [dostęp: 13.05.2024].
152. Baranello G, Darras BT, Day JW, i in. Risdiplam in Type 1 Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*. 2021;384(10):915-923.
153. Darras BT, Masson R, Mazurkiewicz-Bełdzińska M, i in. Risdiplam-Treated Infants with Type 1 Spinal Muscular Atrophy versus Historical Controls. *N Engl J Med*. 2021;385(5):427-435.
154. Mercuri E, Deconinck N, Mazzone ES, i in. Safety and efficacy of once-daily risdiplam in type 2 and non-ambulant type 3 spinal muscular atrophy (SUNFISH part 2): a phase 3, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol*. 2022;21(1):42-52.
155. Chiriboga CA, Bruno C, Duong T, i in. Risdiplam in Patients Previously Treated with Other Therapies for Spinal Muscular Atrophy: An Interim Analysis from the JEWELFISH Study. *Neurol Ther*. 2023;12(2):543-557.
156. Finkel R, Farrar M, Vlodavets D, i in. FP.24 RAINBOWFISH: Preliminary efficacy and safety data in risdiplam-treated infants with presymptomatic spinal muscular atrophy (SMA). *Neuromuscular Disorders*. 2022;32:S85-S86.
157. Hahn A, Günther R, Ludolph A, i in. Short-term safety results from compassionate use of risdiplam in patients with spinal muscular atrophy in Germany. *Orphanet J Rare Dis*. 2022;17(1):276.
158. Stanowisko Zarządu Polskiego Towarzystwa Wakcynologii w sprawie szczepień BCG w związku z wprowadzeniem terapii genowej rdzeniowego zaniku mięśni. <http://ptwakc.org.pl/2021/08/31/stanowisko-zarzadu-polskiego-towarzystwa-wakcynologii-w-sprawie-szczepien-bcg-w-zwiazku-z-wprowadzeniem-terapii-genowej-sma/> [dostęp: 13.05.2024].
159. Mier P, Pérez-Pulido AJ. Fungal Smn and Spf30 homologues are mainly present in filamentous fungi and genomes with many introns: implications for spinal muscular atrophy. *Gene*. 2012;491(2):135-141.
160. Burghes AHM, Beattie CE. Spinal muscular atrophy: why do low levels of survival motor neuron protein make motor neurons sick? *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(8):597-609.

161. Schrank B, Götz R, Gunnensen JM, i in. Inactivation of the survival motor neuron gene, a candidate gene for human spinal muscular atrophy, leads to massive cell death in early mouse embryos. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(18):9920-9925.
162. Chan YB, Miguel-Aliaga I, Franks C, i in. Neuromuscular defects in a *Drosophila* survival motor neuron gene mutant. *Hum Mol Genet*. 2003;12(12):1367-1376.
163. Frugier T, Tiziano FD, Cifuentes-Diaz C, i in. Nuclear targeting defect of SMN lacking the C-terminus in a mouse model of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 2000;9(5):849-858.
164. Cifuentes-Diaz C, Frugier T, Tiziano FD, i in. Deletion of murine SMN exon 7 directed to skeletal muscle leads to severe muscular dystrophy. *J Cell Biol*. 2001;152(5):1107-1114.
165. Vitte JM, Davoult B, Roblot N, i in. Deletion of murine Smn exon 7 directed to liver leads to severe defect of liver development associated with iron overload. *Am J Pathol*. 2004;165(5):1731-1741.
166. Rochette CF, Gilbert N, Simard LR. SMN gene duplication and the emergence of the SMN2 gene occurred in distinct hominids: SMN2 is unique to *Homo sapiens*. *Hum Genet*. 2001;108(3):255-266.
167. Novelli G, Calzà L, Amicucci P, i in. Expression study of survival motor neuron gene in human fetal tissues. *Biochem Mol Med*. 1997;61(1):102-106.
168. Zaworski P, von Herrmann KM, Taylor S, i in. SMN Protein Can Be Reliably Measured in Whole Blood with an Electrochemiluminescence (ECL) Immunoassay: Implications for Clinical Trials. *PLoS One*. 2016;11(3):e0150640.
169. Anderson K, Potter A, Baban D, Davies KE. Protein expression changes in spinal muscular atrophy revealed with a novel antibody array technology. *Brain*. 2003;126(Pt 9):2052-2064.
170. Wadman RI, Stam M, Jansen MD, i in. A Comparative Study of SMN Protein and mRNA in Blood and Fibroblasts in Patients with Spinal Muscular Atrophy and Healthy Controls. *PLoS One*. 2016;11(11):e0167087.
171. Soler-Botija C, Cuscó I, Caselles L, López E, Baiget M, Tizzano EF. Implication of fetal SMN2 expression in type I SMA pathogenesis: protection or pathological gain of function? *J Neuropathol Exp Neurol*. 2005;64(3):215-223.
172. Hsieh-Li HM, Chang JG, Jong YJ, i in. A mouse model for spinal muscular atrophy. *Nat Genet*. 2000;24(1):66-70.
173. Greensmith L, Vrbová G. Disturbances of neuromuscular interaction may contribute to muscle weakness in spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord*. 1997;7(6-7):369-372.
174. Nadeau A, D'Anjou G, Debray G, Robitaille Y, Simard LR, Vanasse M. A newborn with spinal muscular atrophy type 0 presenting with a clinicopathological picture suggestive of myotubular myopathy. *J Child Neurol*. 2007;22(11):1301-1304.

