

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Stefan A. Đorđević

**PROCENA UČESTALOSTI
KARDIOVASKULARNIH BOLESTI I
POREMEĆAJA METABOLIZMA ŠEĆERA I
MASTI KOD PACIJENATA SA SPINALNOM
MIŠIĆNOM ATROFIJOM**

doktorska disertacija

Beograd, 2021.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Stefan A. Đorđević

**THE ESTIMATION OF THE FREQUENCY OF
CARDIOVASCULAR DISEASES AND
GLUCOSE AND LIPID METABOLISM
DISORDERS IN PATIENTS WITH SPINAL
MUSCULAR ATROPHY**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2021

Mentor: Prof. dr Milan Đukić, pedijatar-kardiolog, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prvi komentor: Prof. dr Ljiljana Marković-Denić, epidemiolog, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Drugi komentor: Prof. dr Vedrana Milić-Rašić, neuropsihijatar, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

1. Prof. dr Tatjana Pekmezović, epidemiolog, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Vojislav Parezanović, pedijatar-kardiolog, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Dimitrije Nikolić, pedijatar-neurolog, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
4. Doc. dr Vera Zdravković, pedijatar-endokrinolog, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
5. Potpukovnik prof. dr Tihomir Ilić, neurolog, redovni profesor Medicinskog fakulteta Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu

Datum odbrane:

Zahvalnica

Ideja da se bavim istraživanjem jedne neurološke bolesti kao što je spinalna mišićna atrofija, potekla je od dr Ivane Đorđević, pametnog, sposobnog i perspektivnog specijaliste neurologije, a uz to i moje velike ljubavi. Iako je u početku ova ideja delovala kao potpuna ludost, drago mi je što sam čvrsto verovao u njenu pronicljivost, dalekovidost i mudrost. Duboko sam joj zahvalan i na velikom razumevanju za moj rad, nezi, brizi, nežnosti i toplini.

Ogromnu zahvalnost dugujem svojim mentorima, prof. dr Vedrani Milić-Rašić, prof. dr Ljiljani Marković-Denić i prof. dr Milanu Đukiću, što su od samog početka imali vere u ovaj projekat, pružili mi svu neophodnu podršku, podelili sa mnom svoje veliko znanje i iskustvo i bili oslonac u mom radu.

Ceo ovaj poduhvat ne bi bio izvodljiv bez nesebične pomoći i entuzijazma prim. dr Vesne Branković. Zahvaljujući njenoj ogromnoj posvećenosti, sposobnosti i smislu za organizaciju lako smo prevazilazili poteškoće i prepreke koje su neizostavni deo svakog istraživanja.

Dr Ana Kosać je mladi neurolog o čijim podvizima i uspesima će se tek pričati. Svojom plemenitošću, znanjem, strpljenjem, razumevanjem i podrškom olakšala mi je putovanje kroz svet neurologije.

Želeo bih da se zahvalim svojim kolegama i prijateljima sa Odeljenja kardiologije, Odeljenja endokrinologije i Odseka medicinske genetike Univerzitetske dečje klinike u Beogradu, kao i iz Centra za humanu molekularnu genetiku Biološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu na tinskom radu i izuzetnom doprinosu našem istraživanju.

Posebnu zahvalnost dugujem pacijentima obolelim od spinalne mišićne atrofije i njihovim porodicama na predivnoj saradnji, strpljenju i prijateljstvu. Njihova požrtvovanost, istrajnost, posvećenost, vera i ljubav zaslužuju svako divljenje.

Želeo bih da izrazim i veliko poštovanje i zahvalnost svojim nesebičnim, požrtvovanim, predanim i neumornim učiteljima, prof. dr Idi Jovanović koja me je uvela u svet pedijatrije i kardiologije i prim. dr Gordani Sušić koja mi je otvorila vrata reumatologije.

Zahvaljujem se svom najboljem prijatelju, Vojislavu Miloševiću, za tehničku podršku i korisne savete pri izradi teze.

I na kraju, a zapravo na početku, tu je moja porodica koja mi je pružila безусловnu ljubav, bezrezervnu podršku i pomoć, snagu, volju i ohrabrenje da istrajem u svom radu i zato ovu tezu posvećujem svojoj porodici.

Procena učestalosti kardiovaskularnih bolesti i poremećaja metabolizma šećera i masti kod pacijenata sa spinalnom mišićnom atrofijom

Sažetak:

Uvod: Spinalna mišićna atrofija (SMA) je autozomno-recesivno, progresivno, degenerativno oboljenje motoneurona u prednjim rogovima kičmene i nižim delovima moždanog stabla koje se klinički ispoljava atrofijom i slabošću mišića. Međutim, sve je više dokaza da je SMA zapravo multisistemska bolest, a ne samo bolest motoneurona. Tradicionalno, SMA se deli u četiri tipa (tipovi 1–4) na osnovu uzrasta u vreme početka bolesti i težine bolesti, pri čemu je tip 1 SMA najteži, a tip 4 SMA najlakši oblik bolesti.

Cilj: procena prevalencije kardiovaskularnih bolesti i poremećaja metabolizma šećera i masti kod bolesnika sa tipom 2 i 3 SMA, kao i ispitivanje povezanosti ovih poremećaja sa kliničkim karakteristikama pacijenata.

Materijal i metode: Ovo je bila studije preseka, sprovedena u periodu od jula 2018. do jula 2019. godine, koja je obuhvatala pacijente sa tipom 2 i 3 SMA uzrasta do 19 godina. Metabolička ispitivanja su učinjena kod pacijenata sa SMA uzrasta ≥ 2 godine. Presimptomatski pacijenti sa bialelnom delecijom gena za preživljavanje motornog neurona 1 (*SMN1*) su isključeni iz studije. Pacijenti sa akutnom infekcijom su inicijalno isključeni, ali su mogli da učestvuju u istraživanju nakon izlečenja. Kod svih pacijenata su učinjena odgovarajuća klinička ispitivanja koja su obuhvatala detaljnu anamnezu, fizikalni pregled, testove motorne funkcije, ehokardiografiju, ultrazvuk jetre, elektrokardiografiju, 24-časovni holter monitoring i laboratorijske analize (srčani biomarkeri, nivo glukoze i insulina u serumu, hemoglobin A1c, lipidni profil, testovi za procenu funkcije jetre, C-reaktivni protein [CRP] i nivoi leptina). Kod određenih pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA, učinjeni su test oralnog opterećenja glukozom (OGTT), 24-časovni ambulatorni monitoring krvnog pritiska (AMKP) i magnetna rezonanca srca. Za procenu povezanosti između z-skora za indeks telesne mase (ITM) i logaritma HOMA-IR (homeostatski model za procenu insulinske rezistencije), kao i povezanosti između z-skora za obim struka (OS) i logaritma HOMA-IR, korišćena je regresiona analiza i analiza varijanse (ANOVA). Pearsonov koeficijent korelacije i Spearmanov koeficijent korelacije ranga korišćeni su redom za procenu povezanosti između z-skora za ITM i logaritamski transformisanih vrednosti leptina i procenu povezanosti između skora na proširenoj Hamersmitovoj (Hammersmith) skali motorne funkcionalnosti (HFMSE skor) i nivoa leptina. P-vrednost manja od 0,05 je smatrana statistički značajnom.

Rezultati: U istraživanje su uključena ukupno 42 bolesnika sa SMA (27 sa tipom 2 i 15 sa tipom 3 SMA) čija je medijana starosti iznosila 7,2 godine (opseg 1,2–18,9 godina). Nijedan pacijent nije imao strukturnu bolest srca, osim jedne pacijentkinje koja je imala prolaps mitralne valvule. Niko od pacijenata nije imao znake srčane disfunkcije. EKG je pokazao sinusnu tahikardiju kod 7 pacijenata (16,7%) i produžen PR interval kod jednog pacijenta (2,4%). Holter monitoring je pokazao benigne ventrikularne aritmije kod 2 pacijenta (4,8%) i retke supraventrikularne ekstrasistole kod jednog pacijenta. Prosečna 24-časovna srčana frekvencija je bila povišena kod 6 pacijenata (14,3%), dok je minimalna frekvencija bila povećana, a maksimalan RR interval snižen kod 23 pacijenta (54,8%). Šest pacijenata (14,3%) je imalo povišen krvni pritisak mereno sfigmomanometrom ili na AMKP-u. Metaboličko ispitivanje je učinjeno kod 37 pacijenata, od kojih je 11 (29,7%) ispunilo kriterijume za predijabetes, ali nijedan nije imao jasno ispoljen tip 2 dijabetesa. Postojala je statistički značajna kvadratna povezanost između z-skora za ITM i logaritma HOMA-IR, $F(2, 34) = 22,5$, $p < 0,001$, kao i između z-skora za OS i logaritma HOMA-IR, $F(2, 34) = 19,6$, $p < 0,001$. Dislipidemija je otkrivena kod 11 pacijenata (29,7%), a 4 pacijenta (10,8%) su imala steatozu jetre na ultrazvuku. Šesnaest

pacijenata (43,2%) je imalo najmanje jedan patološki nalaz (predijabetes, dislipidemiju ili steatozu jetre). Svi pacijenti sem jednog su bili nepokretni, pri čemu je njih 12 (75%) imalo ITM ≥ 85 . percentila. Blago povišene vrednosti CRP-a registrovane su kod 4 pacijenta sa SMA koji su imali prekomernu telesnu težinu ili su bili gojazni, a dvoje od njih je imalo predijabetes. Postojala je jaka pozitivna linearna korelacija između z-skora za ITM i logaritamski transformisanih vrednosti leptina, $r(35) = 0,879$, $p < 0,001$. Sa druge strane, nije nađena statistički značajna korelacija između HFMSE skora i nivoa leptina, $r_s(35) = 0,24$, $p = 0,15$. Tri pacijenta su ispunila kriterijume za metabolički sindrom. Jedno malo dete razvilo je hipoglikemiju nakon gladovanja preko noći.

Zaključak: Prevalencija klinički značajnih srčanih oboljenja kod pedijatrijskih pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA je niska, ali kod nekih pacijenata mogu biti prisutni supklinički poremećaji srčanog ritma. Detaljna anamneza i fizikalni pregled bi trebalo da su dovoljni za otkrivanje srčanih oboljenja kod ovih pacijenata. Korist od dopunskih kardioloških ispitivanja je mala, ukoliko anamneza i fizikalni pregled ne bude sumnju na srčano oboljenje. Nepokretni pacijenti sa SMA, koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni, posebno su izloženi riziku od insulinske rezistencije, povišene glikemije našte, poremećene tolerancije glukoze, dislipidemije, steatoze jetre i arterijske hipertenzije. Zbog toga se kod ovih pacijenata može očekivati i razvoj metaboličkog sindroma. Mala, pothranjena deca sa SMA mogu razviti hipoglikemiju tokom perioda gladovanja.

Ključne reči: spinalna mišićna atrofija, tehnike slikovnog prikaza srca, holter monitoring, ambulatorni monitoring krvnog pritiska, glikemija, insulinska rezistencija, dislipidemija, masna jetra, leptin, metabolički sindrom

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: epidemiologija, pedijatrija

UDK broj:

The estimation of the frequency of cardiovascular diseases and glucose and lipid metabolism disorders in patients with spinal muscular atrophy

Abstract:

Introduction: Spinal muscular atrophy (SMA) is an autosomal recessive, progressive, degenerative disorder of motor neurons in the spinal cord and lower brainstem, manifesting clinically as muscular weakness and atrophy. However, there is growing evidence that SMA is a multi-organ disease rather than just a degenerative disorder of the lower motor neurons. Traditionally, SMA is classified into four types (SMA types 1–4) based on the age of onset and the severity of the disease, with SMA type 1 being the most severe and SMA type 4 the mildest form of the disease.

Objective: to estimate the prevalence of cardiovascular diseases and glucose and lipid metabolism disorders in patients with SMA types 2 and 3 and to correlate these abnormalities with patients' clinical characteristics.

Material and methods: This was a cross-sectional study of type 2 and 3 SMA patients aged less than 19 years, conducted between July 2018 and July 2019. The metabolic evaluation was performed in patients ≥ 2 years of age. Presymptomatic siblings with biallelic loss of the survival of motor neuron 1 (*SMN1*) gene were excluded. Patients with an intercurrent illness were allowed to enter the study after the resolution of the illness. All eligible patients underwent a comprehensive clinical assessment, including complete medical history, physical examination, motor function testing, echocardiography, liver ultrasound, electrocardiography, 24-hour Holter monitoring, and laboratory analyses (cardiac biomarkers, serum glucose and insulin levels, hemoglobin A1c, lipid profile, liver function tests, C-reactive protein [CRP], and leptin levels). A subset of patients underwent oral glucose tolerance test (OGTT), 24-hour ambulatory blood pressure monitoring (ABPM), and cardiovascular magnetic resonance imaging.

Regression analysis and the analysis of variance (ANOVA) were employed to estimate the relationship between body mass index (BMI) z-score and the logarithm of homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) as well as the relationship between waist circumference (WC) z-score and the logarithm of HOMA-IR. Pearson correlation coefficient and Spearman's rank correlation coefficient were used to estimate the relationship between the BMI z-score and the log-transformed leptin levels and between the expanded Hammersmith Functional Motor Scale (HFMSE) score and leptin levels, respectively. A p-value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: In total, 42 SMA patients (27 type 2, 15 type 3) with a median age of 7.2 years (range 1.2–18.9 years) were enrolled. No patient had structural heart disease except for one with mitral valve prolapse. None had signs of ventricular dysfunction. ECG showed sinus tachycardia in 7 patients (16.7%), and prolonged PR interval in one (2.4%). Holter monitoring detected benign ventricular arrhythmias in 2 patients (4.8%), and rare supraventricular premature beats in one. The mean 24-hour heart rate was elevated in 6 patients (14.3%), while the minimum heart rate was increased and the maximum RR interval decreased in 23 (54.8%). Six patients (14.3%) had high blood pressure as determined by sphygmomanometry or ABPM.

Thirty-seven patients underwent metabolic evaluation. Of them, 11 patients (29.7%) met the criteria for prediabetes, but none had overt type 2 diabetes. There was a statistically significant quadratic relationship between the BMI z-score and the logarithm of HOMA-IR, $F(2, 34) = 22.5, p < 0.001$, as well as between the WC z-score and the logarithm of HOMA-IR, $F(2, 34) = 19.6, p < 0.001$. Dyslipidemia was detected in 11 patients (29.7%), and 4 (10.8%) had hepatic steatosis on ultrasound. Sixteen patients (43.2%) had at least one abnormal finding (prediabetes, dyslipidemia, or hepatic steatosis); all but one were non-ambulatory and 12 (75%) had BMI ≥ 85 th percentile. Four

overweight/obese SMA patients, of which two with prediabetes, had slightly elevated CRP levels. There was a strong positive linear correlation between the BMI z-score and the log-transformed leptin levels, $r(35) = 0.879$, $p < 0.001$. Leptin levels, however, showed no statistically significant correlation with HFMSE score, $r_s(35) = 0.24$, $p = 0.15$. Three patients met the criteria for metabolic syndrome. One young child developed fasting hypoglycemia.

Conclusion: The prevalence of the clinically significant cardiac disease in patients with SMA types 2 and 3 is low, although some patients might have subclinical heart rhythm abnormalities. A complete cardiac history and physical examination are a useful screen. The yield of additional cardiac investigations is low unless cardiac disease is suspected based on history and physical examination. Non-ambulatory overweight or obese SMA patients are particularly at risk for insulin resistance, fasting hyperglycemia, impaired glucose tolerance, dyslipidemia, fatty liver disease, and arterial hypertension. Metabolic syndrome, therefore, might be expected in these patients. Young underweight patients may develop fasting hypoglycemia.

Keywords: spinal muscular atrophy, cardiac imaging techniques, Holter monitoring, ambulatory blood pressure monitoring, blood glucose, insulin resistance, dyslipidemias, fatty liver, leptin, metabolic syndrome

Scientific field: medicine

Scientific subfield: epidemiology, pediatrics

UDC number:

Sadržaj

1	Uvod.....	1
1.1	Spinalna mišićna atrofija: definicija, epidemiologija i klinička slika	1
1.1.1	Definicija.....	1
1.1.2	Epidemiologija.....	1
1.1.3	Klinička slika	2
1.2	Genetska osnova.....	5
1.3	Dijagnoza.....	6
1.4	Uloga i značaj proteina SMN	8
1.5	Kardiovaskularni poremećaji u spinalnoj mišićnoj atrofiji	9
1.6	Poremećaji metabolizma šećera i masti u spinalnoj mišićnoj atrofiji	10
1.7	Lečenje i praćenje.....	15
2	Ciljevi.....	17
3	Materijal i metode	18
3.1	Dizajn studije.....	18
3.2	Ispitanici	18
3.3	Prikupljanje podataka o bolesnicima.....	18
3.3.1	Epidemiološki upitnik	18
3.3.2	Dopunska dijagnostička ispitivanja	21
3.4	Dijagnoza metaboličkog sindroma	25
3.5	Statistička analiza	25
4	Rezultati	26
4.1	Demografske i kliničke karakteristike bolesnika	26
4.2	Ehokardiografski pregled	29
4.3	Ultrazvuk abdomena.....	30
4.4	EKG i 24-časovni holter monitoring.....	30
4.5	Laboratorijske analize krvi i rezultati testa opterećenja glukozom.....	33
4.6	24-časovni ambulatorni monitoring krvnog pritiska (AMKP).....	41
4.7	Magnetna rezonanca (MR) srca	42
4.8	Metabolički sindrom.....	43
5	Diskusija.....	44
6	Zaključci.....	53
7	Literatura.....	55

1 Uvod

1.1 Spinalna mišićna atrofija: definicija, epidemiologija i klinička slika

1.1.1 Definicija

Spinalna mišićna atrofija (SMA) je termin koji označava grupu progresivnih, degenerativnih naslednih bolesti koje se karakterišu gubitkom motoneurona u prednjim rogovima kičmene moždine i moždanom stablu i posledičnom mišićnom slabošću i atrofijom [1,2]. SMA se obično klasifikuje prema distribuciji mišićne slabosti (npr. predominantno proksimalna ili distalna slabost) i obrascu nasleđivanja (npr. autozomno-recesivno, autozomno-dominantno ili nasleđivanje vezano za X hromozom) [2,3].

Najčešći oblik SMA je proksimalna, autozomno-recesivna SMA uzrokovana bialelnom delecijom ili drugim mutacijama gena za preživljavanje motornog neurona 1 (eng. survival motor neuron 1, *SMN1*) na dugom kraku 5. hromozoma (tzv. 5q SMA) [4]. Većina bolesnika mutacije gena *SMN1* nasleđuje od svojih roditelja, dok se u 2% slučajeva radi o *de novo* mutacijama [5].

1.1.2 Epidemiologija

5q SMA (u daljem tekstu: SMA) je jedna od češćih retkih bolesti sa incidencijom od oko 8 na 100.000 živorođenih (~1 na 12.000) i prevalencijom od oko 1-2 na 100.000 osoba [6,7]. Pored toga, SMA se smatra drugom najčešćom letalnom autozomno-recesivnom bolešću, posle cistične fibroze [8].

Kada su u pitanju incidencija i prevalencija SMA, pre se može govoriti o proceni, nego o tačnim vrednostima. Razlozi za to su brojni. Kao prvo, mali broj studija je ispitivao incidenciju i prevalenciju SMA, pri čemu je većina ovih studija sprovedena pre 1995. godine, odnosno pre nego što je otkriven gen odgovoran za SMA. Prema tome, u starijim studijama, dijagnoza SMA se zasnivala na kliničkoj slici, a ne na genetskoj dijagnozi, pa se ne može isključiti mogućnost da je nekim bolesnicima pogrešno pripisana dijagnoza SMA. Drugo, većina studija koje su ispitivale incidenciju i prevalenciju SMA je rađena na malim geografskim područjima ili je obuhvatala relativno mali uzorak populacije [6]. Pored toga, obuhvat bolesnika je manji, ukoliko ne postoji dobro organizovan zdravstveni sistem i nacionalni registar obolelih od SMA. S obzirom da je SMA retka bolest, male greške u broju obolelih mogu značajno da utiču na incidenciju i prevalenciju (uzoračka pristrasnost) [6]. Treće, prisutne su geografske i etničke razlike u incidenciji i prevalenciji SMA. To se ogleda u činjenici da učestalost heterozigotnih nosilaca mutacije gena *SMN1* u populaciji varira od 1/41 u Evropi do 1/145 u podsaharskoj Africi [6,7]. Pored toga, incidencija i prevalencija SMA su veći u zemljama gde je velika učestalost konsangviniteta [6,9]. Na kraju, postoje i drugi važni faktori koji utiču na incidenciju i prevalenciju SMA, a to su, u prvom redu, poboljšanje zdravstvene nege, nove terapijske mogućnosti u lečenju SMA i uvođenje neonatalnog skrininga na SMA [6].

Prema podacima TREAT-NMD, međunarodne mreže registara obolelih od neuromišićnih bolesti, veliku većinu bolesnika sa SMA (64–71%) čine deca uzrasta do 18 godina, pri čemu je zastupljenost bolesnika muškog i ženskog pola praktično podjednaka [9].

U daljem tekstu će biti reči o epidemiologiji različitih tipova SMA.

1.1.3 Klinička slika

Zbog propadanja donjih (perifernih) motoneurona (α -motoneuroni u prednjim rogovima kičmene moždine i motornim jedrima kranijalnih nerava moždanog stabla), SMA se ispoljava mlitavom mišićnom slabošću, hipotonijom, atrofijom, oslabljenim ili ugašenim tetivnim refleksima i fascikulacijama. Bolest utiče na skeletne mišiće, dok su srčani i glatki mišići po pravilu pošteđeni [10]. Bolesnici sa SMA obično imaju normalan mentalni razvoj [11].