175. Martínez-Hernández R, Soler-Botija C, Also E, i in. The developmental pattern of myotubes in spinal muscular atrophy indicates prenatal delay of muscle maturation. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2009;68(5):474-481.
176. Ripolone M, Ronchi D, Violano R, i in. Impaired Muscle Mitochondrial Biogenesis and Myogenesis in Spinal Muscular Atrophy. *JAMA Neurol.* 2015;72(6):666-675.
177. Murray LM, Comley LH, Thomson D, Parkinson N, Talbot K, Gillingwater TH. Selective vulnerability of motor neurons and dissociation of pre- and post-synaptic pathology at the neuromuscular junction in mouse models of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2008;17(7):949-962.
178. Fujak A, Raab W, Schuh A, Richter S, Forst R, Forst J. Natural course of scoliosis in proximal spinal muscular atrophy type II and IIIa: descriptive clinical study with retrospective data collection of 126 patients. *BMC Musculoskelet Disord.* 2013;14:283.
179. Robinson D, Galasko CS, Delaney C, Williamson JB, Barrie JL. Scoliosis and lung function in spinal muscular atrophy. *Eur Spine J.* 1995;4(5):268-273.
180. Yang JH, Kasat NS, Suh SW, Kim SY. Improvement in reflux gastroesophagitis in a patient with spinal muscular atrophy after surgical correction of kyphoscoliosis: a case report. *Clin Orthop Relat Res.* 2011;469(12):3501-3505.
181. Sporer SM, Smith BG. Hip dislocation in patients with spinal muscular atrophy. *J Pediatr Orthop.* 2003;23(1):10-14.
182. Haaker G, Fujak A. Proximal spinal muscular atrophy: current orthopedic perspective. *Appl Clin Genet.* 2013;6(11):113-120.
183. Wasserman HM, Hornung LN, Stenger PJ, i in. Low bone mineral density and fractures are highly prevalent in pediatric patients with spinal muscular atrophy regardless of disease severity. *Neuromuscul Disord.* 2017;27(4):331-337.
184. Shanmugarajan S, Tsuruga E, Swoboda KJ, Maria BL, Ries WL, Reddy S V. Bone loss in survival motor neuron (Smn(-/-) SMN2) genetic mouse model of spinal muscular atrophy. *J Pathol.* 2009;219(1):52-60.
185. Behringer M, Gruetzner S, McCourt M, Mester J. Effects of weight-bearing activities on bone mineral content and density in children and adolescents: a meta-analysis. *J Bone Miner Res.* 2014;29(2):467-478.
186. Kilpinen-Loisa P, Paasio T, Soiva M, i in. Low bone mass in patients with motor disability: prevalence and risk factors in 59 Finnish children. *Dev Med Child Neurol.* 2010;52(3):276-282.
187. Laird E, Ward M, McSorley E, Strain JJ, Wallace J. Vitamin D and bone health: potential mechanisms. *Nutrients.* 2010;2(7):693-724.
188. Li YJ, Chen TH, Wu YZ, Tseng YH. Metabolic and Nutritional Issues Associated with Spinal Muscular Atrophy. *Nutrients.* 2020;12(12).
189. Fauroux B, Griffon L, Amaddeo A, i in. Respiratory management of children with spinal muscular atrophy (SMA). *Arch Pediatr.* 2020;27(7S):7S29-7S34.

190. Wijngaarde CA, Veldhoen ES, van Eijk RPA, i in. Natural history of lung function in spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2020;15(1):88.
191. Darbà J, Marsà A. Patient characteristics and hospitalisation costs of spinal muscular atrophy in Spain: a retrospective multicentre database analysis. *BMJ Open.* 2019;9(11):e031271.
192. Djordjevic SA, Milic-Rasic V, Brankovic V, i in. Cardiac findings in pediatric patients with spinal muscular atrophy types 2 and 3. *Muscle Nerve.* 2021;63(1):75-83.
193. Palladino A, Passamano L, Taglia A, i in. Cardiac involvement in patients with spinal muscular atrophies. *Acta Myol.* 2011;30(3):175-178.
194. Bach JR, Baird JS, Plosky D, Navado J, Weaver B. Spinal muscular atrophy type 1: management and outcomes. *Pediatr Pulmonol.* 2002;34(1):16-22.
195. Shababi M, Habibi J, Yang HT, Vale SM, Sewell WA, Lorson CL. Cardiac defects contribute to the pathology of spinal muscular atrophy models. *Hum Mol Genet.* 2010;19(20):4059-4071.
196. Rudnik-Schöneborn S, Vogelgesang S, Armbrust S, Graul-Neumann L, Fusch C, Zerres K. Digital necroses and vascular thrombosis in severe spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve.* 2010;42(1):144-147.
197. Devriendt K, Lammens M, Schollen E, i in. Clinical and molecular genetic features of congenital spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 1996;40(5):731-738.
198. Bach JR. Medical considerations of long-term survival of Werdnig-Hoffmann disease. *Am J Phys Med Rehabil.* 2007;86(5):349-355.
199. Araujo A prufer de QC, Araujo M, Swoboda KJ. Vascular perfusion abnormalities in infants with spinal muscular atrophy. *J Pediatr.* 2009;155(2):292-294.
200. Corsello A, Scatigno L, Pascuzzi MC, i in. Nutritional, Gastrointestinal and Endo-Metabolic Challenges in the Management of Children with Spinal Muscular Atrophy Type 1. *Nutrients.* 2021;13(7).
201. Messina S, Sframeli M, Vita G, i in. Autonomic nervous system involvement in spinal muscular atrophy type 1, 2 and 3. *Neuromuscular Disorders.* 2017;27:S133-S134.
202. Sintusek P, Catapano F, Angkathunkayul N, i in. Histopathological Defects in Intestine in Severe Spinal Muscular Atrophy Mice Are Improved by Systemic Antisense Oligonucleotide Treatment. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155032.
203. Deguise MO, Baranello G, Mastella C, i in. Abnormal fatty acid metabolism is a core component of spinal muscular atrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019;6(8):1519-1532.
204. Thomson AK, Somers E, Powis RA, i in. Survival of motor neurone protein is required for normal postnatal development of the spleen. *J Anat.* 2017;230(2):337-346.
205. Bowerman M, Swoboda KJ, Michalski JP, i in. Glucose metabolism and pancreatic defects in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 2012;72(2):256-268.