SMA se klasično deli u četiri osnovna tipa, u zavisnosti od uzrasta u vreme početka bolesti, motornih postignuća i životnog veka bolesnika: tip 1 SMA (infantilna forma, Werdnig-Hoffmann-ova bolest) koja je najteži oblik bolesti, tip 2 SMA (intermedijarna forma), tip 3 SMA (juvenilna forma, Wohlfart-Kugelberg-Welander-ina bolest) i tip 4 SMA (adultna forma) koji predstavlja najlakši oblik bolesti [12]. Neki autori izdvajaju i tip 0 kao ekstreman oblik tipa 1 [13].

Tip 1 SMA se naziva još i Werdnig-Hoffmann-ova bolest po austrijskom neurologu Guidu Werdnigu (Guido Werdnig) i nemačkom neurologu Johanu Hofmanu (Johann Hoffmann) koji su krajem 19. veka opisali sindrom progresivne mišićne slabosti koja počinje u prvoj godini života i završava se letalno u ranom detinjstvu, obično pre 4. godine života [14]. To je najteži i najčešći oblik bolesti (tip 1 SMA čini preko polovine svih novodijagnostikovanih slučajeva SMA) koji se ispoljava u prvih 6 meseci života [12]. Majke ove dece nekad navode da su intrauterini pokreti ploda bili slabiji ili odsutni. Incidencija tipa 1 SMA iznosi oko 5,5 na 100.000, dok se prevalencija procenjuje na svega 0,04–0,28 na 100.000 zbog velike smrtnosti od ove bolesti [6]. U ekstremnim slučajevima (tip 0 SMA), bolest počinje intrauterino ili se ispoljava odmah na rođenju [13]. Dete sa tipom 1 SMA je budno, hipotonično, oskudne spontane motorike, zauzima takozvani „žablji položaj” [1]. Mišićna slabost je izraženija u nogama nego u rukama i više je zahvaćena proksimalna nego distalna muskulatura. Nelečeni bolesnici sa tipom 1 SMA ne mogu da sede samostalno [12,15,16]. Tetivni refleksi su obično ugašeni. Zbog zahvaćenosti bulbarne muskulature plač je oslabljen, javljaju se poremećaji sisanja i gutanja (povećan je rizik od aspiracije) i mogu da budu vidljive fascikulacije jezika [1]. Zbog poremećaja sisanja i gutanja, hranjenje je obično preko nazogastrične sonde ili perkutane endoskopske gastrostome (PEG). Pokreti očnih jabučica i mimična muskulatura su po pravilu očuvani. Međurebarni mišići su slabi, dok je dijafragma relativno pošteđena, pa je grudni koš zvonast, a disanje paradoksalno [1,4]. Zbog respiratorne slabosti zahtevaju mehaničku ventilaciju. Rano dolazi do razvoja kontraktura, a u najtežim slučajevima su kontakture zglobova prisutne već na rođenju (artrogripoza) [17]. Bolest je progresivna i ovi bolesnici retko preživljavaju posle uzrasta od 2 godine [12]. Najčešći uzrok smrtnosti su respiratorne komplikacije [18].

Tip 2 SMA je intermedijarna forma bolesti koja se klinički preklapa sa tipovima 1 i 3. Bolest se obično ispoljava u uzrastu od 6 do 18 meseci [12]. Incidencija tipa 2 SMA iznosi oko 1,9 na 100.000, a prevalencija oko 1,5 na 100.000 [6]. Deca sa tipom 2 SMA imaju usporen motorni razvoj. Dominantno je zahvaćena proksimalna muskulatura i to više nogu nego ruku. Tetivni refleksi su oslabljeni ili ugašeni. Za razliku od tipa 1, ovi bolesnici mogu da sede samostalno, ali stoje samo uz pridržavanje [12,15,16]. S obzirom da ne mogu da hodaju, vezani su za invalidska kolica. Ponekad se uočava fino podrhtavanje šaka i prstiju (poliminimioklonus). Takođe nekad mogu da se uoče fascikulacije jezika. Često zahtevaju respiratornu potporu u vidu neinvazivne ventilacije (NIV) ili, ređe, invazivne ventilacije, naročito noću i u slučaju respiratornih infekcija. Zbog slabog kašlja zahtevaju aparate koji pospešuju iskašljavanje i time olakšavaju čišćenje disajnih puteva od sekreta. Često se javljaju kifoskolioza, kontrakture zglobova, iščašenje kukova, osteopenija i osteoporoza [19,20]. Bolesnici sa tipom 2 SMA mogu da budu pothranjeni zbog disfagije i kontraktura viličnog zgloba i da zahtevaju ishranu preko PEG-a [20]. Takođe mogu da imaju opstipaciju, gastroezofagealni refluks i usporeno pražnjenje želuca [19–21]. Preživljavanje varira od 10 do 40 godina [15].

Tip 3 SMA je laški oblik bolesti koji se klinički ispoljava posle uzrasta od 18 meseci [12]. Naziva se još i Wohlfart-Kugelberg-Welander-ina bolest po švedskim neurolozima Karlu Gunaru Vilhelmu Volfartu (Karl Gunnar Vilhelm Wohlfart), Eriku Klasu Henriku Kugelbergu (Erik Klas Hendrik Kugelberg) i Lisi Velander (Lisa Welander) koji su sredinom 20. veka opisali ovaj fenotip SMA [22,23]. Procenjuje se da incidencija tipa 3 SMA iznosi 1,7 na 100.000, a prevalencija 1,5 na 100.000 [6]. Bolesnici sa tipom 3 SMA mogu da imaju usporen motorni razvoj i da kasno prohodaju. Odlika ovog tipa SMA je da pacijenti mogu da stoje bez pridržavanja i mogu samostalno da naprave bar par koraka [1,4]. Prisutna je slabost proksimalne muskulature, a tetivni refleksi su oslabljeni ili ugašeni. Često se javljaju hiperlordoza, gegav hod, mišićna zamorljivost i bolovi u mišićima [24]. Takođe mogu da nastanu kontrakture. Ovi bolesnici takođe mogu da razviju kifoskoliozu, ali je ona obično manjeg stepena nego kod tipa 2 SMA. Ređe se javljaju respiratorna slabost i bulbarna simptomatologija. Usled progresije bolesti, bolesnici sa tipom 3 SMA mogu da postanu vezani za invalidska kolica. Većina bolesnika ima praktično normalan životni vek [12,15,16].

Tip 4 SMA je najlakši oblik bolesti koji počinje u odraslom dobu [1,4,12]. Ovi bolesnici dugo mogu da hodaju i obično nemaju respiratornih ili gastrointestinalnih tegoba. Životni vek je normalan.

Svi ovi tipovi bolesti su zapravo deo istog kliničkog spektra, na čijem jednom kraju je tip 0 SMA, a na drugom tip 4 SMA (Tabela 1) [1,4,12,15,16].

Tabela 1. Klasična podela SMA na tipove – kliničke karakteristike i prirodan tok bolesti¹

<i>Tip SMA</i>	<i>Početak ispoljavanja bolesti</i>	<i>Motorna funkcija</i>	<i>Očekivan životni vek</i>	<i>Podtipovi bolesti</i>	<i>Broj kopija gena SMN2</i>
Tip 0	prenatalno ili odmah po rođenju	Ne mogu da sede samostalno	<6 meseci	/	/
Tip 1 (infantilna forma, Werdnig-Hoffmann-ova bolest)	0-6 meseci	Ne mogu da sede samostalno	<2 godine	1A, ne uspostavljaju kontrolu glave, ispoljavanje u neonatalnom uzrastu; 1B, ne uspostavljaju kontrolu glave, početak posle neonatalnog perioda; 1C, uspostavljaju kontrolu glave, početak nakon neonatalnog perioda	1-2 kopije (kod 80% bolesnika)
Tip 2 (intermedijarna forma)	6-18 meseci	Mogu da sede samostalno, ali ne i da stoje	10-40 godina	/	3 kopije (kod >80% bolesnika)
Tip 3 (juvenilna forma, Wohlfart-Kugelberg-Welander-ina bolest)	>18 meseci	Mogu da stoje i hodaju, ali vremenom mogu da postanu nepokretni	Praktično normalan	3A, početak bolesti pre uzrasta od 3 godine; 3B, početak bolesti posle uzrasta od 3 godine	3-4 kopije (kod >96% bolesnika)
Tip 4 (adultna forma)	u odraslom dobu	Mogu da stoje i da hodaju	Normalan	/	≥4 kopije

SMA – spinalna mišićna atrofija; SMN2 – gen za preživljavanje motornog neurona 2

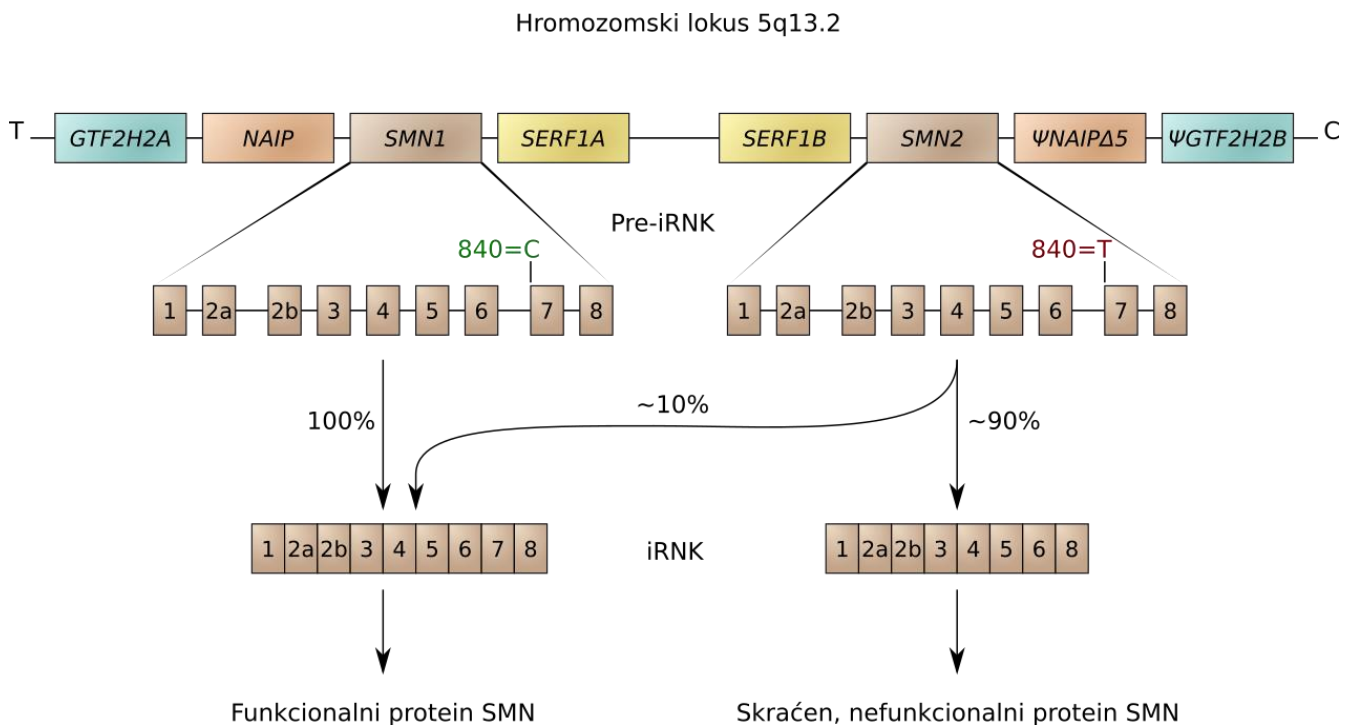
1 prilagođeno prema referencama [12,15,16]

Poslednjih godina, sa pojavom lekova koji menjaju prirodan tok bolesti, primetno je preklapanje u kliničkoj slici različitih tipova SMA. Zbog toga se danas teži novoj podeli pacijenata sa SMA na „ne-sedeće”, „sedeće” i „hodajuće” [20]. "Ne-sedeći" bolesnici su oni koji nikada nisu mogli samostalno da sede (bolesnici sa tipom 1 SMA po staroj klasifikaciji) ili su izgubili ovu sposobnost tokom trajanja

bolesti (neki bolesnici sa tipom 2 SMA), „sedeći” su oni koji mogu da sede samostalno (bolesnici sa tipom 2 SMA) ili su izgubili mogućnost hodanja (neki bolesnici sa tipom 3 SMA, ređe tip 4), dok su „hodajući” bolesnici oni koji mogu da hodaju samostalno (bolesnici sa tipom 3 i 4 SMA) [20].

1.2 Genetska osnova

Kod ljudi se na hromozomskom lokusu 5q13.2 nalazi invertovana (obrnuta) duplikacija koju čine četiri kodirajuća gena i njihove kopije (Slika 1) [15,25,26]. Četiri kodirajuća gena su: *GTF2H2A* (eng. general transcription factor IIIH subunit 2A), protein inhibitor apoptoze iz NLR familije (eng. NLR family apoptosis inhibitor protein, *NAIP*), *SMN1* (telomerna kopija gena *SMN*) i *SERF1A* (eng. small EDRK-rich factor 1A). Kopije ovih gena su ili identične (*SERF1B*) ili se razlikuju u malom broju nukleotida (gen za preživljavanje motornog neurona 2 [eng. survival motor neuron 2, *SMN2*], odnosno centromerna kopija gena *SMN*) ili su pseudogeni (*ΨNAIPΔ5* [*NAIP* pseudogen sa delecijom egzona 5] i *ΨGTF2H2B* [*GTF2H2* pseudogen]) [15,25].



Slika 1. Šema strukture invertovane (obrnute) duplikacije na hromozomu 5 (region 5q13.2) koja sadrži gene za preživljavanje motoneurona 1 i 2 (*SMN1* i *SMN2*). Gen *SMN1* leži u telomernom delu (T) ove duplikacije, a gen *SMN2* u centromernom delu (C). Gen *SMN1* kodira funkcionalni protein SMN pune dužine. Sa druge strane, zbog razlike u jednom baznom paru unutar egzona 7 gena *SMN2* (c.840C>T), samo 10-15% transkripata gena *SMN2* dovodi do stvaranja funkcionalnog proteina SMN, dok 85-90% transkripata dovodi do stvaranja nefunkcionalne, skraćene (bez egzona 7) i nestabilne forme proteina SMN. Takođe su prikazani ostali geni i njihove kopije u regionu 5q13.2: *GTF2H2A* i *ΨGTF2H2B*, *NAIP* i *ΨNAIPΔ5*, *SERF1A* i *SERF1B* (videti tekst za detalje). Prilagođeno prema referencama [15,27].

Gen *SMN1* kodira funkcionalni protein SMN koji je važan za preživljavanje motoneurona. Gen *SMN2* je skoro identičan *SMN1*: oba gena sadrže devet egzona (1, 2a, 2b, 3-8), a razlikuju se samo u pet baznih parova [7,28]. Iako ova razlika ne remeti sled aminokiselina u proteinu, izmena u jednom baznom paru po tipu nukleotidne supstitucije (c.840C>T) unutar egzona 7 gena *SMN2* dovodi do narušavanja egzonskog pojačivača iskrajanja (eng. exonic splicing enhancer) [7]. Egzonski pojačivač iskrajanja je sekvenca DNK unutar egzona koja usmerava, odnosno povećava, ispravno iskrajanje prekurzorne informacione RNK (pre-iRNK) u iRNK [29]. Zbog izmenjenog iskrajanja transkripata gena *SMN2*, 85-90% ovih transkripata ne sadrži egzon 7 [1,2]. Prema tome, gen *SMN2* uglavnom proizvodi skraćenu (bez egzona 7) i nestabilnu formu proteina SMN koja se brzo razgrađuje, a samo oko 10-15% transkripata gena *SMN2* dovodi do stvaranja funkcionalnog proteina SMN koji sadrži egzon 7 (Slika 1) [1,2,4]. Pored toga, postoje i drugi cis-regulatorni elementi koji utiču na iskrajanje gena *SMN2* (npr. intronski utišavač iskrajanja u intronu 7, eng. intronic splicing silencer [ISS]) [7].

Kod oko 95-98% bolesnika, SMA je uzrokovana homozigotnom delecijom egzona 7 i 8 gena *SMN1* (ili, ređe, samo egzona 7), a u oko 2-5% slučajeva se radi o složenim heterozigotima (eng. compound heterozygote) koji imaju deleciju gena *SMN1* na jednom alelu i druge intragenske mutacije gena *SMN1* na drugom alelu [30]. Sa druge strane, izolovana homozigotna delecija gena *SMN2* ne dovodi do pojave bolesti [28].

Većina zdravih ljudi u populaciji ima dva gena *SMN1* i dva gena *SMN2*. Međutim, broj kopija gena *SMN1* i *SMN2* može da varira od 0 do 4 po hromozomu [7]. Ovo je značajno jer gen *SMN2* može delom da nadomesti gubitak gena *SMN1*: veći broj kopija gena *SMN2* po pravilu znači lakši oblik bolesti [31]. Tako bolesnici sa tipom 1 SMA obično imaju dve kopije gena *SMN2*, bolesnici sa tipom 2 SMA tri kopije, bolesnici sa tipom 3 SMA četiri kopije, dok većina pacijenata sa tipom 4 SMA ima 4-6 kopija gena *SMN2* (Tabela 1) [12,15,16]. Iako postoji jaka korelacija između broja kopija gena *SMN2* i težine bolesti, u pojedinim slučajevima se dešava da se težina bolesti ne može predvideti na osnovu broja kopija gena *SMN2*. Razlozi za to su dvojaki: kao prvo, nisu sve kopije gena *SMN2* funkcionalno iste, a kao drugo, postoje i drugi modulišući faktori koji utiču na ispoljavanje i tok bolesti [7].

Protein NAIP deluje neuroprotektivno tako što inhibira apoptozu motoneurona [32–34]. Delecija gena *NAIP* se mnogo češće viđa kod pacijenata sa tipom 1 SMA, nego kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA [32–34]. Protein SERF1 je pozitivan regulator agregacije proteina amiloida i proteotoksičnosti, ali njegova uloga u etiopatogenezi SMA nije razjašnjena [34]. Homozigotna delecija gena *SERF1A* se povezuje sa težim oblicima bolesti [34].

Postoje i drugi genetski faktori, izvan regiona 5q13.2, koji mogu uticati na razvoj bolesti, mada nisu još dovoljno proučeni. Jedna studija kojom je bilo obuhvaćeno šest porodica gde je svako dete obolelo od SMA imalo bar jednu rođenu sestru koja nije obolela, a koja je imala identičnu mutaciju gena *SMN1* i isti broj kopija gena *SMN2*, pokazala je da su asimptomatske sestre imale značajno veću ekspresiju plastina 3 (PLS3) [35]. PLS 3 je protein koji se vezuje za aktinske filamente i omogućava njihovo grupisanje, pa ima uticaj na formiranje konusa rasta aksona, odnosno proces aksonogeneze [35]. Slično, nishodna regulacija neurokalcina delta (NCALD), neuronskog kalcijumskog senzora koji je negativni regulator endocitoze i rasta aksona, povoljno utiče na bolest [36].

1.3 Dijagnoza

Brzo i tačno postavljanje dijagnoze SMA je jako važno, kako zbog genetičkog informisanja porodice, tako i zbog blagovremenog započinjanja terapije.

Na SMA se obično posumnja na osnovu kliničke slike, a dijagnoza se potvrđuje genetskim testiranjem. Ponekad je prisutna pozitivna porodična anamneza za ovu bolest. U slučaju tipične

kliničke slike, biopsija mišića nije indikovana [7,20]. EMG takođe nije indikovana, ali može biti korisna kod lakših oblika bolesti kada je klinička slika slabije ispoljena [20]. Aktivnost serumske kreatin kinaze (CK) je obično normalna ili samo blago povišena [37]. Međutim, postoje i retki slučajevi da je CK značajno povišena (i 10 puta), pa se ne može koristiti za isključivanje dijagnoze SMA [20]. U diferencijalnoj dijagnozi treba razmotriti različite neuromišićne bolesti i oboljenja centralnog nervnog sistema koja se ispoljavaju kao sindrom mlitavog odojčeta (eng. floppy infant syndrome) [38–41].

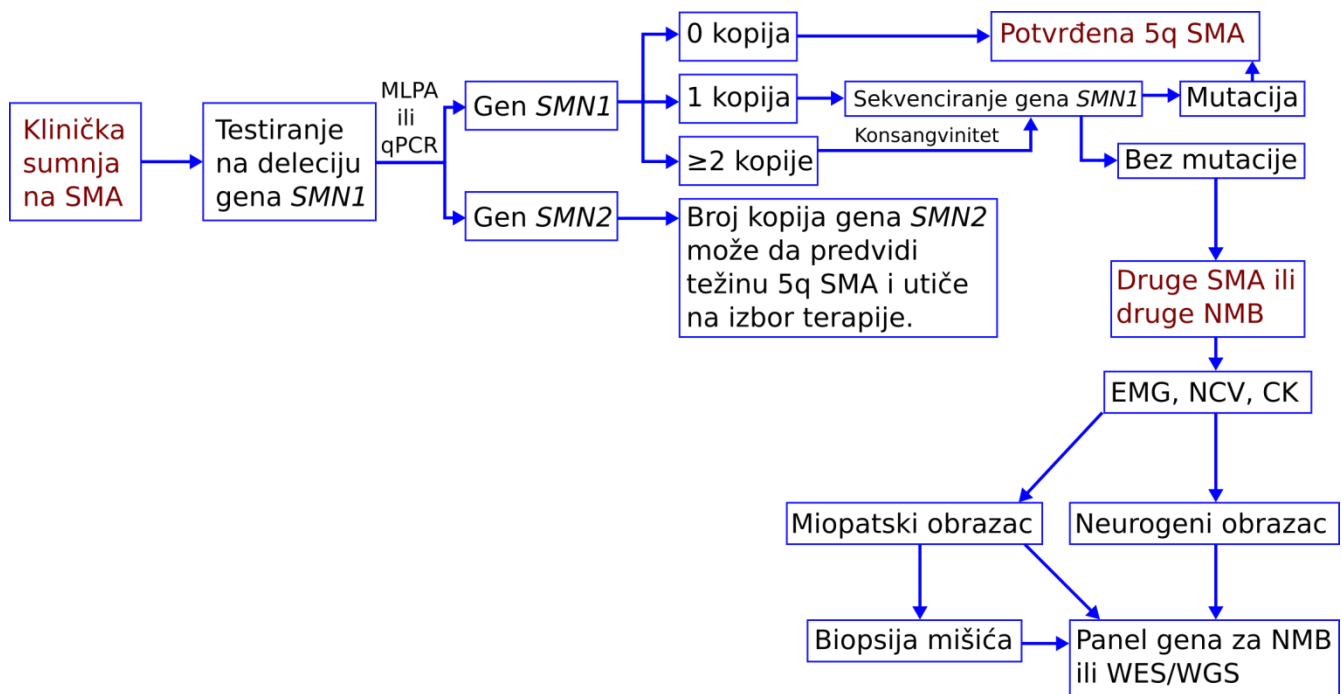
Ukoliko se na osnovu kliničkih simptoma i znakova posumnja na SMA, vrši se molekularno-genetičko testiranje u cilju otkrivanja bialelne mutacije gena *SMN1* (Slika 2).