206. Brener A, Sagi L, Shtamler A, Levy S, Fattal-Valevski A, Lebenthal Y. Insulin-like growth factor-1 status is associated with insulin resistance in young patients with spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord*. 2020;30(11):888-896.
207. Deguise MO, Chehade L, Kothary R. Metabolic Dysfunction in Spinal Muscular Atrophy. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11).
208. Sproule DM, Montes J, Montgomery M, i in. Increased fat mass and high incidence of overweight despite low body mass index in patients with spinal muscular atrophy. *Neuromuscular Disorders*. 2009;19(6):391-396.
209. Nery FC, Siranosian JJ, Rosales I, i in. Impaired kidney structure and function in spinal muscular atrophy. *Neurol Genet*. 2019;5(5):e353.
210. Hijikata Y, Hashizume A, Yamada S, i in. Biomarker-based analysis of preclinical progression in spinal and bulbar muscular atrophy. *Neurology*. 2018;90(17):e1501-e1509.
211. Alves CRR, Zhang R, Johnstone AJ, i in. Serum creatinine is a biomarker of progressive denervation in spinal muscular atrophy. *Neurology*. 2020;94(9):e921-e931.
212. Brener A, Lebenthal Y, Shtamler A, i in. The endocrine manifestations of spinal muscular atrophy, a real-life observational study. *Neuromuscul Disord*. 2020;30(4):270-276.
213. Lipnick SL, Agniel DM, Aggarwal R, i in. Systemic nature of spinal muscular atrophy revealed by studying insurance claims. *PLoS One*. 2019;14(3):e0213680.
214. Ottesen EW, Howell MD, Singh NN, Seo J, Whitley EM, Singh RN. Severe impairment of male reproductive organ development in a low SMN expressing mouse model of spinal muscular atrophy. *Sci Rep*. 2016;6:20193.
215. Chang WF, Xu J, Lin TY, i in. Survival Motor Neuron Protein Participates in Mouse Germ Cell Development and Spermatogonium Maintenance. *Int J Mol Sci*. 2020;21(3):794.
216. Abati E, Corti S. Pregnancy outcomes in women with spinal muscular atrophy: A review. *J Neurol Sci*. 2018;388:50-60.
217. Frazer KL, Porter S, Goss C. The Genetics and Implications of Neuromuscular Diseases in Pregnancy. *Journal of Perinatal & Neonatal Nursing*. 2013;27(3):205-214.
218. Giavazzi A, Setola V, Simonati A, Battaglia G. Neuronal-Specific Roles of the Survival Motor Neuron Protein. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2006;65(3):267-277.
219. Fan L. Survival motor neuron (SMN) protein: role in neurite outgrowth and neuromuscular maturation during neuronal differentiation and development. *Hum Mol Genet*. 2002;11(14):1605-1614.
220. Wishart TM, Huang JPW, Murray LM, i in. SMN deficiency disrupts brain development in a mouse model of severe spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet*. 2010;19(21):4216-4228.

221. Battaglia G, Princivale A, Forti F, Lizier C, Zeviani M. Expression of the SMN gene, the spinal muscular atrophy determining gene, in the mammalian central nervous system. *Hum Mol Genet.* 1997;6(11):1961-1971.
222. McWhorter ML, Monani UR, Burghes AHM, Beattie CE. Knockdown of the survival motor neuron (Smn) protein in zebrafish causes defects in motor axon outgrowth and pathfinding. *J Cell Biol.* 2003;162(5):919-931.
223. Murray LM, Comley LH, Thomson D, Parkinson N, Talbot K, Gillingwater TH. Selective vulnerability of motor neurons and dissociation of pre- and post-synaptic pathology at the neuromuscular junction in mouse models of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2008;17(7):949-962.
224. Murray LM, Talbot K, Gillingwater TH. Review: neuromuscular synaptic vulnerability in motor neurone disease: amyotrophic lateral sclerosis and spinal muscular atrophy. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2010;36(2):133-156.
225. Kong L, Wang X, Choe DW, i in. Impaired synaptic vesicle release and immaturity of neuromuscular junctions in spinal muscular atrophy mice. *J Neurosci.* 2009;29(3):842-851.
226. Araujo A. Autonomic nervous system dysfunction in motor neuron diseases. *J Rare Dis Res Treat.* 2018;3(1):1-5.
227. Arai H, Tanabe Y, Hachiya Y, i in. Finger Cold-Induced Vasodilatation, Sympathetic Skin Response, and R—R Interval Variation in Patients With Progressive Spinal Muscular Atrophy. *J Child Neurol.* 2005;20(11):871-875.
228. Hachiya Y, Arai H, Hayashi M, i in. Autonomic dysfunction in cases of spinal muscular atrophy type 1 with long survival. *Brain Dev.* 2005;27(8):574-578.
229. Papadopoulou M, Zompola C, Papagiannopoulou G, i in. Neurophysiological Evaluation of Autonomic Dysfunction in Spinal Muscular Atrophy: A Case-Control Study. *Acta Neurol Scand.* 2024;2024:1-6.
230. Gombash SE, Cowley CJ, Fitzgerald JA, i in. SMN deficiency disrupts gastrointestinal and enteric nervous system function in mice. *Hum Mol Genet.* 2015;24(13):3847-3860.
231. Marshall A, Duchen LW. Sensory system involvement in infantile spinal muscular atrophy. *J Neurol Sci.* 1975;26(3):349-359.
232. Korinthenberg R, Sauer M, Ketelsen UP, i in. Congenital axonal neuropathy caused by deletions in the spinal muscular atrophy region. *Ann Neurol.* 1997;42(3):364-368.
233. Rudnik-Schöneborn S, Goebel HH, Schlote W, i in. Classical infantile spinal muscular atrophy with SMN deficiency causes sensory neuronopathy. *Neurology.* 2003;60(6):983-987.
234. Duman O, Uysal H, Skjei KL, Kizilay F, Karauzum S, Haspolat S. Sensorimotor polyneuropathy in patients with SMA type-1: electroneuromyographic findings. *Muscle Nerve.* 2013;48(1):117-121.

235. Pro S, Tozzi AE, D'Amico A, i in. Age-related sensory neuropathy in patients with spinal muscular atrophy type 1. *Muscle Nerve*. 2021;64(5):599-603.
236. Anagnostou E, Miller SP, Guiot MC, i in. Type I spinal muscular atrophy can mimic sensory-motor axonal neuropathy. *J Child Neurol*. 2005;20(2):147-150.
237. Yonekawa T, Komaki H, Saito Y, Sugai K, Sasaki M. Peripheral nerve abnormalities in pediatric patients with spinal muscular atrophy. *Brain Dev*. 2013;35(2):165-171.
238. Sultan HE, El-Emary WS. Sensory changes in pediatric patients with spinal muscular atrophy: an electrophysiologic study. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation*. 2016;43(1):1-6.
239. Koszewicz M, Ubysz J, Dziadkowiak E, Wieczorek M, Budrewicz S. Motor fiber function in spinal muscular atrophy—analysis of conduction velocity distribution. *Front Neurol*. 2023;14.
240. Gruner J E, Bargeton E. Lesions thalamiques dans la myotonie du nourrisson. *Rev Neurol (Paris)* 1952 ; 86:236-242.
241. Mai JK, Majtanik M. Toward a Common Terminology for the Thalamus. *Front Neuroanat*. 2018;12:114.
242. Norman R. Cerebellar hypoplasia in Werdnig-Hoffmann disease. *Arch Dis Child*. 1961;36(185):96-101.
243. Harding BN, Kariya S, Monani UR, i in. Spectrum of neuropathophysiology in spinal muscular atrophy type I. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2015;74(1):15-24.
244. Yohannan M, Patel P, Kolawole T, Malabarey T, Mahdi A. Brain atrophy in Werdnig-Hoffmann disease. *Acta Neurol Scand*. 1991;84(5):426-428.
245. Vincent D, McSweeney N. Spinal muscular atrophy type 0 with a congenital fracture: A case report. *Dev Med Child Neurol*. 2017.
246. Maeda K, Chong PF, Yamashita F, i in. Global Central Nervous System Atrophy in Spinal Muscular Atrophy Type 0. *Ann Neurol*. 2019;86(5):801-802.
247. Oka A, Matsushita Y, Sakakihara Y, Momose T, Yanaginasawa M. Spinal muscular atrophy with oculomotor palsy, epilepsy, and cerebellar hypoperfusion. *Pediatr Neurol*. 1995;12(4):365-369.
248. Ito Y, Kumada S, Uchiyama A, i in. Thalamic lesions in a long-surviving child with spinal muscular atrophy type I: MRI and EEG findings. *Brain Dev*. 2004;26(1):53-56.
249. Cneude F, Sukno S, Boidein F, Dehouck MB, Bourlet A, Vittu G. [Cerebral agyria-pachygyria in a child with Werdnig-Hoffmann disease]. *Rev Neurol (Paris)*. 1999;155(8):589-591.
250. Kang PB, Krishnamoorthy KS, Jones RM, Shapiro FD, Darras BT. Atypical presentations of spinal muscular atrophy type III (Kugelberg–Welander disease). *Neuromuscular Disorders*. 2006;16(8):492-494.

251. Olivieri AN, Iammarrone CS, Di Meglio M, Mauro A, Mellos A. A peculiar case of lameness due to spinal muscular atrophy. *Clin Exp Rheumatol.* 2011; 29. 394-394.
252. Querin G, El Mendili MM, Lenglet T, i in. The spinal and cerebral profile of adult spinal-muscular atrophy: A multimodal imaging study. *Neuroimage Clin.* 2019;21:101618.
253. de Borba FC, Querin G, França MC, Pradat PF. Cerebellar degeneration in adult spinal muscular atrophy patients. *J Neurol.* 2020;267(9):2625-2631.
254. Higashi K, Nakagawa M, Higuchi I, Saito K, Osame M. [Genetically confirmed spinal muscular atrophy type III with epilepsy, cerebral hypoperfusion, and parahippocampal gyrus atrophy]. *Rinsho Shinkeigaku.* 2000;40(4):334-338.
255. Friedman A. EEG dzieci z zanikiem rdzeniowym mięśni [ang. EEG in children with spinal muscular atrophy]. *Neurol Neurochir Pol.* 1986;20(4):319-324.
256. Aminoff M. *Electroencephalography: General Principles and Clinical Applications.* W: Aminoff's *Electrodiagnosis in Clinical Neurology*, 6th Edition Elsevier Saunders 2012: 37-84.
257. Bosak M. *Atlas elektroencefalografii.* Kraków WUJ. 2017.
258. Szabela D. *Potencjały wywołane w praktyce lekarskiej.* Łódzkie Towarzystwo Naukowe. 1999.
259. Szelenberger W. *Potencjały wywołane.* Warszawa, Elmiko. 2000.
260. Holder GE, Celesia GG, Miyake Y, Tobimatsu S, Weleber RG, International Federation of Clinical Neurophysiology. International Federation of Clinical Neurophysiology: recommendations for visual system testing. *Clin Neurophysiol.* 2010;121(9):1393-1409.
261. Di Russo F, Pitzalis S, Spitoni G, i in. Identification of the neural sources of the pattern-reversal VEP. *Neuroimage.* 2005;24(3):874-886.
262. Pratt H, Aminoff M, Nuwer MR, Starr A. Short-latency auditory evoked potentials. The International Federation of Clinical Neurophysiology. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl.* 1999;52:69-77.
263. Abrams BM, Waldman HJ. *Electromyography and Evoked Potentials.* In: Raj's *Practical Management of Pain.* Elsevier; 2008:189-216.
264. Cruccu G, Aminoff MJ, Curio G, i in. Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials. *Clin Neurophysiol.* 2008;119(8):1705-1719.
265. Insola A, Padua L, Mazzone P, Scarnati E, Valeriani M. Low and high-frequency somatosensory evoked potentials recorded from the human pedunculopontine nucleus. *Clinical Neurophysiology.* 2014;125(9):1859-1869.
266. Waliszewska-Prosół M. *Czynność bioelektryczna mózgowia oceniana za pomocą wzrokowych i słuchowych pniowych potencjałów wywołanych u pacjentów z chorobą Hashimoto.* Rozprawa doktorska. Promotor: dr hab. Maria Ejma. Wrocław 2016.