Prvo se primenjuje neka od metoda za analizu intragenskih delecija/duplikacija, kao što je metoda umnožavanja većeg broja ligiranih proba (eng. multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) i kvantitativna lančana reakcija polimeraze (eng. quantitative polymerase chain reaction, qPCR) [7,20]. Metode koje se zasnivaju na sekvenciranju naredne generacije (eng. next generation sequencing, NGS) nisu pogodne za određivanja broja kopija gena *SMN1* i postavljanje dijagnoze SMA [7].

Ako se otkrije delecija obe kopije gena *SMN1* (tačnije bialelna delecija egzona 7 i 8 ili samo egzona 7 gena *SMN1*), dijagnoza SMA je potvrđena [42]. Ako postoji delecija samo jedne kopije gena *SMN1*, treba uraditi sekvenciranje druge kopije gena *SMN1* da bi se ispitalo postojanje intragenske mutacije [7,20]. Ukoliko je prisutna delecija jedne kopije gena *SMN1* i intragenska mutacija druge kopije gena *SMN1*, onda je bolesnik složeni heterozigot [7,20,30].

Ako je prisutno dve ili više kopija gena *SMN1*, dijagnoza 5q SMA je malo verovatna, pa treba razmotriti druge bolesti koje dolaze u obzir u diferencijalnoj dijagnozi [7,20]. Međutim, ukoliko postoji podatak o konsangvinitetu, postoji mogućnost da se radi o istoj intragenskoj mutaciji na oba alela, pa je u tom slučaju indikovano sekvenciranje gena *SMN1*. Ako sekvenciranje pokaže intaktan gen *SMN1*, treba razmotriti druge spinalne mišićne atrofije i druge bolesti motoneurona. S obzirom da su tačkaste mutacije gena *SMN1* retke, jako je mala verovatnoća da je osoba složeni heterozigot za dve tačkaste mutacije gena *SMN1* [7,20].

Broj kopija gena *SMN2* nije važan za postavljanje dijagnoze SMA, ali ga treba rutinski određivati jer je važan faktor koji može da utiče na prognozu bolesti i na izbor terapije [20,43].



Slika 2. Algoritam za dijagnozu spinalne mišićne atrofije (SMA). EMG – elektromiografija; NCV – brzina nervnog spovođenja (eng. nerve conduction velocity); CK – kreatin kinaza; NMB – neuromišićna bolest; WES – sekvenciranje celog egzoma (eng. whole exome sequencing); WGS – sekvenciranje celog genoma (eng. whole genome sequencing). Prilagođeno prema referencama [7,20].

1.4 Uloga i značaj proteina SMN

Od otkrića gena SMN od strane francuskog naučnika Lefevrea (Lefebvre) i saradnika 1995. godine pa do danas, postignut je značajan napredak u razumevanju strukture i funkcije proteina SMN [44].

Protein SMN je široko rasprostranjen, pri čemu je najviše prisutan u mozgu, bubrezima i jetri, nešto manje u skeletnim mišićima i miokardu, a najmanje u fibroblastima i limfocitima [45]. Potpuni gubitak proteina SMN je letalan već u ranom embrionalnom periodu [46]. Međutim, nisu sve ćelije i tkiva podjednako osetljivi na nedostatak proteina SMN; motoneuroni su najviše pogođeni, mada nije do kraja razjašnjeno zašto [47]. Aktivnost proteina SMN varira i u zavisnosti od razvojnog perioda organizma [48]. Tako je protein SMN najaktivniji u centralnom nervnom sistemu tokom embrionalnog i ranog postnatalnog razvoja, a potom njegova aktivnost naglo pada do bazalnog nivoa na kome se održava tokom čitavog života [49]. Prema tome, različite ćelije i tkiva su u različitim periodima razvoja u manjoj ili većoj meri osetljivi na nedostatak proteina SMN [48]. Detaljna struktura i funkcija proteina SMN i njegovih izoformi izneti su u odgovarajućim sistematskim pregledima literature [50,51], tako da ćemo se ovde samo ukratko osvrnuti na ulogu i značaj proteina SMN u odvijanju mnogih ćelijskih procesa.

Protein SMN se sastoji od četiri domena (redom od N-terminalnog ka C-terminalnom kraju): osnovni/domen bogat lizinom, Tudor, domen bogat prolinom i YG box [51]. Ovi domeni omogućavaju interakciju proteina SMN sa brojnim drugim proteinima. Protein SMN se nalazi u citoplazmi i u jedru, pri čemu se u jedru nalazi u sastavu tzv. „gemova” i Kahalovih (Cajal) telašaca [52]. Gemovi (od latinske reči *geminus* koja znači blizanci) su jedarna telašca u kojima se nakuplja protein SMN, a naziv su dobila jer su po obliku i veličini skoro identična Kahalovim telašcima [53]. Kahalova telašca su

odgovorna za stvaranje i funkcionisanje malih jedarnih ribonukleoproteina (mjRNP; eng. small nuclear ribonucleoprotein, snRNP) koji imaju ulogu u prekrajanju pre-iRNK [52]. Uloga Proteina SMN koja je prva otkrivena i najbolje proučena je upravo uloga u formiranju mjRNP. Protein SMN zajedno sa drugim proteinima (Gemin proteini 2-8 i Unrip) formira SMN kompleks koji dodaje Sm (eng. Smith core) proteine malim jedarnim RNK (mjRNK; eng. small nuclear RNA, snRNA) u citoplazmi, pri čemu nastaju mjRNP [51]. SMN takođe pomaže u transportu mjRNP u jedro, u Kahalova telašca [51,52].

SMN kompleks je uključen u formiranje U7 mjRNP koji učestvuje u obradi histonske pre-iRNK, kao i u stvaranje i obradu drugih ribonukleoproteina [54]. Pored toga, protein SMN deluje zajedno sa telomerazom, ribonukleoproteinskim kompleksom koji dodaje ponavljane sekvence DNK na krajeve hromozoma [55]. Protein SMN učestvuje u formiranju citoskeleta aksona i neuromišićne spojnice, transportu RNK duž aksona i dendrita, sintezi proteina i rastu i sazrevanju neurona [56,57]. Takođe je pokazano da nedostatak proteina SMN u motoneuronima može da dovede do povećane aktivnosti P53 proteina koji pokreće proces apoptoze [57,58]. Pored toga, nedostatak proteina SMN može da naruši procese endocitoze i recikliranja sinaptičkih vezikula na nivou neuromišićne spojnice [59]. Protein SMN ima ulogu u regulaciji procesa autofagije i funkciji ubikvitin-proteazomnog sistema (UPS), a time i uklanjanju oštećenih i nepotrebnih proteina [50,51]. Zanimljivo je da se i sam protein SMN razgrađuje putem UPS-a, pa UPS može da utiče na nivoe proteina SMN [60]. Nedostatak proteina SMN se povezuje i sa oksidativnim stresom, smanjenjem broja i poremećajem funkcije mitohondrija, kao i poremećajem energetskog metabolizma [51].

Iako ovo nije konačan spisak uloga koje obavlja protein SMN, jasno je da je on neophodan za normalno odvijanje brojnih ćelijskih procesa. Različita istraživanja su ukazala na značaj proteina SMN u razvoju i pravilnom funkcionisanju skeletnih mišića, kostiju i drugih vezivnih tkiva, gastrointestinalnog trakta i jetre, pankreasa, endokrinog sistema, kardiovaskularnog sistema, autonomnog nervnog sistema, bubrega, slezine i imunskog sistema [21,61–71]. Zbog toga se danas teži stavu da je SMA zapravo multisistemska bolest, a ne samo bolest motoneurona [72–76].

1.5 Kardiovaskularni poremećaji u spinalnoj mišićnoj atrofiji

Generalno se smatra da srce nije zahvaćeno kod SMA. Međutim, u literaturi postoje brojni opisi različitih strukturnih srčanih anomalija i poremećaja srčanog ritma kod pacijenata sa SMA i životinjskih modela bolesti [67]. Zbog toga, trenutno ne postoji jasan konsenzus oko toga da li je indikovano ili ne kardiološko ispitivanje kod pacijenata sa SMA, naročito kod lakših oblika bolesti [77].

Skorašnji sistematski pregled literature na temu kardioloških poremećaja kod SMA pokazao je da su teže forme bolesti češće udružene sa urođenim srčanim manama, a lakše forme sa poremećajima srčanog ritma i sprovođenja [67]. Istraživanja na miševima su ukazala na značaj proteina SMN za normalan embrionalni razvoj srca [78]. Isto tako, dva rada su pokazala povećanu učestalost urođenih srčanih mana (pre svega atrijalnih i ventrikularnih septalnih defekata) kod bolesnika sa najtežim oblicima SMA, pa se pretpostavlja da protein SMN može da utiče i na proces kardiogeneze kod ljudi [79,80]. Zanimljivo je da se urođene srčane mane viđaju kod pacijenata sa najtežim oblicima SMA, a da se retko javljaju kod pacijenata sa lakšim oblicima bolesti, tako da je uticaj proteina SMN na srčani razvoj najverovatnije doznno zavisian.

Mišji modeli teških formi SMA mogu da razviju dilatacionu kardiomiopatiju i srčano popuštanje usled pokretanja procesa apoptoze zbog zastoja u G0/G1 fazi ćelijskog ciklusa kardiomiocita ili, sekundarno, zbog bradikardije [81–83]. Sa druge strane, pojava dilatacione

kardiomiopatije je uglavnom zabeležena kod pacijenata sa tipom 3 SMA, odnosno kod lakših oblika bolesti [84–89]. Pored toga, kod pacijenata sa tipom 3 SMA je opisana dijastolna disfunkcija i hipertrofija miokarda leve komore [90]. Razvoj kardiomiopatije kod pacijenata sa SMA se može objasniti primarnim poremećajem na nivou miokarda ili sekundarnim uzrocima kao što je respiratorna slabost ili poremećaj srčanog ritma. Jedna studija preseka, koja je obuhvatila 43 pacijenta sa tipom 1 i 2 SMA, pokazala je elektrokardiografske znake opterećenja desne komore kod 37,3% pacijenata, što bi se moglo pripisati sekundarnoj plućnoj hipertenziji uzrokovanoj respiratornom slabošću [89].

Kod nekih pacijenata sa SMA kojima je rađena autopsija, patohistološki je utvrđena fibroza miokarda [84,87,91,92]. Fibroza miokarda je termin koji označava prekomerno deponovanje ekstracelularnog matriksa u srčanom mišiću usled srčanog opterećenja ili oštećenja [93]. Fibroza miokarda prouzrokuje strukturne i električne promena koje mogu da dovedu do aritmija, srčanog popuštanja i ishemijske. Istraživanja na mišjim modelima SMA ukazuju na to da oksidativni stres i poremećaj regulacije survivina, proteina koji deluje kao inhibitor apoptoze, doprinose pojavi fibroze miokarda [78,81].

Kod obolelih od SMA su opisani različiti poremećaji srčanog ritma od kojih su najčešći supraventrikularne aritmije i poremećaji sprovođenja [67]. U literaturi se najčešće pominju tri razloga nastanka poremećaja srčanog ritma kod SMA: poremećaji sprovođenja sistema srca, fibroza miokarda i autonomna disfunkcija.

Mnogi radovi govore u prilog teze o postojanju autonomne disfunkcije kod SMA i njenom uticaju na srčani ritam. U studiji slučajeva koja je ispitivala autonomnu disfunkciju kod pacijenata sa tipom 1 SMA koji su imali duži životni vek, autori su otkrili povećane niskofrekventne komponente varijabilnosti srčane frekvence i izmenjenu vazodilataciju u prstu izazvanu hladnoćom, što ukazuje na pojačanu simpatičku aktivnost [68]. Pored toga, kod jednog bolesnika su otkrivene izražene varijacije srčane frekvence i arterijskog krvnog pritiska koje su se poklapale sa skokovima nivoa kateholamina u krvi [68]. Druga studija je pokazala da bolesnici sa tipom 1 SMA koji duže preživljavaju mogu da razviju tešku simptomatsku bradikardiju koja može da dovede do srčanog zastoja i smrtnog ishoda [94]. Studija slučajeva i kontrola koja je ispitivala poremećaje srčanog ritma i sprovođenja kod pacijenata sa tipom 1 i 2 SMA, pokazala je da su ovi bolesnici skloniji da razviju bradikardiju u poređenju sa zdravim kontrolama [95]. Ponavljane epizode bradikardije su takođe registrovane kod pacijenata sa tipom 0 SMA [80]. Postojanje autonomne disfunkcije kod SMA potkrepljuju i simptomi kao što je pojačano znojenje i tremor, naročito kod težih oblika bolesti. Pored toga, kod pacijenata sa teškim oblicima SMA opisani su poremećaji perfuzije akralnih delova ekstremiteta (promena boje, hladne akre i nekroza), što se pripisuje autonomnoj disfunkciji i vaskulopatiji [96–98].

U jednom istraživanju koje se bavilo endokrinim poremećajima kod pacijenata sa SMA (tipovi 1-3), nešto manje od jedne trećine bolesnika, uzrasta 3 meseca do 31 godine, imalo je povišen sistolni ili dijastolni arterijski krvni pritisak [66]. Na kraju, biopsija mišića pacijenata sa tipom 1 i 2 SMA je pokazala oslabljenu vaskularizaciju mišića, što može da ukaže na poremećaj razvoja krvnih sudova [98].

1.6 Poremećaji metabolizma šećera i masti u spinalnoj mišićnoj atrofiji

Različiti poremećaji metabolizma šećera i masti su opisani kod SMA, uključujući insulinsku rezistenciju, hiper- i hipoglikemiju, metaboličku acidozu, hiperlipidemiju, poremećaje metabolizma masnih kiselina i hiperleptinemiju [63,99–106]. Neki od ovih poremećaja mogu nastati kao posledica izmenjenog telesnog sastava koji se javlja kod SMA. Naime, pokazano je da bolesnici sa SMA mogu da imaju sniženu mišićnu masu i povećan udeo masnog tkiva u odnosu na zdrave osobe istog uzrasta i

pola [107]. Generalno se smatra da deca i adolescenti imaju prekomernu telesnu težinu ako je njihov indeks telesne mase (ITM; eng. body mass index, BMI; izračunava se kao količnik telesne težine u kilogramima i kvadrata telesne visine u metrima) ≥ 85 . percentila za pol i uzrast, a da su gojazni ako je ITM ≥ 95 . percentila. Međutim, kada su u pitanju bolesnici sa SMA, čak i oni koji ne deluju da imaju prekomernu telesnu težinu i čiji je ITM u granicama normale (posmatrano u odnosu na percentile za normalnu populaciju), mogu imati značajno povišen udeo masnog tkiva [99,107]. Zbog toga se smatra da bolesnici sa SMA mogu imati prekomernu količinu masnog tkiva već ako njihov ITM prelazi 50. percentil, a po strožim kriterijumima 25. percentil za pol i uzrast [99,107].

Davis i saradnici su sprovedi pilot studiju u koju je bilo uključeno šestoro dece sa tipom 2 SMA koja su smatrana gojaznom (procenat masnog tkiva, određen metodom dvoenergetske rendgenske denzitometrije celog tela [eng. dual-energy X-ray absorptiometry, DXA], >95 . percentila za pol i uzrast), a koja je pokazala da ovi bolesnici mogu da imaju insulinsku rezistenciju, hiperinsulinemiju, i poremećenu toleranciju glukoze (na osnovu rezultata testa oralnog opterećenja glukozom [eng. oral glucose tolerance test, OGTT]) [99]. Sa druge strane, bolesnici sa SMA koji imaju značajno redukovanu mišićnu masu mogu da razviju hipoglikemiju tokom perioda gladovanja ili u drugim kataboličkim stanjima, što se objašnjava smanjenom raspoloživošću supstrata iz mišića za proces glukoneogeneze [100–102]. Pored toga, u literaturi postoji nekoliko prikaza slučajeva pacijenata sa tipovima 1-3 SMA koji su razvili ketoacidozu sa normalnim ili blago sniženim vrednostima glikemije u stanjima stresa (gladovanje, operacije, infekcija) [103–105]. Ketoacidoza je metabolička acidoza sa povećanim anjonskim zjapom usled prekomernog stvaranja ketonskih tela (acetoacetat, β -hidroksibutirat i aceton), a viđa se kod dijabetesa (dijabetična ketoacidoza), prekomernog konzumiranja alkohola (alkoholna ketoacidoza), gladovanja i nekih trovanja (npr. salicilatima, metanolom, itd.) [108,109]. Međutim, iako mehanizam nastanka ketoacidoze kod pacijenata sa SMA nije u potpunosti razjašnjen, ponuđeno je nekoliko mogućih objašnjenja: redukovana mišićna masa (smanjena potrošnja i povećano stvaranje ketonskih tela), poremećaji metabolizma masti i šećera, hormonski disbalans (povećan odnos glukagon/insulin) i poremećaj na nivou autonomnog nervnog sistema [103–105].

Bowerman i saradnici su ispitali da li nedostatak proteina SMN utiče na razvoj endokrinog pankreasa i metabolizam šećera kod mišjih modela SMA (*Smn*^{2B/-} miševi koji eksprimiraju samo oko 15% normalnih količina funkcionalnog proteina SMN) [64]. Histološkom analizom tkiva pankreasa konstatovali su progresivno povećanje broja α -ćelija koje stvaraju glukagon na račun β -ćelija koje stvaraju insulin. Ove strukturne promene u pankreasu su bile praćene hiperglukagonemijom, povišenom glikemijom našte, poremećajem tolerancije glukoze i normalnim nivoima insulina. Slične promene u pankreasu su otkrivene i kod odojčadi sa tipom 1 SMA na autopsiji [64]. Slično, gubitak β -ćelija pankreasa leži u osnovi nastanka tipa 2 dijabetesa, pri čemu nivoi glukagona takođe mogu biti povišeni. Međutim, u etiopatogenezi tipa 2 dijabetesa prvo se javlja insulinska rezistencija i kompenzatorno povećanje mase β -ćelija praćeno hiperinsulinemijom, nakon čega sledi progresivni gubitak β -ćelija usled apoptoze [110]. Pored toga, hiperglukagonemija kod tipa 2 dijabetesa se javlja jer α -ćelije pankreasa postaju rezistentne na insulin, a ne zbog povećanja broja α -ćelija pankreasa koje sintetišu glukagon, kao kod *Smn*^{2B/-} miševa [64,111]. U drugoj studiji, Bowerman i saradnici su koristili miševe koji su imali snižene nivoe proteina SMN (*Smn*^{+/-} heterozigoti koji imaju oko 50% niže nivoe funkcionalnog proteina SMN od normalnih), ali nisu razvijali fenotip karakterističan za SMA [65]. Autori su pokazali da *Smn*^{+/-} miševi mogu da imaju povećanu osetljivost na glukagon, zbog čega razvijaju kompenzatornu hiperplaziju β -ćelija pankreasa i hiperinsulinemiju, a vremenom i povišenu glikemiju našte [65]. Pored toga, ovi miševi su vremenom više dobijali u telesnoj težini u poređenju sa kontrolama [65]. Autori su takođe zaključili da bi *Smn*^{+/-} miševi mogli biti slični bolesnicima sa lakšim oblicima SMA ili čak heterozigotnim nosiocima mutacije gena *SMN1* [65].

Pre skoro pola veka, Dahl i saradnici su opisali udruženost juvenilne i adultne forme SMA sa poremećajima nivoa lipida u krvi [112]. Međutim, tek nedavno se pojavila studija koja tvrdi da je učestalost dislipidemije veća kod dece sa SMA (tipovi 1-3) nego u opštoj pedijatrijskoj populaciji [63]. Pod dislipidemijom su podrazumevane povišene vrednosti ukupnog holesterola, holesterola u sastavu lipoproteina male gustine (LDL holesterol; eng. low-density lipoprotein cholesterol, LDL), holesterola koji nije u sastavu lipoproteina velike gustine (ne-HDL holesterol; eng. high-density lipoprotein, HDL) i triglicerida, a snižene vrednosti holesterola u sastavu lipoproteina velike gustine (HDL holesterol) [63]. Pored toga, patohistološkim pregledom isečaka jetre dobijenih autopsijom osam pacijenata sa SMA (sedam sa tipom 1 i jedan sa tipom 2), kod tri pacijenta (svi sa tipom 1 SMA) otkrivena je mikrovezikularna steatoza jetre [63]. Autori ove studije su paralelno utvrdili prisustvo poremećaja metabolizma masnih kiselina u jetri i skeletnim mišićima, mikrovezikularnu steatozu jetre koja podseća na nealkoholnu masnu bolest jetre (eng. non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) i dislipidemiju kod mišjih modela SMA (*Smn*^{2B/-} miševi) [63].