267. Abrams BM, Waldman HJ. Electromyography and Evoked Potentials. In: Raj's Practical Management of Pain. Elsevier; 2008:189-216.
268. Ejma M. Wpływ procesu nowotworowego poza układem nerwowym na czynność bioelektryczną mózgowia, ocenianą za pomocą multimodalnych potencjałów wywołanych. Rozprawa na stopień doktora habilitowanego. Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu Wrocław 2009.
269. Pokryszko-Dragan A. Analiza czynności bioelektrycznej ośrodkowego układu nerwowego, funkcji wegetatywnych i poznawczych, oraz stężenia cytokin prozapalnych w zespole zmęczenia u chorych na stwardnienie rozsiane. Rozprawa na stopień doktora habilitowanego. Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Wrocław 2012.
270. Phurailatpam J. Evoked potentials: Visual evoked potentials (VEPs): Clinical uses, origin, and confounding parameters. Journal of Medical Society. 2014;28(3):140.
271. Green A. Visual Evoked Potentials, Electroretinography, and Other Diagnostic Approaches to the Visual System. Aminoff's Electrodiagnosis in Clinical Neurology, 6th Edition Elsevier Saunders. 2012: 477-503.
272. Legatt A. Brainstem Auditory Evoked Potentials: Methodology, Interpretation, and Clinical Application. W: Aminoff's Electrodiagnosis in Clinical Neurology, 6th Edition. Elsevier Saunders 2012: 519-552.
273. Aminoff MJ, Eisen A. Somatosensory Evoked Potentials. W: Aminoff's Electrodiagnosis in Clinical Neurology, 6th Edition. Elsevier Saunders. 2012: 581-601.
274. Steczkowska M, Krocza S, Biedroń A. Znaczenie potencjałów wywołanych egzogennych i endogennych w diagnostyce chorób układu nerwowego u dzieci. Przegląd Lek. 2011;68(11):1128-33.
275. Arnold WD, Kassar D, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. Muscle Nerve. 2015;51(2):157-167
276. Marzluff WF, Wagner EJ, Duronio RJ. Metabolism and regulation of canonical histone mRNAs: life without a poly(A) tail. Nat Rev Genet. 2008;9(11):843-854.
277. Acsadi G, Lee I, Li X, i in. Mitochondrial dysfunction in a neural cell model of spinal muscular atrophy. J Neurosci Res. 2009;87(12):2748-2756.
278. Han KJ, Foster DG, Zhang NY, i in. Ubiquitin-specific protease 9x deubiquitinates and stabilizes the spinal muscular atrophy protein-survival motor neuron. J Biol Chem. 2012;287(52):43741-43752.
279. Arakawa R, Arakawa M, Kaneko K, Otsuki N, Aoki R, Saito K. Imaging Flow Cytometry Analysis to Identify Differences of Survival Motor Neuron Protein Expression in Patients With Spinal Muscular Atrophy. Pediatr Neurol. 2016;61:70-75.
280. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, i in. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. J Am Geriatr Soc. 2005;53(4):695-699.

281. Gierus J, Mosiołek A, Koweszko T, i in. The Montreal Cognitive Assessment 7.2 – Polish adaptation and research on equivalency. *Psychiatr Pol.* 2015;49(1):171-179.
282. Gierlak-Wójcicka Z, Burlewicz M, Potulska-Chromik A, Kostera-Pruszczyk A. A review of functional assessment scales in non-sitters with spinal muscular atrophy (SMA). *Child Neurology.* 2018;27(54):11-17.
283. THE WHOQOL GROUP. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF Quality of Life Assessment. *Psychol Med.* 1998;28(3):551-558.
284. Skevington SM, Lotfy M, O’Connell KA. The World Health Organization’s WHOQOL-BREF quality of life assessment: Psychometric properties and results of the international field trial. A Report from the WHOQOL Group. *Quality of Life Research.* 2004;13(2):299-310.
285. Kwestionariusz WHOQOL-BREF w polskiej wersji językowej. https://www.who.int/tools/whoqol/whoqol-bref/docs/default-source/publishing-policies/whoqol-bref/polish_whoqol-bref71589543-d0e3-40cd-8e0a-cd171454a339 [dostęp 20.05.2024].
286. Babiloni C, Barry RJ, Başar E, i in. International Federation of Clinical Neurophysiology (IFCN) - EEG research workgroup: Recommendations on frequency and topographic analysis of resting state EEG rhythms. Part 1: Applications in clinical research studies. *Clin Neurophysiol.* 2020;131(1):285-307.
287. Walsh P. The clinical role of evoked potentials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2005;76(suppl_2):ii16-ii22.
288. Koszewicz M, Ubysz J, Dziadkowiak E, Wiczorek M, Budrewicz S. Sensory dysfunction in SMA type 2 and 3 - adaptive mechanism or concomitant target of damage?. 2024. doi:10.21203/rs.3.rs-3989038/v1. (praca nieopublikowana, w recenzji).
289. Günther R, Wurster CD, Cordts I, i in. Patient-Reported Prevalence of Non-motor Symptoms Is Low in Adult Patients Suffering From 5q Spinal Muscular Atrophy. *Front Neurol.* 2019;10.
290. Lusakowska A, Jedrzejowska M, Kaminska A, i in. Observation of the natural course of type 3 spinal muscular atrophy: data from the polish registry of spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1):150.
291. Rejdak K, Mazurkiewicz-Bełdzińska M, Błaszczuk B, i in. Diagnostyka i leczenie padaczki — wytyczne Sekcji Padaczki Polskiego Towarzystwa Neurologicznego. *Polski Przegląd Neurologiczny.* Published online December 7, 2022.
292. Zhou J, Tawk M, Tiziano FD, i in. Spinal Muscular Atrophy Associated with Progressive Myoclonic Epilepsy Is Caused by Mutations in *ASAH1*. *The American Journal of Human Genetics.* 2012;91(1):5-14.
293. Rubboli G, Veggiotti P, Pini A, i in. Spinal muscular atrophy associated with progressive myoclonic epilepsy: A rare condition caused by mutations in *ASAH1*. *Epilepsia.* 2015;56(5):692-698.

294. Radhakrishnan DM, Shree R, Madhaw G, Manchanda R, Mahadevan A, Kumar N. Spinal Muscular Atrophy and Progressive Myoclonic Epilepsy: A Rare Association. *J Neurosci Rural Pract.* 2021;12(1):210-212.
295. Shervin Badv R, Nilipour Y, Rahimi-Dehgolan S, Rashidi-Nezhad A, Ghahvechi Akbari M. A novel case report of spinal muscular atrophy with progressive myoclonic epilepsy from Iran. *Int Med Case Rep J.* 2019;12:155-159.
296. Karimzadeh P, Najmabadi H, Lochmuller H, i in. Five patients with spinal muscular atrophy-progressive myoclonic epilepsy (SMA-PME): a novel pathogenic variant, treatment and review of the literature. *Neuromuscular Disorders.* 2022;32(10):806-810.
297. Mauguière F, Allison T, Babiloni C, i in. Somatosensory evoked potentials. *The International Federation of Clinical Neurophysiology. Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl.* 1999;52:79-90.
298. Bamaga AK, Maamari RN, Culican SM, Shinawi M, Golumbek PT. Child Neurology: Brown-Vialetto-Van Laere syndrome: Dramatic visual recovery after delayed riboflavin therapy. *Neurology.* 2018;91(20):938-941.
299. Pinto WBV de R, Souza PVS de, Badia BML, i in. Adult-onset non-5q proximal spinal muscular atrophy: a comprehensive review. *Arq Neuropsiquiatr.* 2021;79(10):912-923.
300. Peeters K, Chamova T, Jordanova A. Clinical and genetic diversity of SMN1-negative proximal spinal muscular atrophies. *Brain.* 2014;137(Pt 11):2879-2896.
301. Biasini F, Portaro S, Mazzeo A, i in. TRPV4 related scapuloperoneal spinal muscular atrophy: Report of an Italian family and review of the literature. *Neuromuscul Disord.* 2016;26(4-5):312-315.
302. Allison T, Wood CC, Goff WR. Brain stem auditory, pattern-reversal visual, and short-latency somatosensory evoked potentials: latencies in relation to age, sex, and brain and body size. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1983;55(6):619-636.
303. Gilmore R. Evoked potentials in the elderly. *J Clin Neurophysiol.* 1995;12(2):132-138.
304. Onofrij M, Thomas A, Iacono D, D'Andreamatteo G, Paci C. Age-related changes of evoked potentials. *Neurophysiol Clin.* 2001;31(2):83-103.
305. Mervaala E, Pääkkönen A, Partanen J V. The influence of height, age and gender on the interpretation of median nerve SEPs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1988;71(2):109-113.
306. Emmerson-Hanover R, Shearer DE, Creel DJ, Dustman RE. Pattern reversal evoked potentials: gender differences and age-related changes in amplitude and latency. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1994;92(2):93-101.
307. Rosenhall U, Björkman G, Pedersen K, Kall A. Brain-stem auditory evoked potentials in different age groups. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1985;62(6):426-430.
308. Sharma R, Joshi S, Singh KD, Kumar A. Visual Evoked Potentials: Normative Values and Gender Differences. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(7):CC12-5.