NAFLD je termin koji označava spektar patoloških promena koje nastaju usled hroničnog nakupljanja masti u jetri, počev od steatoze jetre (nakupljanje masti u jetri bez inflamacije), preko steatohepatitisa (nakupljanje masti u jetri praćeno inflamacijom i oštećenjem hepatocita), pa do ciroze jetre, pri čemu su isključeni drugi poznati uzroci masne jetre kao što su konzumiranje alkohola, infekcija hepatitisom C, autoimune bolesti jetre, endokrini poremećaji (npr. hipotireoza), korišćenje nekih lekova (npr. valproati, amjodaron, tetraciklin, itd.), teška malnutricija, parenteralna ishrana, lipodistrofija, celijačna bolest ili urođene greške metabolizma [113]. Do prekomernog nakupljanja masti u jetri može doći zbog povećane sinteze lipida (npr. povećan unos šećera i masti ishranom, pojačana periferna lipoliza i transport masnih kiselina u jetru ili povećana *de novo* sinteza lipida), smanjenog oslobađanja lipida iz jetre (npr. smanjena sinteza i ekskrecija lipoproteina vrlo male gustine [eng. very-low-density lipoprotein, VLDL]) ili smanjene razgradnje masti (npr. poremećaji β-oksidacije masnih kiselina u mitohondrijama). Neke ranije studije su pokazale da deca sa SMA mogu da razviju poremećaje metabolizma masnih kiselina koji su slični onima koji se viđaju kod poremećaja transporta masnih kiselina u mitohondrije i β-oksidacije masnih kiselina [114,115], pa bi to moglo biti objašnjenje za nastanak steatoze jetre kod SMA. Ovde treba napomenuti da je β-oksidacija masnih kiselina neophodna i za normalno odvijanje procesa glukoneogeneze tokom perioda gladovanja. Zbog toga, kod poremećaja β-oksidacije masnih kiselina dolazi do razvoja hipoglikemije posle kraćeg ili dužeg gladovanja, kada se potroše rezerve glikogena. U tom kontekstu, zanimljivo je da su *Smn*^{2B/-} miševi koji su razvili steatozu jetre imali niže vrednosti glikemije [63]. Sa druge strane, NAFLD je često udružena sa centralnim (abdominalnim) tipom gojaznosti, insulinskom rezistencijom, tipom 2 dijabetesa, dislipidemijom i povišenim krvnim pritiskom, odnosno sa komponentama metaboličkog sindroma [116].

Metabolički sindrom, koji se naziva još i sindrom insulinske rezistencije ili sindrom X, označava udruženu pojavu faktora rizika za razvoj tipa 2 dijabetesa i/ili kardiovaskularnih bolesti: abdominalnu gojaznost, dislipidemiju, arterijsku hipertenziju i hiperglikemiju [117]. Ovi pojedinačni faktori rizika se nazivaju još i komponentama metaboličkog sindroma. Međutim, još uvek postoje sporenja oko toga da li pomenuti faktori rizika imaju neku zajedničku etiologiju, da bi se njihova udruženost mogla smatrati sindromom. Takođe je pitanje da li dijagnoza metaboličkog sindroma predstavlja veći rizik za bolesnika od onog koji predstavljaju pojedinačne komponente metaboličkog sindroma. Pored toga, još uvek ne postoji jasan stav kako definisati, ako se uopšte i može definisati, metabolički sindrom u pedijatrijskoj populaciji [118]. Prema mišljenju Međunarodne federacije za dijabetes (eng. International Diabetes Federation, IDF), dijagnoza metaboličkog sindroma se može definisati kod dece i adolescenata, ali ne pre uzrasta od 10 godina [119]. U svakom slučaju, potrebno je na vreme prepoznati i lečiti komponente metaboličkog sindroma, kako bi se prevenirao razvoj tipa 2

dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti. Kad su u pitanju bolesnici sa SMA, nastanak metaboličkog sindroma bi se mogao očekivati kod onih koji imaju prekomernu telesnu težinu [20].

U literaturi se pominju različite definicije metaboličkog sindroma, odnosno šta se smatra abdominalnom gojaznošću, dislipidemijom, povišenim krvnim pritiskom i povišenom glikemijom [119]. Abdominalna gojaznost se procenjuje indirektno, merenjem obima struka (OS), odnosa struk/kuk ili određivanjem ITM. Vrednosti OS se, kod dece i adolescenata, porede sa odgovarajućim percentilnim vrednostima za pol, uzrast i rasnu i etničku pripadnost (obično se smatra da je OS ≥ 90 . percentila značajno povećan), dok se vrednosti OS kod odraslih tumače na osnovu odgovarajućih gornjih granica normalnih vrednosti, koje zavise od pola i rasne i etničke pripadnosti.

Dislipidemija se definiše kao nivo HDL holesterola ispod donje ili nivo triglicerida iznad gornje granice normalnih vrednosti (obično se uzima određena arbitrarna granična vrednost) ili korišćenje lekova koji povećavaju nivo HDL-a, odnosno snižavaju nivo triglicerida. Arterijska hipertenzija označava povišene vrednosti sistolnog i/ili dijastolnog krvnog pritiska ili korišćenje antihipertenzivne terapije. Kod dece i adolescenata se vrednosti krvnog pritiska porede sa odgovarajućim percentilnim vrednostima za uzrast, pol i telesnu visinu (obično se vrednosti krvnog pritiska ≥ 90 . percentila smatraju povišenim) ili se koriste definisane gornje granice normalnih vrednosti krvnog pritiska, kao kod odraslih. Hiperglikemijom se smatra povišena glikemija našte, poremećena tolerancija glukoze, tip 2 dijabetesa ili korišćenje lekova za regulaciju glikemije. Pored toga, neke definicije metaboličkog sindroma podrazumevaju postojanje insulinske rezistencije ili hiperinsulinemije [120,121].

U cilju usklađivanja postojećih kriterijuma za dijagnozu metaboličkog sindroma kod odraslih, 2009. godine je održan zajednički sastanak Radne grupe za epidemiologiju i prevenciju Međunarodnog udruženja za dijabetes (International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention), američkog Nacionalnog instituta za srce, pluća i krv (National Heart, Lung, and Blood Institute), Američkog udruženja za srce (American Heart Association), Svetske federacije za srce (World Heart Federation), Međunarodnog društva za aterosklerozu (International Atherosclerosis Society) i Međunarodnog udruženja za proučavanje gojaznosti (International Association for the Study of Obesity), na kome su dogovoreni zajednički kriterijumi za dijagnozu metaboličkog sindroma (Tabela 2) [120].

U Tabeli 3 su prikazani kriterijumi IDF za dijagnozu metaboličkog sindroma kod dece i adolescenata uzrasta 10-16 godina [119]. Da bi se postavila dijagnoza metaboličkog sindroma prema IDF-u, potrebno je sa osoba ima abdominalnu gojaznost (procenjenu indirektno na osnovu obima struka) i najmanje dva od sledećih kriterijuma: povišene trigliceride, snižen HDL holesterol, povišen krvni pritisak i povišenu glikemiju našte [119].

Tabela 2. Kriterijumi za dijagnozu metaboličkog sindroma kod odraslih¹

<i>Parametar</i>	<i>Granične vrednosti</i>
Povećan obim struka	≥94 cm kod muškaraca, odnosno ≥80 cm kod žena
Povišeni trigliceridi (ili korišćenje terapije za povišene trigliceride)	≥1,7 mmol/l (150 mg/dl)
Snižen HDL holesterol (ili korišćenje terapije za snižen HDL holesterol)	<1 mmol/l (40 mg/dl) kod muškaraca, odnosno <1,3 mmol/l (50 mg/dl) kod žena
Povišen krvni pritisak (ili terapija antihipertenzivima zbog povišenog krvnog pritiska)	sistolni ≥130 i/ili dijastolni ≥85 mmHg
Povišena glikemija našte (ili korišćenje terapije za povišenu glikemiju)	≥5,6 mmol/l (100 mg/dl)

HDL holesterol – holesterol u sastavu lipoproteina velike gustine (eng. high-density lipoprotein, HDL)
¹ Prilagođeno prema referenci [120].

Tabela 3. Kriterijumi za dijagnozu metaboličkog sindroma kod dece i adolescenata uzrasta 10–16 godina¹

<i>Parametar</i>	<i>Granične vrednosti</i>
Povećan obim struka	≥90. percentila
+dva ili više sledećih kriterijuma:	
Povišeni trigliceridi	≥1,7 mmol/l (150 mg/dl)
Snižen HDL holesterol	<1 mmol/l (40 mg/dl)
Povišen krvni pritisak	sistolni ≥130 i/ili dijastolni ≥85 mmHg
Povišena glikemija našte	≥5,6 mmol/l (100 mg/dl)

HDL holesterol – holesterol u sastavu lipoproteina velike gustine (eng. high-density lipoprotein, HDL)
¹ Prilagođeno prema referenci [119].

Leptin (od grčke reči „λεπτός” koja znači tanak, mršav) je peptidni hormon koji se pretežno sintetiše u masnom tkivu. Kod ljudi, leptin je produkt LEP odnosno OB gena (OB je od reči „obesity” koja znači gojaznost) koji je lokalizovan na dugom kraku hromozoma 7 [122]. Leptin pre svega učestvuje regulaciji energetskog metabolizma, ali i funkciji endokrinog i imunskog sistema.

Nivoi leptina direktno korelišu sa količinom masnog tkiva u organizmu, a time i sa ITM (osobe sa većom količinom masnog tkiva i većim ITM imaju više nivoje leptina). Drugi faktori koji utiču na nivoje leptina su pol (osobe ženskog pola imaju veće nivoje leptina), uzrast i pubertetski status (u detinjstvu, kod dečaka nivoi leptina rastu do puberteta, a potom se smanjuju, dok kod devojčica rastu i posle puberteta) [123]. Autori jedne studije su ispitivali nivoje leptina kod pacijenata sa SMA i pokazali povezanost između slabije motorne funkcije i hiperleptinemije [106]. Da bi mogli da upoređuju

vrednosti leptina između bolesnika, Kölbl i saradnici su vrednosti leptina pretvorili u skorove standardne devijacije tj. z-skorove koristeći formulu Bluma i saradnika [124]. Ova formula ima za cilj da eliminiše uticaj ITM, pola i pubertetskog statusa na nivoe leptina [124]. Prema tome, hiperleptinemija u radu Kölbl-a i saradnika, zapravo označava povišene standardizovane, a ne apsolutne vrednosti leptina. Kao moguće objašnjenje hiperleptinemije kod pacijenata sa težim oblicima SMA, autori su naveli degeneraciju ćelija hipotalamusa (smanjen broj receptora za leptin u hipotalamusu i posledična rezistencija na dejstvo leptina) i zamenu atrofičnog mišićnog tkiva masnim tkivom koje luči leptin, što je najviše izraženo kod najtežih pacijenata sa SMA.

1.7 Lečenje i praćenje

Lečenje i praćenje pacijenata sa SMA zahtevaju multidisciplinarni pristup, odnosno aktivno učešće lekara različitih specijalnosti: neurologa, pulmologa, fizijataru, ortopeda, gastroenterologa, nutricionista i endokrinologa, a po potrebi i drugih specijalnosti [19,20,77]. Naravno, u centru je porodica koja snosi najveći teret nege i brige, zbog čega joj je neophodno pružiti podršku i pomoć.

Prve preporuke za zbrinjavanje pacijenata sa SMA su objavljene 2007. godine [19]. Ove preporuke su revidirane i dopunjene 2018. godine i sastoje se iz dva dela: u prvom delu su preporuke za postavljanje dijagnoze bolesti, fizikalnu terapiju, ortopedsko lečenje i ishranu, dok su u drugom delu preporuke koje se odnose na pulmološko lečenje, medikamentoznu terapiju, uzimanje suplemenata i vakcinacije, zahvaćenost drugih organskih sistema i etička pitanja [20,77]. Međutim, važno je napomenuti da su ove preporuke pisane pre nego što su novi lekovi koji menjaju prirodan tok bolesti bili u široj upotrebi.

Američka Uprava za hranu i lekove (eng. Food and Drug Administration, FDA) je u decembru 2016. odobrila prvi lek za lečenje pacijenata sa SMA – nusinersen (Spinraza®), a u maju 2017. ga je odobrila i Evropska agencija za lekove (European Medicines Agency, EMA) [125]. Nusinersen (Spinraza®) je antisense oligonukleotid (eng. antisense oligonucleotide, ASO) koji blokira utišavač iskrajanja ISS-N1 koji se nalazi unutar introna 7 SMN2 pre-iRNK, čime se povećava broj SMN2 iRNK koja sadrži egzon 7, što na kraju dovodi do povećanog stvaranja funkcionalnog proteina SMN [126]. ASO su veštački stvoreni molekuli jednolančane DNK koji su komplementarni sekvenci iRNK za koju se vezuju, pa mogu biti dizajnirani da menjaju ekspresiju iRNK [127]. Nusinersen se daje intratekualno, s obzirom da ne bi mogao da pređe krvno-moždanu barijeru ako bi se dao drugim putem [125].

Drugi lek koji utiče na iskrajanje SMN2 pre-iRNK je risdiplam (Evrysdi®) [128]. U avgustu 2020, FDA je odobrila primenu risdiplama za lečenje svih pacijenata sa SMA starijih od 2 meseca. U Evropi se risdiplam, za sada, daje samo u okviru programa „milosrdnog davanja leka“ (eng. compassionate use). Risdiplam je mali molekul koji otkriven metodom koja se naziva visokopropusni skrining (eng. high-throughput screening), tako da nije specifičan kao nusinersen, ali ima slične efekte kao on [129]. Prednost risdiplama je što se daje oralno, a s obzirom da se dobro distribuira u organizmu i prolazi krvno-moždanu barijeru, potencijalno može da ima i povoljne systemske efekte [125]. U maju 2019, FDA je odobrila gensku terapiju za lečenje dece sa SMA mlađe od 2 godine – onasemnogene abeparvovec (Zolgensma®) [130]. Ova vrsta terapije podrazumeva korišćenje virusnih vektora za prenošenje odgovarajućeg gena u organizam obolelog. Onasemnogene abeparvovec se sastoji od kapsida rekombinantnog samo-komplementarnog sa adenovirusima-udruženog virusnog vektora, serotip 9 (eng. self-complementary adeno-associated virus, scAAV9) koji sadrži jednolančanu DNK sa sekvencom gena *SMN1* koja je komplementarna iRNK (SMN1 cDNA; complementary DNA, cDNA) i hibridni promotor koji ima za cilj da poveća ekspresiju gena *SMN1* [131]. AAV9 serotip je izabran jer je pokazano da ima tropizam za motoneurone kada se daje u krvotok [132]. Onasemnogene

abeparvovec se daje u samo jednoj dozi ($1,1 \times 10^{14}$ virusnih genoma na kilogram telesne težine), u vidu intravenske infuzije [133]. Nakon toga se daju kortikosteroidi da bi sprečila zapaljenska reakcija na virusni vektor. Takođe je potrebno pratiti parametre jetrine funkcije, trombocite i nivoe troponina I [133].

Pored terapije koja ima za cilj povećano stvaranje funkcionalnog proteina SMN, trenutno su u fazi ispitivanja lekovi koji imaju drugačiji mehanizam dejstva, a koji bi mogli dodatno da pomognu bolesnicima sa SMA. Jedan od njih je i reldesemtiv koji deluje kao aktivator troponina brzo-kontrahujućih skeletnih mišića (eng. fast skeletal muscle troponin activator, FSTA) [134]. Reldesemtiv smanjuje brzinu kojom se kalcijum oslobađa od troponinskog kompleksa, čime povećava snagu i produžava kontrakciju mišića. Drugu grupu lekova koji su u fazi ispitivanja čine inhibitori miostatina koji stimulišu rast mišića [135].

Najbolji efekti terapije se postižu ako se sa njom krene što ranije. To se naročito odnosi na bolesnike koji imaju mali broj kopija gena *SMN2* [132]. Optimalno bi bilo da se sa terapijom počne u tzv. presimptomatskoj fazi bolesti, odnosno pre pojave kliničkih simptoma i znakova bolesti, zbog čega se u nekim zemljama uvodi neonatalni skrining na SMA [134]. Na kraju, treba reći da se sa postojećom terapijom SMA može lečiti, ali da se ne može izlečiti. Kao rezultat toga, povećano je preživljavanje pacijenata sa SMA, ali se povećava i učestalost pridruženih poremećaja koje je potrebno prepoznati i lečiti.

2 Ciljevi

Ciljevi ove studije su bili sledeći:

1. Određivanje prevalencije različitih kardiovaskularnih poremećaja i poremećaja metabolizma šećera i masti kod pacijenata sa SMA
2. Utvrđivanje prevalencije metaboličkog sindroma među gojaznim pacijentima sa SMA
3. Ispitivanje povezanosti tipa SMA, motorne funkcionalnosti i indeksa telesne mase sa kardiovaskularnim poremećajima i poremećajima metabolizma šećera i masti

3 Materijal i metode

3.1 Dizajn studije

Ovo je bila studija preseka koja je sprovedena u Klinici za neurologiju i psihijatriju za decu i omladinu i u Univerzitetskoj dečjoj klinici u Beogradu, u periodu od jula 2018. do jula 2019. godine. Klinika za neurologiju i psihijatriju za decu i omladinu u Beogradu je referentna ustanova za neuromišićne bolesti kod dece i u njoj se kontroliše i zbrinjava oko 90% pedijatrijskih pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA u našoj zemlji. Univerzitetaska dečja klinika u Beogradu je ustanova tercijarnog nivoa koja pruža zdravstvenu zaštitu dece i adolescenata.

3.2 Ispitanici

U istraživanje su bili uključeni ispitanici sa genetskom dijagnozom tipa 2 i 3 SMA, uzrasta 1–19 godina, lečeni u Klinici za neurologiju i psihijatriju za decu i omladinu u Beogradu.

Kriterijumi za isključivanje iz studije su bili anemija, bubrežna slabost, hiper- ili hipotireoza, korišćenje antidijabetesnih lekova i hipolipemika (lekovi koji snižavaju nivoe lipida u krvi). Pored toga, iz studije su bili isključni rođena braća ili sestre koji su ispunjavali kriterijume za genetsku dijagnozu SMA, ali nisu imali kliničke simptome bolesti (tzv. presimptomatski bolesnici). Bolesnici koji su imali akutno pogoršanje osnovne bolesti ili neku drugu akutnu bolest (npr. respiratornu infekciju) su inicijalno isključeni, ali im je bilo omogućeno da uđu u studiju nakon potpunog oporavka. Pacijenti sa tipom 1 SMA nisu bili obuhvaćeni istraživanjem, s obzirom na njihovu tešku kliničku sliku i potrebu za lečenjem u jedinicama intenzivne nege.

Pacijenti sa SMA se kontrolišu kod neurologa najmanje jednom godišnje. Pored toga, svi pacijenti su bili redovno praćeni od strane pulmologa, ortopeda i nutricioniste, u skladu sa postojećim preporukama za lečenje i praćenje pacijenata sa SMA [20,77].

Od svih ispitanika i/ili njihovih roditelja ili staratelja dobijena je pismena saglasnost za učešće u studiji.

3.3 Prikupljanje podataka o bolesnicima

3.3.1 Epidemiološki upitnik

U cilju prikupljanja podataka o karakteristikama ispitanika i oboljenja korišćen je strukturisani upitnik.

Prvi deo upitnika je obuhvatao demografske podatke ispitanika, kao i osnovne kliničke karakteristike bolesti: uzrast, pol, tip SMA, ličnu i porodičnu anamnezu, korišćenje respiratorne potpore, ishranu preko perkutane gastrostome, stepen torakalne skolioze i terapiju koju bolesnik dobija.

Drugi deo upitnika se odnosio na antropometrijska merenja, vitalne parametre (telesna temperatura, krvni pritisak, srčana frekvenca, respiratorna frekvenca, saturacija kiseonikom), kožne promene (acanthosis nigricans i strije), pubertetski status i procenu motorne funkcije korišćenjem testa za neuromišićna oboljenja Dečije bolnice u Filadelfiji (eng. the Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders, CHOP INTEND) [136] i proširene Hamersmitove skale motorne funkcionalnosti (eng. the expanded Hammersmith Functional Motor Scale, HFMSE) [137].

3.3.1.1 Anamnestički podaci

Iz lične anamneze su dobijeni podaci o gestacijskoj dobi i telesnoj težini na rođenju, anemiji, poremećaju funkcije štitne žlezde, bubrežnim bolestima i tipu 2 dijabetesa, a iz porodične anamneze podaci o povišenom krvnom pritisku, kardiovaskularnim bolestima pre 40. godine i povećanom nivou šećera i masti u krvi.

3.3.1.2 Respiratorna potpora

Respiratorna potpora se odnosila na primenu neinvazivne ventilacije (NIV) ili invazivne ventilacije (preko traheostome ili endotrahealnog tubusa). Ukoliko je bolesnik koristio respiratornu potporu, zabeleženo je da li je koristio samo noću, danju i noću ili kontinuirano (16 i više sati dnevno).

3.3.1.3 Stepen torakalne skolioze

Stepen torakalne skolioze je označavao stepen krivine torakalnog dela kičme izmeren metodom po Cobb-u (Cobb-ov ugao) na posteroanteriornom rendgenskom snimku kičmenog stuba [138]. Rendgenski snimci su rađeni u stojećem ili sedećem položaju, u zavisnosti od toga da li bolesnik može da se uspravi ili ne. S obzirom da se procena skolioze kod pacijenata sa SMA vrši na svakih 3-6 meseci, uzeta je vrednost Cobb-ovog ugla merena na poslednjem pregledu kod ortopeda.

3.3.1.4 Antropometrija

Antropometrijska merenja su obuhvatala telesnu težinu, telesnu visinu ili telesnu dužinu, indeks telesne mase, telesnu površinu i obim struka.

Kod bolesnika koji su mogli da hodaju, a nisu imali kontrakture ili skoliozu, telesna težina i visina su određivani pomoću digitalne medicinske vage sa visinometrom (Seca, Hamburg, Nemačka).

Telesna težina nepokretnih bolesnika koji su mogli da sede merena je digitalnom vagom za invalidska kolica (Birotehna SD501, Smederevo, Srbija), tako što je od težine bolesnika u kolicima oduzimana težina kolica. Drugi način da se dobije težina deteta bio je da se izmeri težina roditelja sa detetom i da se odbije težina roditelja.

Kod bolesnika koji su bili nepokretni ili su imali kontrakture ili skoliozu, telesna dužina je određivana sabiranjem dužina po segmentima (mereno krojačkim metrom): 1. segment – od vrha glave do akromiona lopatice; 2. segment – od akromiona lopatice do velikog trohantera butne kosti; 3. segment – od velikog trohantera butne kosti do lateralne linije zgloba kolena; 4. segment – od lateralne linije zgloba kolena do vrha pete [139]. Merenje je ponavljano tri puta, a za telesnu dužinu je uzeta srednja vrednost ovih merenja. Dužina dece do 2 godine merena je pomoću stadiometra za odojčad (Seca 416, Hamburg, Nemačka).

Telesna težina je merena sa preciznošću od 100 g, a telesna visina/dužina sa preciznošću od 0,1 cm.

Na osnovu telesne težine i visine/dužine, kod bolesnika uzrasta ≥ 2 godine, izračunat je indeks telesne mase (ITM) prema sledećoj formuli: $ITM (kg/m^2) = \text{telesna težina (kg)} / (\text{telesna visina (m)})^2$, odnosno $ITM (kg/m^2) = \text{telesna težina (kg)} / (\text{telesna dužina (m)})^2$.

Dobijene vrednosti telesne težine, telesne visine/dužine i ITM su prevedene u odgovarajuće z-skorove korišćenjem lambda-mu-sigma (LMS) metoda, kako bi se ispitalo koliko navedena merenja odstupaju od odgovarajućih medijana za opštu pedijatrijsku populaciju [140,141]. Pored toga, vrednosti odgovarajućih z-skorova se mogu međusobno porediti, za razliku od nestandardizovanih vrednosti. Za

decu uzrasta do 2 godine korišćeni su standardi rasta Svetske zdravstvene organizacije (WHO) [140], a za decu uzrasta ≥ 2 godine standardi rasta Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) [141]. Pored toga, vrednosti ITM-a su poređene sa odgovarajućim percentilnim vrednostima za normalnu populaciju. Uzeto je da bolesnici sa ITM većim od 25. percentila za pol i uzrast potencijalno imaju prekomernu telesnu težinu [99].

Telesna površina (TP) je izračunata prema formuli od Du Bois i Du Bois [142].

Obim struka (OS) je meren u nivou grebena bedrene kosti (crista iliaca) u srednjoj pazušnoj liniji, na kraju ekspirijuma, korišćenjem krojačkog metra. U zavisnosti od toga da li su bolesnici mogli da stoje samostalno ili ne, OS je meren u stojećem ili ležećem položaju. Merenje obima struka je izvedeno sa preciznošću od 0,1 cm. Povećanim obimom struka je smatran OS ≥ 90 . percentila za pol i uzrast. S obzirom da ne postoje odgovarajući percentili za OS za našu populaciju, korišćeni su percentili za američku decu i adolescente evropskog porekla [143]. Kod bolesnika starijih od 18 godina, granična vrednost obima struka je bila 102 cm za muški pol i 88 cm za ženski pol [120]. Takođe su izračunati z-skorovi za OS korišćenjem LMS metoda, na način koji je opisan od strane Sharma-e i saradnika [144].

3.3.1.5 Merenje krvnog pritiska

Krvni pritisak je meren na obe ruke pomoću aneroidnog sfigmomanometra (DuraShock DS54, Welch Allyn Inc., Skaneateles Falls, Njujork, SAD) sa manžetnama odgovarajuće veličine, u skladu sa preporukama Evropskog udruženja za hipertenziju [145]. Za vrednost krvnog pritiska je uzeta srednja vrednost tri uzastopna merenja. Ukoliko su dobijene različite vrednosti krvnog pritiska na desnoj i levoj ruci, uzeta je veća vrednost.

Rezultati merenja krvnog pritiska su poređeni sa odgovarajućim referentnim vrednostima koje je preporučilo Evropsko udruženje za hipertenziju, s obzirom da uzimaju u obzir i osobe sa prekomernom telesnom težinom i gojazne osobe, za razliku od referentnih vrednosti Američkog udruženja za hipertenziju [145,146]. Tako su kod bolesnika mlađih od 16 godina, povišenim smatrane vrednosti sistolnog i/ili dijastolnog krvnog pritiska ≥ 95 . percentila za uzrast, pol i najbliži percentil telesne visine, dok je kod bolesnika uzrasta ≥ 16 godina krvni pritisak $\geq 140/90$ mmHg smatran povišenim [145].

3.3.1.6 Pubertetski status

Pubertetski status je procenjen na osnovu razvijenosti pubične kosmatosti kod oba pola, izgleda spoljašnjih genitalija kod dečaka i razvijenosti dojki kod devojčica, a prema kriterijumima Tanera (Tanner) i saradnika koji su pubertetski razvoj podelili u pet stadijuma (od I do V) [147,148]. Smatrano je da su bolesnici od stadijuma II pa naviše u pubertetu.

3.3.1.7 Procena motorne funkcije

Kod dece mlađe od 2 godine, za procenu motorne funkcije korišćen je CHOP INTEND test, a kod bolesnika uzrasta ≥ 2 godine HFMSE.

CHOP INTEND test je inače osmišljen za procenu motorne funkcionalnosti pacijenata sa tipom 1 SMA, ali je pogodan za primenu kod najmlađih pacijenata sa tipom 2 SMA [136]. Test se sastoji od 16 stavki, a svaka nosi od 0 do 4 boda, tako da je maksimalan broj bodova na ovom testu 64, pri čemu veći skor označava bolju motornu funkciju.

HFMSE skala je nastala spajanjem Hamersmitove skale motorne funkcionalnosti (eng. the Hammersmith Functional Motor Scale, HFMS) koja je osmišljena za bolesnike sa tipom 2 SMA i odabranih 13 stavki testa koji je namenjen za procenu grube mišićne funkcije (eng. Gross Motor Function Measure, GMFM) kod pacijenata sa cerebralnom paralizom [137]. HFMSE skala je sačinjena da bi se preciznije procenila motorna funkcija pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA koji su visoko funkcionalni. Na taj način je izbegnut tzv. „plafon-efekat“ HFMS skale, odnosno nemogućnost ovog testa da napravi razliku u motornoj funkcionalnosti pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA koji imaju visoku motornu sposobnost. HFMSE ima 33 stavke (20 stavki iz HFMS i 13 stavki koje su preuzete iz GMFM testa), pri čemu svaka stavka nosi od 0 do 2 boda, tako da je maksimalan skor na ovom testu 66 (veći skor znači bolju motornu funkciju). HFMSE ima dobru „test-retest“ pouzdanost i dobro koreliše sa drugim testovima motorne funkcionalnosti i mišićne snage, kao i forsiranim vitalnim kapacitetom [137,149].

3.3.2 Dopunska dijagnostička ispitivanja

Dopunska dijagnostička ispitivanja su obuhvatala: ehokardiografski pregled, ultrazvuk abdomena, elektrokardiogram (EKG), 24-časovni holter monitoring i laboratorijske analize krvi. Pored toga, kod određenih pacijenata su urađeni test oralnog opterećenja glukozom (OGTT), 24-časovni ambulatorni monitoring krvnog pritiska (AMKP) i magnetna rezonanca (MR) srca.

3.3.2.1 Ehokardiografski pregled

Za ehokardiografski pregled je korišćen Aplio Artida ultrazvučni sistem (Toshiba Medical Systems Corporation, Otavara, Japan). Srčana struktura i sistolna i dijastolna funkcija su procenjene pomoću 2D, M-mode i Doppler tehnika (uključujući i tkivni Doppler), a prema vodičima Američkog udruženja za ehokardiografiju [150,151].

Dimenzije leve komore na kraju dijastole i na kraju sistole, dimenzija desne komore na kraju dijastole, kao i debljina interventrikularnog septuma i zadnjeg zida leve komore u dijastoli i sistoli određivani su iz poprečnih parasternalnih preseka korišćenjem M-moda. Dimenzije su merene od vodeće ivice do vodeće ivice (eng. leading-edge to leading-edge). Ove vrednosti su potom prevedene u odgovarajuće z-skorove prema formuli Pettersen-a i saradnika [152].

Globalna sistolna funkcija leve komore je procenjena pomoću frakcije skraćenja (FS) i ejskione frakcije (EF). FS je izračunata na osnovu dimenzija leve komore na kraju dijastole i sistole dobijenih pomoću M-mode merenja (Tajholc [Teichholz] metod). EF je izračunata korišćenjem dvoravanskog (eng. biplane) Simpsonovog metoda ili metoda površina-dužina (eng. area-length method) kod pacijenata sa lošim transtorakalnim akustičkim prozorom. Oslabljenom kontraktilnošću leve komore je smatrana FS<28% ili EF<55%.

Prisustvo plućne hipertenzije je procenjeno na osnovu profila i brzina protoka kroz trikuspidnu i pulmonalnu valvulu, kao i veličine i funkcije desne komore [153].

3.3.2.2 Ultrazvuk abdomena

U cilju otkrivanja steatoze jetre, pacijentima je urađen ultrazvuk abdomena pomoću Acuson S2000 ultrazvučnog sistema (Siemens, Erlangen, Nemačka).

Ultrazvučne karakteristike koje su korišćene za dijagnozu steatoze jetre su bile povišena ehogenost parenhima jetre u poređenju sa korteksom bubrega, otežana vizuelizacija posteriornih delova jetre i dijafragme i odsustvo normalne ehogenosti zidova portnih i hepatičnih vena [154].

3.3.2.3 Elektrokardiogram (EKG) i 24-časovni holter monitoring

Pacijentima je urađen standardni 12-kanalni EKG (Schiller AT2 plus, Bar, Švajcarska) u ležećem položaju. Za evaluaciju EKG zapisa korišćene su odgovarajuće referentne vrednosti [155,156].

Takođe je urađen 24-časovni holter monitoring pomoću trokanalnog EVO digitalnog holter sistema (Spacelabs Healthcare, Isakva, Vašington, SAD). Bolesnicima i/ili roditeljima bolesnika je detaljno objašnjena procedura holter monitoringa i dat im je dnevnik u koji su unosili podatke o aktivnostima, tegobama i vremenu leganja i ustajanja. Zapis holter monitoringa je analiziran korišćenjem odgovarajućeg softvera (Cardionavigator Plus Impresario Holter Analysis System V.3.07.0158, Spacelabs Healthcare, Isakva, Vašington, SAD) na prisustvo poremećaja srčanog ritma i poremećaja sprovođenja. Pored toga, pomenuti softver izračunava minimalnu, prosečnu i maksimalnu srčanu frekvencu, kao i maksimalan RR interval, tako što usrednjava RR intervale tokom perioda od jednog minuta. Minimalna i prosečna 24-časovna srčana frekvencija su smatrane povišenim ukoliko su bile iznad odgovarajućeg 95. percentila za pol i uzrast, a maksimalan RR interval snižen, ukoliko je bio ispod 5. percentila za pol i uzrast [157].

3.3.2.4 Laboratorijske analize krvi

Biohemijske analize krvi su određivane iz uzorka periferne venske krvi, nakon 10–12 sati gladovanja preko noći, a obuhvatale su sledeće: kreatin kinazu (CK), kardiospecifične enzime (CK-MB, troponin T), marker srčane insuficijencije (NT-proBNP), glikemiju našte, insulinemiju našte, lipidni status (ukupni holesterol, HDL holesterol, trigliceridi), parametre funkcije jetre (alanin aminotransferaza [ALT], aspartat aminotransferaza [AST], gama-glutamil transferaza [γ -GT]), c-reaktivni protein (CRP) i leptin.

Krv za biohemijske analize (5-6 ml krvi) je uzimana u serumske epruvete. Pored toga, manja zapremina venske krvi na EDTA (0,2 ml) je uzeta za određivanje hemoglobina A1c (HbA1c).

CK, CK-MB, glikemija, lipidni status, ALT, AST i γ -GT su određivani spektrofotometrijskom metodom na biohemijskom analizatoru Architect c8000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, SAD). Troponin T i NT-proBNP su određivani pomoću hemiluminiscentnog imunoeseja (eng. chemiluminescence immunoassay, CLIA) na automatskom analizatoru cobas e 411 (Roche Diagnostics, Mannheim, Nemačka). Insulinemija je određivana metodom CLIA na Immulite 2000 imunoesejskom sistemu (Siemens Healthcare, Erlangen, Nemačka). HbA1c i CRP su određivani imunoturbidimetrijskom metodom na biohemijskom analizatoru Architect c8000, a leptin ELISA (engl. enzyme-linked immunosorbent assay) metodom (Mediagnost, Rojtlingen, Nemačka). Ukoliko su nivoi NT-proBNP-a bili ispod donje granice detekcije (5 pg/ml), za vrednost NT-proBNP je uzeta polovina ove vrednosti (2,5 pg/ml). Isto tako, ukoliko je insulinemija bila niža od donjeg praga detekcije (2.0 μ IU/ml), uzeto je da je vrednost insulinemije polovina vrednosti ovog praga, odnosno 1.0 μ IU/ml.

Aktivnost serumske CK je tumačena u odnosu na odgovarajuće referentne vrednosti za uzrast i pol [158]. Uzeto je da je gornja granica normale za CK-MB 25 U/l. Vrednosti cTnT preko 0.1 ng/ml su smatrane povišenim [159]. Za tumačenje nivoa NT-proBNP-a korišćene su odgovarajuće uzrasno-specifične gornje granice normalnih vrednosti: 400 pg/ml (za uzrast 1-2 godine), 300 pg/ml (za uzrast 2-6 godina) i 160 pg/ml (za uzrast 6-19 godina) [160].

Hipoglikemija je definisana kao glikemija <3 mmol/l praćena simptomima i znacima hipoglikemije koji se povlače nakon korekcije hipoglikemije [161]. Povišena glikemija našte je definisana kao glikemija između 5,6 i 6,9 mmol/l, a glikemija ≥ 7 mmol/l je smatrana dijabetesom [162]. Vrednost HbA1c $>5,7\%$ je smatrana povišenom, dok je HbA1c $\geq 6,5\%$ govorio u prilog dijabetesa.

Na osnovu vrednosti glikemije i insulinemije izračunat je HOMA-IR (homeostatski model za procenu insulinske rezistencije, eng. homeostasis model assessment of insulin resistance), surogat pokazatelj insulinske rezistencije, prema sledećoj formuli: $HOMA-IR = (\text{glikemija [mmol/l]} \times \text{insulinemija [\mu IU/ml]}) / 22,5$ [163,164].

LDL holesterol je izračunat na osnovu Friedewaldove (Friedewald) formule: $\text{LDL holesterol} = (\text{ukupni holesterol} - (\text{HDL holesterol} + \text{trigliceridi}/5))$ [165]. Ne-HDL holesterol je računat kao razlika između ukupnog holesterola i HDL holesterola. Patološkim su smatrane vrednosti ukupnog holesterola $\geq 5,2$ mmol/l (200 mg/dl), LDL holesterola $\geq 3,4$ mmol/l (130 mg/dl), ne-HDL holesterola $\geq 3,8$ mmol/l (145 mg/dl), HDL holesterola < 1 mmol/l (40 mg/dl) i vrednosti triglicerida $\geq 1,1$ mmol/l (100 mg/dl) kod pacijenata uzrasta do 10 godina, odnosno $\geq 1,5$ mmol/l (130 mg/dl) za pacijente uzrasta 10–19 godina [166].

Vrednosti ALT-a su smatrane značajno povišenim ako su bile dva puta veće od gornje granice normale (> 52 U/l za osobe muškog pola i > 44 U/l za osobe ženskog pola) [167]. Za tumačenje vrednosti AST-a i γ -GT-a, korišćene su odgovarajuće referentne vrednosti [158].

CRP ≥ 5 mg/l je smatran povišenim. Nivoi leptina su određivani kod dece uzrasta ≥ 2 godine.

3.3.2.5 Test oralnog opterećenja glukozom (OGTT)

Indikacije za OGTT sa insulinemijama su bile ITM > 25 . percentila za pol i uzrast, povišena glikemija našte ili HbA1c između 5,7 i 6,4%, pod uslovom da je bolesnik mogao da sarađuje i da je imao očuvan peroralni unos.

OGTT je rađen ujutru u 9:00 h nakon 12 sati gladovanja preko noći. Na mestu na kome je prethodno nanet lokalni anestetik (Emla krem; Aspen Pharma, Bar, Švajcarska), prvo je pokušano plasiranje intravenske braunile. Ukoliko plasiranje braunile nije bilo izvodljivo, rađene su ponavljane venepunkcije. Prvo je uziman uzorak venske krvi za određivanje glikemije i insulinemije našte (nulti minut testa). Ispitanici su potom pili vodeni rastvor glukoze (1,75 g glukoze/kg telesne težine, do maksimalno 75 g glukoze) u roku od pet minuta. Zatim je na svakih pola sata, tokom dva sata (30, 60, 90. i 120. minut testa), uziman uzorak krvi za određivanje glikemije i insulinemije.

Poremećenom tolerancijom glukoze je smatrana vrednost glikemije između 7,8 i 11,0 mmol/l, a dijabetesom vrednost glikemije $\geq 11,1$ mmol/l dva sata nakon opterećenja glukozom (120. minut testa) [162].

3.3.2.6 24-časovni ambulatorni monitoring krvnog pritiska (AMKP)

Kod bolesnika starijih od 5 godina čiji obim nadlaktice iznosi najmanje 12 cm, urađen je 24-časovni AMKP korišćenjem oscilometrijskog ambulatornog monitora krvnog pritiska (90217, Spacelabs Healthcare, Isakva, Vašington, SAD) i odgovarajućeg softvera (92506, Spacelabs Healthcare, Isakva, Vašington, SAD). Uzrast od 5 godina je izabran jer za decu mlađu od 5 godina ne postoje referentne vrednosti za AMKP.

Manžetna aparata adekvatne veličine je postavljana na nedominantnu ruku. Aparat je bio programiran tako da meri pritisak na svakih 20 minuta u toku dana i na 30 minuta u toku noći, pri čemu su periodi spavanja i budnosti definisani na osnovu toga kada bolesnik leže i kada se budi. Bolesnicima i/ili roditeljima bolesnika je detaljno objašnjena procedura AMKP-a, a dobili su i dnevnik u koji su unosili podatke o aktivnostima, tegobama i vremenu spavanja i buđenja. Za procenu validnosti i tumačenje nalaza AMKP-a, korišćeni su vodiči Evropskog udruženja za hipertenziju [168].

Rezultati AMKP su smatrani validnim ukoliko je tokom dana dobijeno najmanje 20, a tokom noći najmanje 7 ispravnih merenja, pri čemu je u toku jednog sata dobijeno bar jedno merenje. Pored toga, procenat uspešnih merenja je morao da iznosi najmanje 70%.

Analizirani su sledeći parametri: prosečan 24-časovni krvni pritisak, prosečan dnevni i noćni krvni pritisak, noćni pad krvnog pritiska i dnevno i noćno opterećenje sistolnim i dijastolnim krvnim pritiskom. Prosečne vrednosti krvnog pritiska su upoređivane sa odgovarajućim referentnim vrednostima za AMKP [145,168]. Kod dece i adolescenata uzrasta 5-16 godina, hipertenzija je definisana kao krvni pritisak ≥ 95 . percentila za pol i uzrast (ukoliko je 95. percentil premašivao odgovarajuće adultne granične vrednosti, korišćene su adultne granične vrednosti). Treba napomenuti da nisu primenjivane referentne vrednosti krvnog pritiska za pol i telesnu visinu, s obzirom da je 6 od 19 pacijenata (31,6%) kojima je urađen AMKP imalo telesnu visinu/dužinu manju od 120 cm. Kod adolescenata starijih od 16 godina, za dijagnozu hipertenzije korišćene su adultne granične vrednosti za AMKP: prosečan 24-časovni krvni pritisak $\geq 130/80$ mmHg, prosečan dnevni krvni pritisak $\geq 135/85$ mmHg i prosečan noćni krvni pritisak $\geq 125/75$ mmHg [145]. Vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska su normalno niže u toku spavanja nego tokom budnosti. Noćni pad krvnog pritiska (eng. dipping) je pokazatelj ovog fiziološkog pada krvnog pritiska u toku spavanja, a izračunava se prema sledećoj formuli:
$$\frac{(\text{prosečan dnevni krvni pritisak} - \text{prosečan noćni krvni pritisak})}{\text{prosečan dnevni krvni pritisak}} \times 100\%$$
 Noćni pad krvnog pritiska je bio normalan ukoliko je bio veći od 10%, a snižen ukoliko je iznosio 1-10%. Izostanak noćnog pada krvnog pritiska (eng. non-dipping) je definisan kao noćni pad krvnog pritiska manji od 1% ili povećanje noćnog krvnog pritiska u odnosu na dnevni. Opterećenje sistolnim i opterećenje dijastolnim krvnim pritiskom označava procenat vrednosti sistolnog, odnosno dijastolnog krvnog pritiska koje premašuju odgovarajući 95. percentil krvnog pritiska (ili odgovarajuće adultne granične vrednosti krvnog pritiska).

Na osnovu rezultata AMKP, pacijenti su podeljeni u četiri kategorije: normalan krvni pritisak, hipertenzija, hipertenzija „belog mantila” i maskirana hipertenzija. Hipertenzija „belog mantila” je termin koji označava vrednosti krvnog pritiska koje su u granicama normale tokom dana, ali su povišene kada se mere u kliničkim uslovima (reakcija pacijenta na merenje krvnog pritiska). Sa druge strane, maskirana hipertenzija je termin koji označava povišene vrednosti krvnog pritiska u toku dana, pri čemu su vrednosti krvnog pritiska merene u kliničkim uslovima u granicama normale.