309. Poornima S, Ali SS, Balaji PA, Shankar V, Kutty K. Median nerve somatosensory evoked potentials in medical students: Normative data. *Adv Biomed Res.* 2013;2:56.
310. Lastimoso AC, Bass NH, Stanback K, Norvell EE. Lumbar spinal cord and early cortical evoked potentials after tibial nerve stimulation: effects of stature on normative data. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1982;54(5):499-507.
311. Maretina MA, Zheleznyakova GY, Lanko KM, Egorova AA, Baranov VS, Kiselev A V. Molecular Factors Involved in Spinal Muscular Atrophy Pathways as Possible Disease-modifying Candidates. *Curr Genomics.* 2018;19(5):339-355.
312. Rudnik-Schöneborn S, Lützenrath S, Borkowska J, Karwanska A, Hausmanowa-Petrusewicz I, Zerres K. Analysis of creatine kinase activity in 504 patients with proximal spinal muscular atrophy types I-III from the point of view of progression and severity. *Eur Neurol.* 1998;39(3):154-162.
313. Spehr W, Sartorius H, Berglund K, i in. EEG and haemodialysis. A structural survey of EEG spectral analysis, Hjorth's EEG descriptors, blood variables and psychological data. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1977;43(6):787-797.
314. Lizio R, Lopez S, Babiloni C, i in. Resting state EEG rhythms in different stages of chronic kidney disease with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging.* 2023;130:70-79.
315. Komsuoglu SS, Mehta R, Jones LA, Harding GF. Brainstem auditory evoked potentials in chronic renal failure and maintenance hemodialysis. *Neurology.* 1985;35(3):419-423.
316. Kanda F, Jinnai K, Tada K, Fujita T. Somatosensory evoked potentials in acute renal failure: effect of parathyroidectomy. *Kidney Int.* 1990;38(6):1085-1088.
317. Aggarwal HK, Jain D, Bhatia S. Evaluation of visual evoked potentials and brain-stem auditory evoked response in patients of chronic kidney disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2020;31(6):1245-1253.
318. Wang WP, Qiu MD, Ren HJ, Zhang XH. Relations of intracranial pressure, creatine kinase and brainstem auditory evoked potential in patients with traumatic brain edema. *Chin Med J (Engl).* 1994;107(3):205-208.
319. Skevington SM, McCrate FM. Expecting a good quality of life in health: assessing people with diverse diseases and conditions using the WHOQOL-BREF. *Health Expect.* 2012;15(1):49-62.
320. Yohannan M, Patel P, Kolawole T, Malabarey T, Mahdi A. Brain atrophy in Werdnig-Hoffmann disease. *Acta Neurol Scand.* 1991;84(5):426-428.
321. Hsu CF, Chen CY, Yuh YS, Chen YH, Hsu YT, Zimmerman RA. MR findings of Werdnig-Hoffmann disease in two infants. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1998;19(3):550-552.
322. Bonifacci P. Children with low motor ability have lower visual-motor integration ability but unaffected perceptual skills. *Hum Mov Sci.* 2004;23(2):157-168.

323. Bushnell EW, Boudreau JP. Motor development and the mind: the potential role of motor abilities as a determinant of aspects of perceptual development. *Child Dev.* 1993;64(4):1005-1021.
324. Gruner JE, Bargeton E. [Thalamic lesions in myotonia in infant]. *Rev Neurol (Paris).* 1952;86(3):236-242.
325. Matheson JK, Harrington HJ, Hallett M. Abnormalities of multimodality evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol.* 1986;43(4):338-340.
326. Ghezzi A, Mazzalovo E, Locatelli C, Zibetti A, Zaffaroni M, Montanini R. Multimodality evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 1989;79(5):353-356.
327. Iglesias C, Sangari S, El Mendili MM, Benali H, Marchand-Pauvert V, Pradat PF. Electrophysiological and spinal imaging evidences for sensory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *BMJ Open.* 2015;5(2):e007659.
328. Imlach WL, Beck ES, Choi BJ, Lotti F, Pellizzoni L, McCabe BD. SMN is required for sensory-motor circuit function in *Drosophila*. *Cell.* 2012;151(2):427-439.
329. Shorrock HK, Gillingwater TH, Groen EJM. Molecular Mechanisms Underlying Sensory-Motor Circuit Dysfunction in SMA. *Front Mol Neurosci.* 2019;12:59.
330. Eccles JC, Eccles RM, Lundberg A. The convergence of monosynaptic excitatory afferents on to many different species of alpha motoneurons. *J Physiol.* 1957;137(1):22-50.
331. Mears SC, Frank E. Formation of Specific Monosynaptic Connections between Muscle Spindle Afferents and Motoneurons in the Mouse. *The Journal of Neuroscience.* 1997;17(9):3128-3135.
332. Brown A. *Organization in the Spinal Cord : The Anatomy and Physiology of Identified Neurones.* New York, NY: Springer-Verlag. 1981.
333. Rossignol S, Dubuc R, Gossard JP. Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiol Rev.* 2006;86(1):89-154.
334. Locatelli D, Terao M, Fratelli M, et al. Human Axonal Survival of Motor Neuron (a-SMN) Protein Stimulates Axon Growth, Cell Motility, C-C Motif Ligand 2 (CCL2), and Insulin-like Growth Factor-1 (IGF1) Production. *Journal of Biological Chemistry.* 2012;287(31):25782-25794.
335. Caroni P, Grandes P. Nerve sprouting in innervated adult skeletal muscle induced by exposure to elevated levels of insulin-like growth factors. *J Cell Biol.* 1990;110(4):1307-1317.
336. Johnson-Farley NN, Travkina T, Cowen DS. Cumulative activation of akt and consequent inhibition of glycogen synthase kinase-3 by brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-1 in cultured hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;316(3):1062-1069.