3.3.2.7 Magnetna rezonanca (MR) srca

MR srca je urađena kod bolesnika koji nisu zahtevali anesteziju i kod kojih nisu postojale druge kontraindikacije (npr. metalni implantati nakon operacije kičmenog stuba), primenom aparata za magnetnu rezonancu od 1,5 T (Achieva, Philips Healthcare, Best, Holandija). Za primanje signala korišćen je kalem od pet elemenata (SENSE Cardiac coil 1.5T). Za sinhronizaciju sekvenci magnetne rezonance sa električnom aktivnosti srca i respiracijama korišćena je bežična VCG (VectorCardioGraphy) jedinica.

Pregledi su započeti sveobuhvatnim skeniranjem grudnog koša u tri ortogonalne ravni korišćenjem balansirane TFE (Turbo Field Echo) sekvence kako bi se lokalizovali srce i dijafragma. Potom je napravljeno nekoliko uzastopnih filmova korišćenjem SENSE balansiranih TFE sekvenci za dobijanje dvošupljinskih, četvorošupljinskih i kratkoosovinskih preseka. Za supresiju i kompenzaciju respiratornih artefakata primenjena je tehnika zadržavanja daha. Za izračunavanje zapremine i mase komora korišćenjem Simpsonovog metoda, načinjena je serija 10–12 filmova kratkoosovinskih preseka paralelnih ravni atrioventrikularnih valvula, od nivoa atrioventrikularnih valvula do vrha srca.

U cilju procene prisustva miokardne fibroze, ispitivano je kasno pojačavanje signala, 15 minuta nakon intravenske primene gadolinijumskog kontrastnog sredstva (Gadovist, Bayer, Berlin, Nemačka) u dozi od 0,1 mmol/kg telesne težine.

Za izračunavanje volumena komora na kraju sistole i dijastole, udarnog volumena, ejskione frakcije i mase miokarda komora korišćen je odgovarajući softver, na način kako je to ranije opisano [169]. Epikardne i endokardne konture komora su obeležavane ručno. Interventrikularni septum je posmatran kao deo miokarda leve komore. Volumeni i masa komora, indeksirani u odnosu na telesnu površinu, upoređivani su sa odgovarajućim percentilima za pol i uzrast [169].

3.4 Dijagnoza metaboličkog sindroma

Za dijagnozu metaboličkog sindroma kod dece i adolescenata uzrasta 10-16 godina, primenjeni su kriterijumi Međunarodne federacije za dijabetes (IDF) prikazani u Tabeli 3. Za adolescente uzrasta 16 godina i starije, korišćeni su odgovarajući kriterijumi za odrasle koji su izneti u Tabeli 2.

Arterijska hipertenzija tokom 24-časovnog AMKP-a je smatrana ekvivalentom za povišen krvni pritisak meren u kliničkim uslovima, a poremećena tolerancija glukoze ekvivalentom za hiperglikemiju, u dijagnozi metaboličkog sindroma.

3.5 Statistička analiza

U obradi podataka korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. Primenom testova za procenu normalnosti raspodele (Kolmogorov-Smirnov test i Šapiro-Vilk [Shapiro-Wilk] test), utvrđeno je da numerički podaci ne slede normalnu raspodelu, tako da su za njihovo opisivanje korišćeni medijana kao mera centralne tendencije, a raspon i interkvartilni raspon (razlika između 75. i 25. percentila) kao mere varijabiliteta. Kategoričke promenljive su izražene u vidu učestalosti (frekvencije) i procenta.

Vrednosti HOMA-IR i leptina su transformisane primenom logaritamske funkcije [170]. Regresiona analiza i analiza varijanse (ANOVA) su korišćeni za ispitivanje povezanosti između z-skora za ITM i logaritma HOMA-IR, kao i z-skora za OS i logaritma HOMA-IR. Za ispitivanje povezanosti između z-skora za ITM i logaritma nivoa leptina, korišćen je Pirsonov (Pearson) koeficijent korelacije (r), dok je za ispitivanje povezanosti između HFMSE skora i nivoa leptina primenjen Spirmanov (Spearman) koeficijent korelacije ranga (r_s). P-vrednost manja od 0,05 je smatrana statistički značajnom.

Za statističku analizu je korišćen IBM SPSS softverski paket (verzija 23.0) za Windows operativni sistem.

4 Rezultati

4.1 Demografske i kliničke karakteristike bolesnika

Ukupno su 42 pacijenta sa tipom 2 i 3 SMA bila uključena u studiju, pri čemu su 4 pacijenta uključena nakon izlječenja akutne respiratorne infekcije. Iz analize je isključena jedna pacijentkinja koja je imala homozigotnu deleciju gena *SMN1*, ali nije razvila kliničku sliku bolesti (presimptomatski pacijent). Njenom rođenom bratu, koji je nosilac iste mutacije gena *SMN1*, dijagnostikovano je tip 3 SMA.

Demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA su date u Tabeli 4. Medijana starosti svih pacijenata je iznosila 7,2 godine (raspon, 1,2–18,9 godina). Ukupno je bilo 19 pacijenata muškog pola (45,2%) i 23 ženskog pola (54,8%). Sedam pacijenata (16,7%) je koristilo neinvazivnu ventilaciju (NIV), a jedan (2,4%) invazivnu ventilaciju preko traheostome. Petoro njih je zahtevalo respiratornu potporu samo tokom noći, a troje i noću i danju, ali ne više od 16 sati dnevno. Torakalna skolioza (Cobb-ov ugao ≥ 10 stepeni) bila je prisutna kod 31 pacijenta (73,8%).

Tabela 4. Demografske i kliničke karakteristike 42 pacijenta sa tipom 2 i 3 SMA. Podaci su prikazani kao učestalost (%) ili medijana (interkvartilni raspon).

Podatak	Tip 2 SMA	Tip 3 SMA	
		Pokretni	Nepokretni
Broj pacijenata	27 (64,3%)	9 (21,4%)	6 (14,3%)
Uzrast (godine)	5,4 (2,5–11,7)	8 (3,8–16,3)	10,7 (10–14,4)
Pol			
Muški	11 (40,7%)	5 (55,6%)	3 (50%)
Ženski	16 (59,3%)	4 (44,4%)	3 (50%)
Telesna težina (kg)	19,2 (11,1–31,4)	27,7 (13,4–56,8)	44,6 (33,9–73,6)
Z-skor za telesnu težinu	-0,6 (-2,2–0,5)	0,1 (-1,4–1,1)	1,1 (0–1,8)
Telesna visina/dužina (cm)	109,2 (92,4–125,3)	130,3 (99–163,9)	139,4 (135,9–154,9)
Z-skor za telesnu visinu/dužinu	-0,6 (-1,9–[-0,1])	-0,1 (-0,6–0,7)	-0,7 (-1,5–0,5)
ITM (kg/m ²)*	16,6 (12,2–20,6)	20,2 (14–22,2)	23,7 (18,1–30,6)
Z-skor za ITM*	0,2 (-3,8–1,5)	0 (-1,7–1,3)	1,7 (0,5–2,1)
TP (m ²)	0,8 (0,5–1,1)	0,9 (0,6–1,6)	1,3 (1,1–1,7)
Respiratorna potpora			
Bez respiratorne potpore	19 (70,4%)	9 (100%)	6 (100%)
NIV	7 (25,9%)	0 (0%)	0 (0%)
Invazivna ventilacija preko traheostome	1 (3,7%)	0 (0%)	0 (0%)
Procena motorne funkcije			
CHOP INTEND [†]	42 (29,5–44,5)	/	
HFMSE*	12 (5,8–20,3)	49 (39–53)	28,5 (16,8–37,5)
Cobb-ov ugao torakalne skolioze (°)	50 (9–95)	10 (9–14,5)	60 (10,5–101,3)
SKP ≥95. percentila [‡]	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
DKP ≥95. percentila [§]	1 (3,7%)	0 (0%)	4 (66,7%)

SMA – spinalna mišićna atrofija; ITM – indeks telesne mase; TP – telesna površina; NIV – neinvazivna ventilacija; CHOP INTEND – test za neuromišićna oboljenja Dečije bolnice u Filadelfiji (eng. the Children’s Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders); HFMSE – proširena Hamersmitova skala motorne funkcionalnosti (eng. the expanded Hammersmith Functional Motor Scale); SKP – sistolni krvni pritisak; DKP – dijastolni krvni pritisak; / – nijedan pacijent nije bio mlađi od dve godine u grupi pacijenata sa tipom 3 SMA

*za pacijente uzrasta ≥ 2 godine

†za pacijente uzrasta < 2 godine

‡ ≥ 140 mmHg za pacijente uzrasta ≥ 16 godina

§ ≥ 90 mmHg za pacijente uzrasta ≥ 16 godina

Jedna pacijentkinja sa tipom 2 SMA je imala ageneziju bubrega sa očuvanom funkcijom kontralateralnog bubrega. Druga pacijentkinja sa tipom 2 SMA imala je u ličnoj anamnezi podatak o prolapsu mitralnog zaliska sa blagom mitralnom regurgitacijom koji joj je dijagnostikovao u uzrastu od 10 godina. Na pregledu je imala izrazito malu telesnu težinu, tešku kifoskoliozu, kao i auskultatorni nalaz mezosistolnog klika i visokofrekventnog sistolnog šuma na vrhu srca.

Tokom auskultacije, 7 pacijenata (16,7%) (6 sa tipom 2 SMA i jedan sa tipom 3 SMA) je imalo povećanu srčanu frekvencu u miru. Jedan od njih je bio pacijent sa tipom 2 SMA koji je koristio NIV i noću i danju, a ubrzan srčani rad je konstatovan i kod pacijentkinje sa tipom 3 SMA koja je bila nepokretna i izuzetno gojazna. Dijastolni krvni pritisak je bio povećan kod 5 pacijenata (11,9%), od kojih su svi bili nepokretni i imali prekomernu telesnu težinu ili su bili gojazni.

Nijedan pacijent nije imao anemiju, bubrežnu slabost ili poremećaj funkcije štitne žlezde i niko nije primao lekove koji bi mogli uticati na kardiovaskularnu funkciju.

Prilikom ispitivanja metaboličkih poremećaja kod SMA, posebno smo izdvojili podgrupu pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA uzrasta ≥ 2 godine (Tabela 5), s obzirom da ITM nema smisla određivati pre uzrasta od 2 godine. U podgrupi pacijenata ≥ 2 godine (ukupno njih 37), medijana starosti je bila 8,5 godina (raspon 2–18,9 godina), a odnos muškog i ženskog pola 1:1,3. Medijana za ITM je iznosila $18,6 \text{ kg/m}^2$ (raspon $11,5\text{--}30,7 \text{ kg/m}^2$), 22 pacijenta (59,5%) su imala ITM $> 25.$ percentila za pol i uzrast, a 14 pacijenata (37,8%) je imalo ITM $\geq 85.$ percentila za pol i uzrast. Abdominalnu gojaznost (OS $> 90.$ percentila za pol i uzrast) imalo je 11 pacijenata (29,7%). Četrnaest pacijenata (37,8%) je bilo u pubertetu.

Tabela 5. Demografske i antropometrijske karakteristike 37 pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA uzrasta ≥ 2 godine. Podaci su prikazani kao učestalost (%) ili medijana (interkvartilni raspon).

Podatak	Tip 2 SMA	Tip 3 SMA	
		Pokretni	Nepokretni
Broj pacijenata	22 (59,5%)	9 (21,4%)	6 (14,3%)
Uzrast (godine)	6,1 (4,2–12,1)	8 (3,8–16,3)	10,7 (10–14,4)
Pol			
Muški	8 (36,4%)	5 (55,6%)	3 (50%)
Ženski	14 (63,6%)	4 (44,4%)	3 (50%)
Telesna težina (kg)	20,3 (13,6–33,6)	27,7 (13,4–56,8)	44,6 (33,9–73,6)
Z-skor za telesnu težinu	-0,7 (-2,8–0,6)	0,1 (-1,4–1,1)	1,1 (0–1,8)
Telesna visina/dužina (cm)	112,4 (104,7–127,6)	130,3 (99–163,9)	139,4 (135,9–154,9)
Z-skor za telesnu visinu/dužinu	-0,6 (-2,4–0)	-0,1 (-0,6–0,7)	-0,7 (-1,5–0,5)
ITM (kg/m ²)	16,6 (12,2–20,6)	20,2 (14–22,2)	23,7 (18,1–30,6)
Z-skor za ITM	0,2 (-3,8–1,5)	0 (-1,7–1,3)	1,7 (0,5–2,1)
ITM >25. percentila	12 (54,5%)	5 (55,6%)	5 (83,3%)
ITM \geq 85. percentila	8 (36,4%)	2 (22,2%)	4 (66,7%)
OS (cm)	60 (44,8–70,6)	70,5 (45,9–78,3)	77,5 (64,5–97,5)
OS >90. percentila *	6 (27,3%)	2 (22,2%)	3 (50%)
Z-skor za OS	0,1 (-2,6–1,4)	-0,3 (-0,8–1,1)	1,3 (0,1–1,8)

SMA – spinalna mišićna atrofija; ITM – indeks telesne mase; OS – obim struka

* ≥ 102 cm za muški pol i ≥ 88 cm za ženski pol, za pacijente starije od 18 godina

Nijedan od ovih pacijenata nije dobijao antidijabetesne lekove niti hipolipemike. Kao što je pomenuto, niko od pacijenata sa SMA nije imao hipotireozu, što je važno s obzirom da pacijenti sa hipotireozom mogu imati povišen ukupan holesterol, LDL holesterol, a moguće i povišene trigliceride [171].

4.2 Ehokardiografski pregled

Ehokardiografski pregledi su urađeni kod svih pacijenata. Kod jednog pacijenta sa tipom 2 SMA i teškom kifoskoliozom dobijeni su samo supkostalni preseki, jer je transtorakalni prikaz bio izuzetno otežan.

Dijagnoza prolapsa mitralnog zaliska sa blagom mitralnom regurgitacijom potvrđena je kod pacijentkinje za koju se znalo da ima ovu anomaliju. Nisu pronađene druge strukturne bolesti srca.

Svi pacijenti su imali normalnu sistolnu i dijastolnu funkciju komora. Veličina komora i debljina miokarda, mereni primenom M-moda, takođe su bili u granicama normale (z-skor između -2 i +2). Kod pacijenta kod kog su dobijeni samo supkotalni preseki, srčane komore i debljina miokarda takođe su izgledali normalno.

Nijedan pacijent nije imao ehokardiografske znake plućne hipertenzije.

4.3 Ultrazvuk abdomena

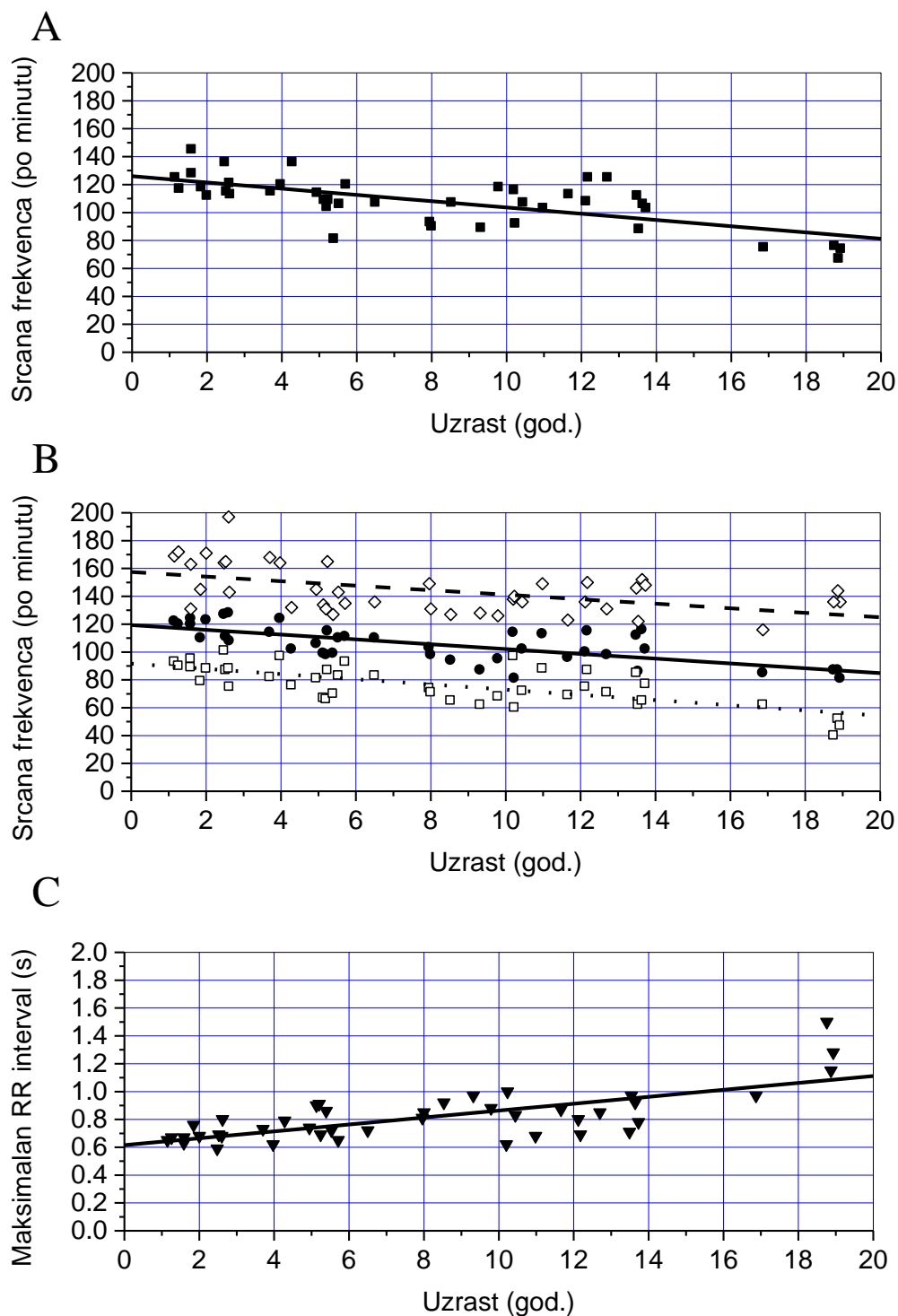
Kod četiri pacijenta (10,8%), od kojih je jedan imao tip 2 SMA, a tri tip 3 SMA, ultrazvuk je pokazao steatozu jetre.

Svi pacijenti sa ultrazvučnom dijagnozom steatoze jetre su bili nepokretni i imali su ITM ≥ 85 . percentila za pol i uzrast. Jedan od ovih pacijenata je bila devojčica sa kožnom promenom po tipu acanthosis nigricans i hiperinsulinemijom, za koju se znalo da ima steatozu jetre još od uzrasta od tri godine. Drugi pacijent je bio adolescent sa tipom 3 SMA, koji je imao hronično povišen ALT (oko četiri puta više od gornje granice normalnih vrednosti).

Kod ovih pacijenata nisu pronađeni drugi uzroci steatoze jetre (korišćenje određenih lekova, infekcija virusima hepatitisa, celijačna bolest, hemohromatoza, Vilsonova [Wilson] bolest, deficit $\alpha 1$ -antitripsina, itd.).

4.4 EKG i 24-časovni holter monitoring

EKG je pokazao sinusnu tahikardiju kod 7 pacijenata kod kojih je utvrđeno da imaju povećanu srčanu frekvencu u mirovanju tokom auskultacije. Slika 3A prikazuje vrednosti srčane frekvence dobijene pomoću EKG-a, kod pacijenata sa SMA.



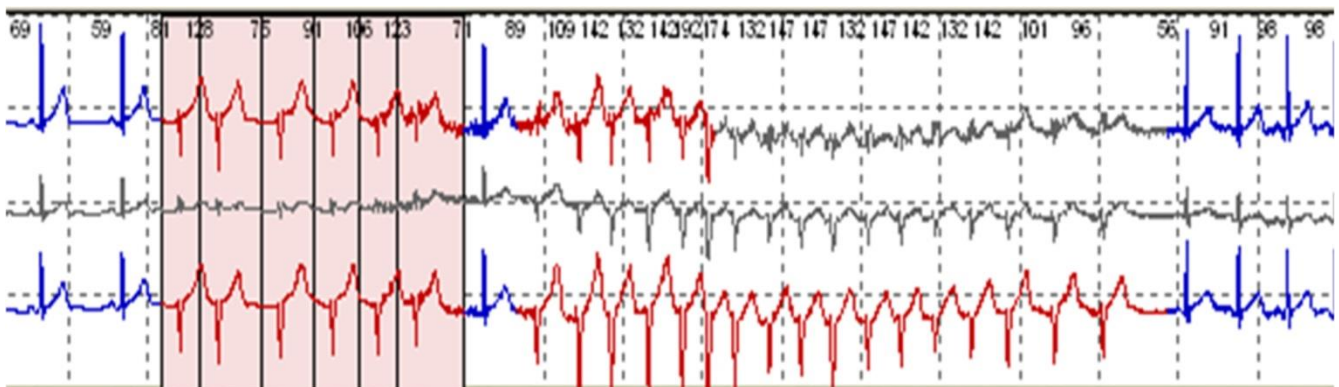
Slika 3. (A) Vrednosti srčane frekvence na EKG-u u odnosu na uzrast, kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA: srčane frekvence (■ ■ ■) i regresiona linija (—). (B) Vrednosti minimalnih, srednjih i maksimalnih srčanih frekvenci i (C) maksimalnih RR intervala dobijenih pomoću 24-časovnog holter monitoringa kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA, u odnosu na uzrast: minimalne srčane frekvence (□ □ □) i regresiona linija (· · · · ·), prosečne srčane frekvence (● ● ●) i regresiona linija (—),

maksimalne srčane frekvence (◇ ◇ ◇) i regresiona linija (— — —) i maksimalni RR intervali (▼ ▼ ▼) i regresiona linija (———).

Jedan pacijent sa tipom 2 SMA i sinusnom tahikardijom na EKG-u imao je desnu srčanu osovину, ali nije imao druge EKG znake hipertrofije desne komore. Jedna četvorogodišnja devojčica sa tipom 2 SMA imala je produžen PR interval (160 ms), što odgovara AV bloku prvog stepena. Ostali elektrokardiografski parametri (uključujući i korigovani QT interval) bili su u granicama normale. Nisu registrovane supraventrikularne ili ventrikularne ekstrasistole niti drugi poremećaji srčanog ritma na EKG-u.

Artefakti na EKG zapisu, uzrokovani fascikulacijama mišića, primećeni su kod 31 od 42 pacijenta sa SMA (73,8%). Ovi artefakti su bili prisutni u svim odvodima kod 21 pacijenta (67,7%), a samo u standardnim bipolarnim odvodima (I, II, III) i pojačanim ekstremitetnim odvodima (aVR, AVL, aVF) kod preostalih 10 (32,3%).

Kada su u pitanju nalazi 24-časovnog holter monitoringa, kod jednog pokretnog 19-godišnjaka sa tipom 3 SMA, primećene su retke (manje od 5% svih srčanih otkucaja) monomorfne ventrikularne ekstrasistole (VES). Jedna epizoda ubrzanog idioventrikularnog ritma (eng. accelerated idioventricular rhythm, AIVR) trajanja 6 udara i jedna epizoda spore (frekvence 134/min), uniformne, kratkotrajne (trajanja 17 udara) ventrikularne tahikardije (eng. non-sustained ventricular tachycardia, NSVT) otkriveni su kod pokretne 19-godišnje pacijentkinje sa tipom 3 SMA (Slika 4). Ova pacijentkinja nije imala kardijalnih tegoba i imala je strukturno zdravo srce. Pored toga, jedno dete sa tipom 2 SMA imalo je svega pet supraventrikularnih ekstrasistola za 24 sata.



Slika 4. Zapis holter monitoringa, kod 19-godišnje pacijentkinje sa tipom 3 SMA, koji pokazuje jednu epizodu ubrzanog idioventrikularnog ritma (AIVR) i kratkotrajne ventrikularne tahikardije (NSVT).

Srčane frekvence (minimalna, prosečna i maksimalna srčana frekvenca) i maksimalni RR intervali, dobijeni 24-časovnim holter monitoringom, prikazani su na Slikama 3B i 3C. Prosečna 24-časovna srčana frekvenca bila je povećana kod 6 pacijenata (14,3%) (po tri pacijenta sa tipom 2 i 3 SMA). Dvoje od njih je imalo sinusnu tahikardiju na standardnom EKG-u (pacijent sa tipom 2 SMA koji je bio na NIV-u i tokom noći i tokom dana i izrazito gojazna, nepokretna pacijentkinja sa tipom 3 SMA). Pored toga, među njima je bila i pacijentkinja sa prolapsom mitralnog zaliska.

Minimalna 24-časovna srčana frekvenca i odgovarajući maksimalan RR interval, zabeleženi su tokom spavanja kod svih pacijenata. Minimalna srčana frekvenca je bila povišena, a odgovarajući maksimalan RR interval snižen kod 23 pacijenta (54,8%) (15 sa tipom 2 SMA i 8 sa tipom 3 SMA).

Maksimalna časovna srčana frekvenca ja zavisila od stepena fizičke aktivnosti, tako da nije dalje analizirana.

4.5 Laboratorijske analize krvi i rezultati testa opterećenja glukozom

CK je bila blago povišena (od 1,12 do 6,4 puta u odnosu na gornju granicu normalnih vrednosti) kod 6 pacijenata (14,3%), od kojih je 5 imalo tip 3 SMA, a jedan tip 2 SMA. Najviši nivoi CK su zabeleženi kod pacijenata sa tipom 3 SMA koji mogu da hodaju. CK-MB je bila samo neznatno povišena kod 10 pacijenata (23,8%).

Nivoi TnT i NT-proBNP su bili su normalni kod svih pacijenata. Medijana nivoa cTnT je iznosila 0,03 ng/ml (opseg, 0,02–0,09 ng/ml). Vrednosti NT-proBNP-a za pacijente sa SMA u odnosu na uzrast, prikazane su u Tabeli 6.

Tabela 6. Nivoi NT-proBNP-a u odnosu na uzrast, kod 42 pacijenta sa tipom 2 i 3 SMA

Uzrasna grupa	Broj pacijenata	NT-proBNP (pg/ml)*	
		Medijana (raspon)	IQR
1–2 godine	6	43,2 (27,6–139,7)	34,4–113,2
2–6 godina	14	50,9 (12,8–103,3)	33,9–83,3
6–19 godina	22	32,2 (2,5–56)	15,9–42,2

NT-proBNP – (N-terminalni pro-moždani natriuretski peptid, eng. N-terminal pro-brain natriuretic peptide); SMA – spinalna mišićna atrofija; IQR – interkvartilni raspon

*Uzeto je da su gornje granice normalnih vrednosti NT-proBNP-a redom: 400 pg/ml za uzrast 1-2 godine, 300 pg/ml za uzrast 2-6 godina i 160 pg/ml za uzrast 6-19 godina (prema referenci [160]).

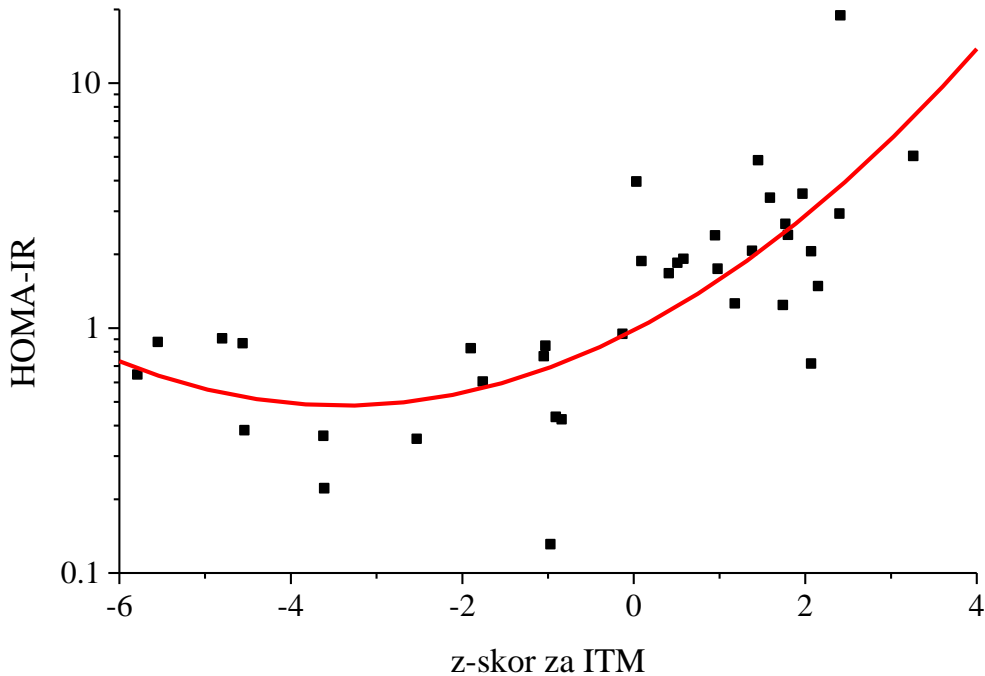
Vrednosti parametara metabolizma šećera (glikemija i insulinemija našte, HOMA-IR i HbA1c) date su u Tabeli 7. Četiri (po dva sa tipom 2 i 3 SMA) od ukupno 37 pacijenata (10,8%), imala su povišenu glikemiju našte. Najviše vrednosti insulinemije i HOMA-IR registrovane su kod gojazne pacijentkinje sa tipom 3 SMA i kožnom promenom po tipu acanthosis nigricans. HbA1c je bio povišen kod jednog pacijenta sa tipom 2 SMA.

Tabela 7. Glikemija našte, insulinemija našte, HOMA-IR i nivoi HbA1c kod 37 pacijenata sa SMA.

<i>Parametar</i>	<i>Tip 2 SMA</i>	<i>Tip 3 SMA</i>	
		Pokretni	Nepokretni
Glikemija (mmol/l)			
Medijana (raspon)	4,8 (4–5,8)	5,0 (2,9–5,8)	4,9 (4,5–5,8)
IQR	4,7–5,3	4,5–5,4	4,8–5,6
Insulinemija (μIU/ml)			
Medijana (raspon)	4,5 (2–20)	6,5 (1–17)	12,6 (3,8–86)
IQR	3–9,2	1,4–8,1	8,2–33,6
HOMA-IR			
Medijana (raspon)	0,92 (0,36–5)	1,47 (0,13–3,93)	3,0 (0,76–18,73)
IQR	0,69–1,94	0,28–1,95	1,97–7,31
HbA1c (%)			
Medijana (raspon)	4,9 (4,6–5,8)	4,9 (4,6–5,5)	5,1 (4,4–5,4)
IQR	4,8–5,3	4,7–5,1	4,7–5,3

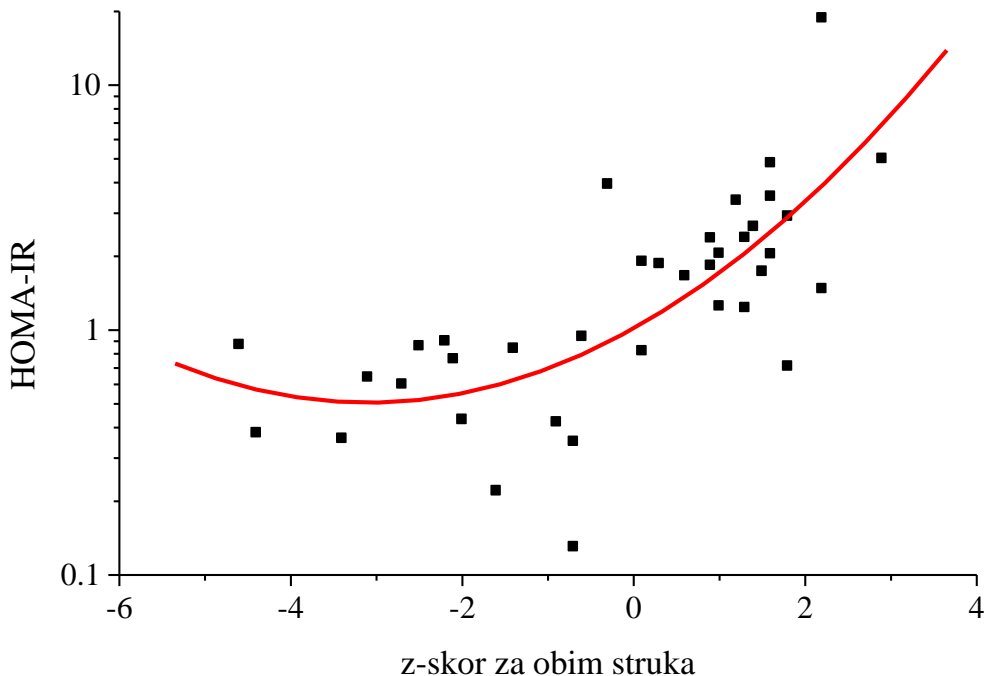
HOMA-IR – homeostatski model za procenu insulinske rezistencije (eng. homeostasis model assessment of insulin resistance); HbA1c – hemoglobin A1c; SMA – spinalna mišićna atrofija; IQR – interkvartilni raspon

Postojala je statistički značajna kvadratna povezanost između z-skora za ITM i logaritma HOMA-IR, $F(2, 34) = 22,5$, $p < 0,001$ (Slika 5). Ovaj kvadratni model je objasnio 56,9% varijacije u logaritmu HOMA-IR.



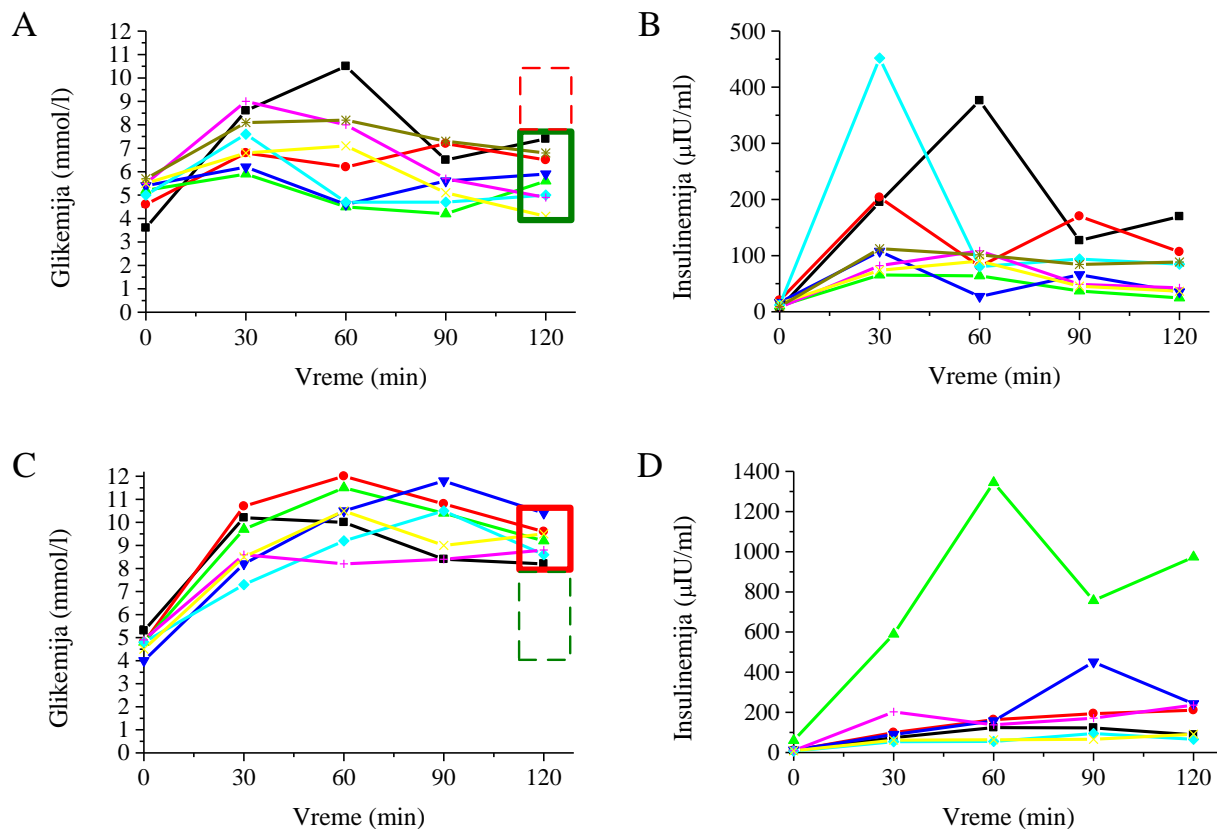
Slika 5. Semilogaritamski grafikon ukazuje na kvadratnu povezanost između z-skora za indeks telesne mase (ITM) i logaritma HOMA-IR (homeostatski model za procenu insulinske rezistencije, eng. homeostasis model assessment of insulin resistance).

Slično, postojala je i statistički značajna kvadratna povezanost između z-skora za OS i logaritma HOMA-IR, $F(2, 34) = 19,6$, $p < 0,001$ (Slika 6). Ovaj model je objasnio 53,6% varijacije u logaritmu HOMA-IR.



Slika 6. Ovaj semilogaritamski grafikon ukazuje na kvadratnu povezanost između z-skora za obim struka (OS) i logaritma HOMA-IR (homeostatski model za procenu insulinske rezistencije, eng. homeostasis model assessment of insulin resistance).

Dvadeset dva pacijenta (srednja starost 10,2 godine, raspon 2,5–18,9 godina) potencijalno su ispunjavala uslove za OGTT. Petoro dece je bilo premalo da bi sarađivalo tokom testa. OGTT je prekinut kod dva pacijenta zbog mučnine i povraćanja nakon što su popila rastvor glukoze. Tako je OGTT urađen kod ukupno 15 pacijenata (šest sa tipom 2 SMA i devet sa tipom 3 SMA) čija je srednja starosna dob iznosila 11,7 godina (raspon 5,2–18,9 godina). Njih sedam (četiri sa tipom 2 SMA i tri sa tipom 3 SMA) imala su poremećenu toleranciju glukoze. Nivoi glukoze i insulina u serumu tokom OGTT-a kod pacijenata sa normalnom i poremećenom tolerancijom glukoze prikazani su na Slici 7. Među onima kod kojih nije urađen OGTT, troje je imalo povišenu glikemiju našte.



Slika 7. Ovi grafici prikazuju vrednosti glikemije i insulinemije tokom testa oralnog opterećenja glukozom (OGTT) kod 8 pacijenata sa SMA koji su imali normalnu toleranciju glukoze (paneli A i B), odnosno kod 7 pacijenata koji su imali poremećenu toleranciju glukoze (paneli C i D). Zeleni i crveni pravougaonik uokviruju nivoe glukoze u 120. minutu OGTT testa kod pacijenata sa, redom, normalnom i poremećenom tolerancijom glukoze.

Ukupno je 11 pacijenata (29,7%) ispunjavalo laboratorijske kriterijume za predijabetes, ali nijedan nije ispunio kriterijume za dijagnozu tipa 2 dijabetesa. Svi sem jednog pacijenta sa predijabetesom su bili nepokretni, njih 9 (81,8%) je imalo ITM ≥ 85 . percentila za pol i uzrast, 6 (54,5%) OS >90 . percentila za pol i uzrast, a 7 (63,6%) je bilo u pubertetu. Niko od njih nije imao pozitivnu porodičnu anamnezu za tip 2 dijabetesa ili anamnestički podatak o prematuritetu ili maloj ili velikoj telesnoj težini na rođenju.

Jedan dvogodišnji dečak sa niskom telesnom težinom razvio je blagu hipoglikemiju (2,9 mmol/l) posle 12 sati gladovanja preko noći. Hipoglikemija se klinički ispoljila glađu, preznojavanjem, mučninom i povraćanjem i brzo se korigovala nakon što je dete popilo slatki napitak. Gasne analize iz kapilarne krvi, uključujući i nivoe laktata, bile su u granicama normale, a ketoni u urinu su bili pozitivni. Dečak prethodno nije imao epizode hipoglikemije, niti je u anamnezi postojao podatak o deficitu hormona rasta ili insuficijenciji nadbubrežne žlezde.

Nivoi serumskih lipida kod pacijenata sa SMA su dati u Tabeli 8.

Tabela 8. Nivoi serumskih lipida kod 37 pacijenata sa SMA. Nivoi triglicerida su dati odvojeno za pacijente mlađe od 10 godina i one koji imaju 10 i više godina. Podaci o nivoima triglicerida kod pokretnih i nepokretnih pacijenata sa tipom 3 SMA dati su zbirno za sve ove pacijente, s obzirom na malu veličinu uzorka.

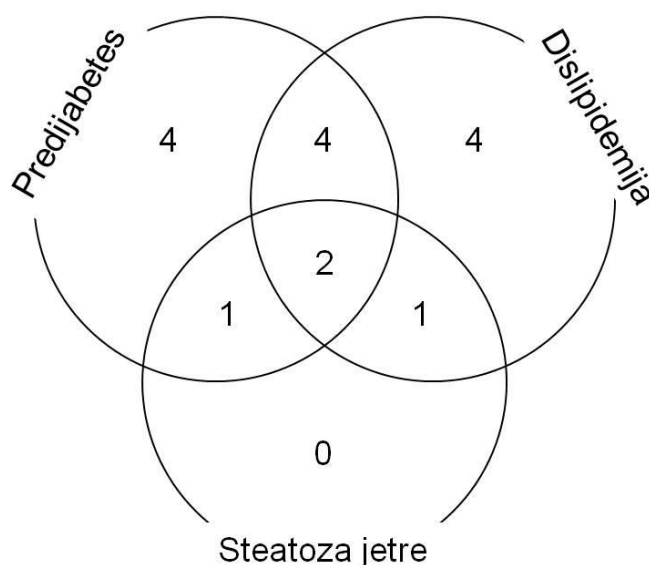
Parametar	Tip 2 SMA	Tip 3 SMA	
		Pokretni	Nepokretni
Ukupni holesterol (mmol/l)			
Medijana (raspon)	4,34 (3,65–10,42)	4,58 (3,84–4,92)	4,55 (3,88–5,57)
IQR	3,77–4,93	3,9–4,81	3,93–5,23
HDL holesterol (mmol/l)			
Medijana (raspon)	1,39 (0,74–2)	1,34 (1,16–1,87)	1,21 (1,01–1,77)
IQR	1,1–1,77	1,21–1,49	1,04–1,53
Ne-HDL holesterol (mmol/l)			
Medijana (raspon)	2,94 (2,13–8,64)	3,3 (1,99–3,45)	3,27 (2,87–3,8)
IQR	2,73–3,36	2,64–3,4	2,89–3,8
LDL holesterol (mmol/l)			
Medijana (raspon)	2,6 (1,72–8,34)	2,91 (1,78–3,2)	2,71 (2,17–3,54)
IQR	2,22–3,01	2,24–3,06	2,37–3,46
Trigliceridi (mmol/l) kod pacijenata <10 godina			
Medijana (raspon)	0,86 (0,38–1,83)	0,78 (0,55–1,48)	
IQR	0,55–0,91	0,6–1,1	
Trigliceridi (mmol/l) kod pacijenata ≥10 godina			
Medijana (raspon)	0,71 (0,51–1,68)	0,93 (0,46–1,54)	
IQR	0,52–1,09	0,73–1,1	

SMA – spinalna mišićna atrofija; IQR – interkvartilni raspon; HDL holesterol – holesterol u sastavu lipoproteina velike gustine (eng. high-density lipoprotein, HDL); LDL holesterol – holesterol u sastavu lipoproteina male gustine (eng. low-density lipoprotein, LDL)

Jedanaest pacijenata (29,7%), od kojih su svi bili nepokretni, imalo je izmenjen najmanje jedan lipidni parametar. Pored toga, njih 8 (72,7%) je imalo ITM ≥85. percentila za pol i uzrast, a 5 (45,5%) OS >90. percentila za pol i uzrast. Povišen ukupni holesterol, ne-HDL holesterol, LDL holesterol i trigliceridi su registrovani kod po 5 pacijenata, dok su 2 pacijenta imala snižen HDL holesterol. Tri izmenjena lipidna parametra (povišen ukupni holesterol, ne-HDL holesterol i LDL holesterol) pronađena su kod tri pacijenta sa pozitivnom porodičnom anamnezom za hiperholesterolemiju. Niko od pacijenata nije imao povišen i LDL holesterol i trigliceride.