337. Serra C, Palacios D, Mozzetta C, i in. Functional interdependence at the chromatin level between the MKK6/p38 and IGF1/PI3K/AKT pathways during muscle differentiation. *Mol Cell*. 2007;28(2):200-213.
338. Hua Y, Sahashi K, Rigo F, i in. Peripheral SMN restoration is essential for long-term rescue of a severe spinal muscular atrophy mouse model. *Nature*. 2011;478(7367):123-126.
339. Kaymaz AY, Bal SK, Bora G, i in. Alterations in insulin-like growth factor system in spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*. 2022;66(5):631-638.
340. Fletcher E V, Simon CM, Pagiazitis JG, i in. Reduced sensory synaptic excitation impairs motor neuron function via Kv2.1 in spinal muscular atrophy. *Nat Neurosci*. 2017;20(7):905-916.
341. Shorrock HK, van der Hoorn D, Boyd PJ, i in. UBA1/GARS-dependent pathways drive sensory-motor connectivity defects in spinal muscular atrophy. *Brain*. 2018;141(10):2878-2894.
342. Sleigh JN, Dawes JM, West SJ, i in. Trk receptor signaling and sensory neuron fate are perturbed in human neuropathy caused by Gars mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(16).
343. Simon CM, Blanco-Redondo B, Buettner JM, i in. Chronic Pharmacological Increase of Neuronal Activity Improves Sensory-Motor Dysfunction in Spinal Muscular Atrophy Mice. *J Neurosci*. 2021;41(2):376-389.
344. Bonanno S, Giossi R, Zanin R, i in. Amifampridine safety and efficacy in spinal muscular atrophy ambulatory patients: a randomized, placebo-controlled, crossover phase 2 trial. *J Neurol*. 2022;269(11):5858-5867.

10. SPIS TABEL I RYCIN ZAMIESZCZONYCH W PRACY

10.1. Spis tabel

Tabela 1. Klasyfikacja SMA z uwzględnieniem przewidywanego okresu przeżycia (bez leczenia) i najczęściej występującej liczby kopii genu <i>SMN2</i>	15
Tabela 2. Struktura wieku i płci grupy chorych na SMA i grupy kontrolnej	43
Tabela 3. Porównanie wzrostu, masy ciała, BMI i długości kończyny górnej w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej.....	43
Tabela 4. Dane demograficzne, genetyczne i kliniczne w grupie chorych z podziałem na typy SMA	44
Tabela 5. Porównanie wyników skal funkcjonalnych między kobietami i mężczyznami w grupie chorych na SMA	45
Tabela 6. Objawy ze strony innych układów/schorzenia współistniejące w grupie chorych na SMA	45
Tabela 7. Wartości stężenia CK i kreatyniny w grupie chorych na SMA	46
Tabela 8. Wyniki kwestionariusza WHO-QOL-BREF w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej -szczegółowe pytania.....	48
Tabela 9. Wyniki kwestionariusza WHO-QOL-BREF w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej – główne domeny.....	49
Tabela 10. Wartości normatywne dla latencji i latencji względnej P100 VEP.....	54
Tabela 11. Porównanie parametrów VEP w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej	56
Tabela 12. Wartości normatywne dla latencji składowych BAEP	56
Tabela 13. Nieprawidłowe parametry BAEP w grupie chorych na SMA	57
Tabela 14. Porównanie parametrów BAEP w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej ...	59
Tabela 15. Wartości normatywne dla latencji składowych SSEP.....	59
Tabela 16. Nieprawidłowe parametry SSEP w grupie chorych na SMA	60
Tabela 17. Porównanie parametrów SSEP w grupie chorych na SMA i grupie kontrolnej	63
Tabela 18. Porównanie parametrów potencjałów wywołanych między kobietami i mężczyznami w grupie chorych na SMA	64
Tabela 19. Zależności pomiędzy parametrami SSEP a wskaźnikami antropometrycznymi ...	65
Tabela 20. Zależności pomiędzy parametrami BAEP a wiekiem wystąpienia pierwszych objawów SMA.....	67

10.2. Spis rycin

Rycina 1. Ekspresja genów <i>SMN1</i> i <i>SMN2</i>	13
Rycina 2. Zapis EEG u 25-letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronne grupy napadowych fal theta podczas hiperwentylacji (a) i fotostymulacji (b).....	51
Rycina 3. Zapis EEG u 18-letniej kobiety z SMA typu 2: obustronnie w odprowadzeniach czołowo-skroniowych i potylicznych grupy fal theta (7 Hz) o amplitudzie tła lub wyższej i zaostrzonych wierzchołkach w czasie hiperwentylacji (a) oraz po jej zakończeniu (b).....	52
Rycina 4. Artefakty mięśniowe w zapisie EEG u 36-letniej kobiety z SMA typu 3	53
Rycina 5. Zapis VEP u 27- letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronnie wydłużone latencje P100	55
Rycina 6. Zapis VEP u 40-letniej kobiety z grupy kontrolnej: wynik prawidłowy.....	55
Rycina 7. Zapis BAEP u 47- letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronnie wydłużone interlatencje I-III oraz I-V	58
Rycina 8. Zapis BAEP u 27-letniej kobiety z grupy kontrolnej: wynik prawidłowy	58
Rycina 9. Zapis SSEP u 37-letniego mężczyzny z SMA typu 2: obustronnie wydłużone latencje wszystkich załamek oraz interlatencje.....	61
Rycina 10. Zapis SSEP u 38- letniego mężczyzny z SMA typu 3: obustronnie wydłużone latencje N20 i P22 oraz wszystkie interlatencje.....	61
Rycina 11. SSEP u 31-letniego mężczyzny z grupy kontrolnej: wynik prawidłowy	62
Rycina 12. Korelacja między poziomem kreatyniny a średnią częstotliwością czynności podstawowej EEG w grupie chorych na SMA.....	66
Rycina 13. Korelacja między wiekiem wystąpienia pierwszych objawów SMA a latencją załamka I oraz interlatencją I-III BAEP.....	68
Rycina 14. Korelacja między czasem TT SSEP a wynikiem w skali funkcjonalnej HFMSE w grupie chorych na SMA	69
Rycina 15. Korelacja między latencją załamka N9 SSEP a wynikiem w skali funkcjonalnej CHOP-INTEND w grupie chorych na SMA.....	69