Serumske aminotransferaze su bile u granicama normalnih vrednosti kod svih pacijenata, izuzev jednog 17-godišnjeg adolescenta sa tipom 3 SMA koji je imao hronično povišen ALT (oko četiri puta više od gornje granice normalnih vrednosti). Niko od pacijenata nije imao povišene vrednosti γ -GT.

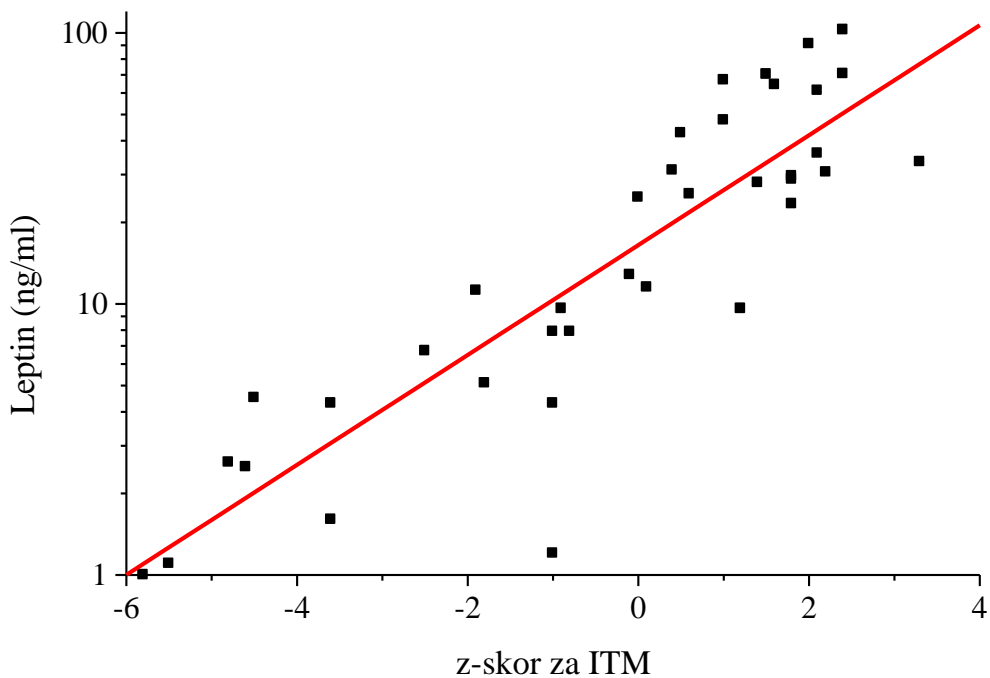
Šesnaest pacijenata sa SMA (43,2%) imalo je najmanje jedan nalaz koji ukazuje na poremećaj metabolizma šećera i masti (predijabetes, dislipidemiju ili steatozu jetre na ultrazvuku), kao što je prikazano na Slici 8. Dvanaestoro njih (75%) je imalo ITM \geq 85. percentila za pol i uzrast, a 7 (43,8%) OS $>$ 90. percentila za pol i uzrast.



Slika 8. Venov dijagram koji prikazuje preklapanje između predijabetesa, dislipidemije i steatoze jetre kod 16 pacijenata sa SMA (videti tekst za detalje). Brojevi označavaju broj pacijenata.

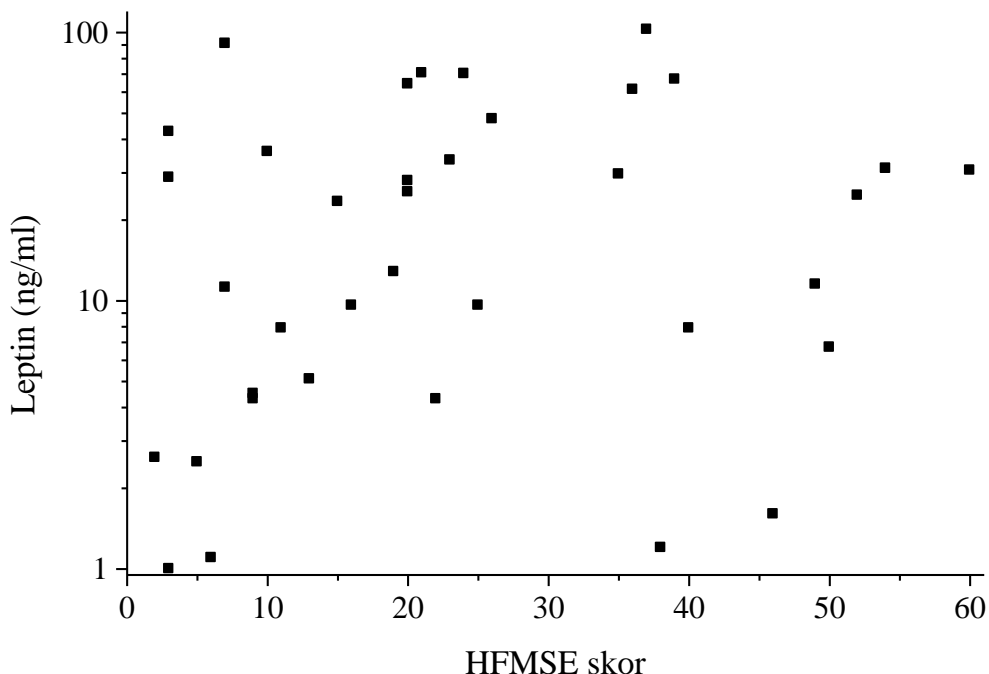
Blago povišene vrednosti CRP-a (do 11,9 mg/l) registrovane su kod 4 pacijenta sa SMA (po dva sa tipom 2 i 3 SMA). Sva 4 pacijenta su imala prekomernu telesnu težinu ili su bila gojazna, a dvoje od njih je imalo predijabetes.

Između z-skora za ITM i logaritma nivoa leptina postojala je jaka pozitivna linearna korelacija, $r(35) = 0,879$, $p < 0,001$ (Slika 9).



Slika 9. Semilogaritamski grafikon ukazuje na linearnu povezanost između z-skora za indeks telesne mase (ITM) i logaritma nivoa leptina.

Sa druge strane, nije pokazana statistički značajna povezanost između HFMSE skora i nivoa leptina, $r_s(35) = 0,24$, $p = 0,15$ (Slika 10).



Slika 10. Dijagram rasturanja koji ukazuje na to da ne postoji jasna povezanost između skora na proširenoj Hamersmitovoj skali motorne funkcionalnosti (HFMSE) i nivoa leptina.

4.6 24-časovni ambulatorni monitoring krvnog pritiska (AMKP)

AMKP je urađen kod ukupno 19 od 29 pacijenata (65,5%) sa tipom 2 i 3 SMA uzrasta ≥ 5 godina, od kojih je 8 (42,1%) bilo muškog, a 11 (57,9%) ženskog pola. Medijana uspešnih merenja po pacijentu je iznosila 54 (raspon 31–64), a medijana procenta uspešnih merenja 87% (raspon 74–100%).

Ukupno su 4 pacijenta (21,1%), od kojih je troje ženskog, a jedno muškog pola, imala arterijsku hipertenziju (Tabela 9). Najmanje jedan od ovih četvero pacijenata je imao prekomernu telesnu težinu/gojaznost, a svi su bili nepokretni. Troje njih je imalo povišen dijastolni krvni pritisak mereno sfigmomanometrom, u kliničkim uslovima. Jedna pothranjena pacijentkinja sa tipom 3 SMA je imala maskiranu hipertenziju. Ostali parametri dobijeni pomoću AMKP su prikazani u Tabeli 10. Takođe treba napomenuti da se 4 od 9 pacijenata (44,4%) sa povišenim opterećenjem krvnim pritiskom u toku noći, kao i 5 od 10 pacijenata (50%) koji su imali snižen noćni pad krvnog pritiska ili izostanak noćnog pada krvnog pritiska, budilo u toku noći ili je imalo loš kvalitet sna.

Tabela 9. Rezultati 24-časovnog ambulatornog monitoringa arterijskog krvnog pritiska (AMKP) kod 19 pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA. Podaci su prikazani kao učestalosti.

<i>Kategorija</i>	<i>Tip 2 SMA (n=8)</i>	<i>Tip 3 SMA (n=11)</i>
Normalan krvni pritisak	6	9
Hipertenzija	2	1
Hipertenzija „belog mantila”	0	0
Maskirana hipertenzija	0	1

SMA – spinalna mišićna atrofija

Tabela 10. Podaci o različitim izvedenim parametrima koji su dobijeni na osnovu 24-časovnog ambulatornog monitoringa arterijskog krvnog pritiska (AMKP) kod 19 pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA. Podaci su prikazani kao učestalosti.

<i>Parametar</i>	<i>Tip 2 SMA (n=8)</i>	<i>Tip 3 SMA (n=11)</i>
Normalno dnevno i noćno opterećenje SKP i DKP	4	8
Dnevno opterećenje SKP $\geq 25\%$	0	2
Noćno opterećenje SKP $\geq 25\%$	1	3
Dnevno opterećenje DKP $\geq 25\%$	3	2
Noćno opterećenje DKP $\geq 25\%$	3	2
Normalan noćni pad KP	5	4
Snižen noćni pad KP	2	7
Izostanak noćnog pada KP	1	0

SMA – spinalna mišićna atrofija; SKP – sistolni krvni pritisak; DKP – dijastolni krvni pritisak; KP – krvni pritisak

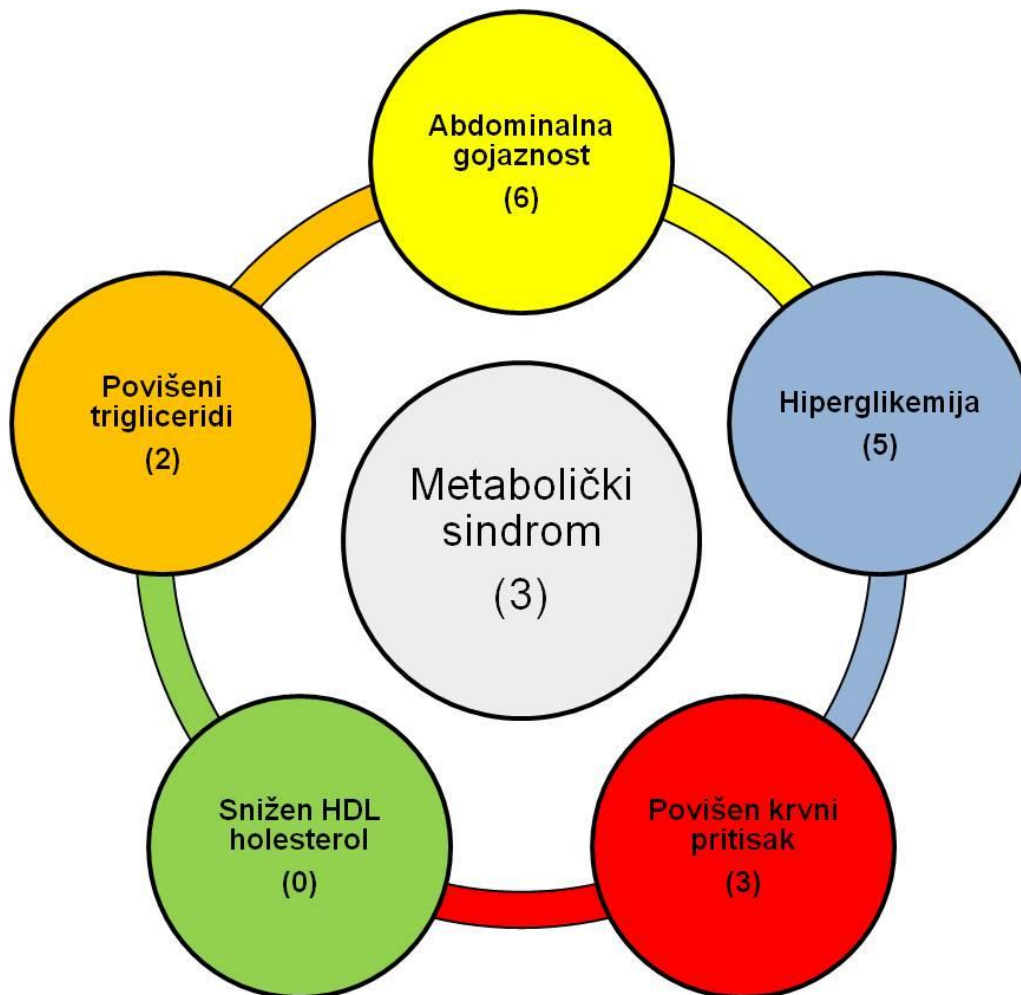
4.7 Magnetna rezonanca (MR) srca

MR srca je učinjena kod 10 (23,8%) pacijenata, od kojih je 6 bilo sa tipom 2 SMA, a 4 sa tipom 3 SMA. Među pacijentima kojima je urađena MR srca, medijana starosti je iznosila 10,7 godina (opseg 5,4–18,8 godina), odnos muškog i ženskog pola je bio 1:2,3, medijana telesne težine je iznosila 36,6 kg (opseg 16,1–69,6 kg), a telesne površine 1,2 m² (opseg 0,7–1,7 m²).

MR srca je pokazala normalnu srčanu strukturu i funkciju kod svih pacijenata. Masa miokarda leve komore je takođe bila u referentnim granicama kod svih pacijenata. Petoro pacijenata je imalo zapreminu leve komore na kraju dijastole (eng. end-diastolic volume [EDV]) indeksiranu u odnosu na telesnu površinu (ml/m²) ispod 3. percentila za pol i uzrast, a četvero je imalo zapreminu leve komore na kraju sistole (eng. end-systolic volume [ESV]) indeksiranu u odnosu na telesnu površinu (ml/m²) ispod 3. percentila za pol i uzrast. U kasnoj gadolinijumskoj fazi nisu uočena polja fibroze i nekroze u miokardu.

4.8 Metabolički sindrom

Od 22 pacijenta sa tipom 2 i 3 SMA uzrasta ≥ 6 godina, 6 (27,3%) je imalo abdominalnu gojaznost, a 3 pacijenta (13,6%) su ispunila kriterijume za dijagnozu metaboličkog sindroma navedene u Tabelama 2 i 3 (Slika 11).



Slika 11. Metabolički sindrom i njegove komponente kod 6 pacijenata sa SMA sa abdominalnom gojaznošću, uzrasta ≥ 6 godina. Brojevi u zagradi predstavljaju broj pacijenata sa odgovarajućim poremećajem.

5 Diskusija

SMA je retko neuromišićno oboljenje koje je povezano sa značajnim morbiditetom i mortalitetom. Od otkrića gena SMN pre više od 25 godina, došlo je do značajnih pomaka u razumevanju etiopatogeneze SMA. Naročito veliki napredak je postignut poslednjih godina, sa poboljšanjem nege pacijenata sa SMA i pojavom terapije koja menja prirodan tok ove bolesti. Međutim, može se očekivati da će produžen životni vek pacijenata sa težim oblicima SMA dovesti do veće zastupljenosti poremećaja koji su direktno ili indirektno posledica hroničnog deficita proteina SMN, uključujući kardiovaskularne i metaboličke poremećaje.

Miokardna slabost je ranije bila jedan od kriterijuma za isključivanje dijagnoze SMA [10]. Verovatno je to razlog zašto danas postoji tako mali broj studija koje opovrgavaju ili potvrđuju zahvaćenost srca kod SMA. Takođe nije poznato da li i u kojoj meri komorbiditeti kao što su plućna slabost, skolioza i deformiteti grudnog koša narušavaju kardiovaskularnu funkciju. Nešto češće se pominju metabolički poremećaji kod SMA, mada je broj radova i na tu temu jako mali. Pored toga, većina postojećih saznanja o kardiovaskularnim bolestima i poremećajima metabolizma šećera i masti kod SMA potiče od životinjskih modela bolesti, a kao što je poznato, istraživanja na životinjama se praktično nalaze na poslednjoj lestvici u hijerarhiji dokaza u medicini.

Prvo ćemo se osvrnuti na strukturne srčane anomalije, s obzirom na njihovu učestalost i značaj u pedijatrijskoj kardiologiji. Urođene srčane mane se retko opisuju kod pacijenata sa lakšim oblicima SMA [172–174]. Prema tome, udruženost urođenih srčanih mana i lakših oblika SMA je najverovatnije slučajna, naročito kada se uzme u obzir incidencija urođenih srčanih mana koja iznosi oko 4 do 50 na 1000 živorođene dece [175]. To potvrđuje i činjenica da niko od naših pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA nije imao urođenu srčanu manu. Sa druge strane, urođene srčane mane se mogu očekivati kod najtežih oblika SMA [79,80,176,177].

Prolaps mitralne valvule je jedan od najčešćih poremećaja funkcije srčanih zalistaka u opštoj populaciji. Prolaps mitralne valvule se tipično sreće kod mršavijih osoba sa deformitetima grudnog koša i skoliozom [178]. Prema tome, prisustvo prolapsa mitralne valvule kod teško pothranjene pacijentkinje sa tipom 2 SMA je najverovatnije posledica slučajnosti. Međutim, važno je prepoznati osobe sa prolapsom mitralne valvule jer mogu da zahtevaju redovno kardiološko praćenje zbog mitralne regurgitacije i rizika od poremećaja srčanog ritma. Na prolaps mitralne valvule se obično može posumnjati na osnovu karakterističnog auskultatornog nalaza mezosistolnog klika i visokofrekventnog sistolnog šuma.

U literaturi se ponegde mogu naći različiti opisi poremećaja miokardne strukture i funkcije kod SMA: dilatativna kardiomiopatija, dijastolna disfunkcija, hipertrofija miokarda i fibroza miokarda [84–88,90,92]. Međutim, uglavnom se radi o prikazima slučajeva koji ne dokazuju uzročno-posledičnu vezu između navedenih kardioloških poremećaja i SMA, sa izuzetkom slučaja gde je pokazana povezanost između poremećaja disanja tokom spavanja i dilatativne kardiomiopatije [88]. Pored toga, pitanje je da li se u svim ovim slučajevima zaista radilo o SMA, s obzirom da mnogi od ovih opisa potiču iz perioda kada nije postojala mogućnost genetske potvrde bolesti. U prilog tome govore dve skorije retrospektivne studije o srčanim poremećajima kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA koje nisu pokazale postojanje kardiomiopatije i disfunkcije srčanih komora, sa izuzetkom dva bolesnika koja su imala proširenu levu komoru. Međutim, ova dva bolesnika su imala 63 i 65 godina i pridruženu arterijsku hipertenziju i/ili koronarnu bolest srca [172,179]. Ni u našoj studiji nismo otkrili prisustvo kardiomiopatije niti poremećene sistolne ili dijastolne funkcije srčanih komora. Pored toga, debljina

zidova leve komore je bila u granicama normale kod svih pacijenata, čak i onih sa povišenim arterijskim krvnim pritiskom.

Poznato je da hronična respiratorna slabost, teški deformiteti kičmenog stuba i poremećaji disanja u spavanju mogu pojedinačno ili zajedno da dovedu do hipoventilacije, plućne hipertenzije i srčanog popuštanja [88,89,180]. Kod naših pacijenata nisu zapaženi znaci plućne hipertenzije, ali postoji mogućnost da je razvoj plućne hipertenzije sprečen zahvaljujući redovnom pulmološkom i ortopedskom lečenju i praćenju.

Kod oštećenja skeletnih i srčanog mišića, povećava se aktivnost enzima CK u serumu. U našoj studiji, vrednosti CK su bile blago povišene kod pokretnih pacijenata sa tipom 3 SMA, što je u skladu sa podacima iz literature da se najviše vrednosti CK očekuju upravo kod ovog tipa pacijenata sa SMA [37]. Postoje tri različite izoforme CK (CK-MM, CK-BB i CK-MB), pri čemu se CK-MB pretežno nalazi u srcu, a u daleko manjoj meri u skeletnim mišićima. Zbog toga se CK-MB može koristiti kao pokazatelj oštećenja srčanog mišića. Međutim, CK-MB nije dovoljno senzitivna i specifična marker oštećenja miokarda, za razliku od srčanih troponina (troponin I i troponin T) [159].

Troponin T može da bude prisutan i u skeletnim mišićima, dok se troponin I nalazi samo u srcu. Međutim, smatra se da su savremeni eseji za detekciju troponina T u serumu visoko specifični za srčani troponin T, pa je mala verovatnoća ukrštene reaktivnosti sa skeletnim troponinima [159]. Pored toga, nivoi troponina T u serumu se određuju korišćenjem samo jednog eseja, dok se za detekciju troponina I koriste različiti eseji koji imaju različitu senzitivnost i specifičnost [159]. Prema tome, rezultati troponina T se mogu lako porediti između različitih laboratorija, dok to nije slučaj sa troponinom I, s obzirom da se granične vrednosti za nivo troponina I u serumu razlikuju od laboratorije do laboratorije. Nivoi troponina se najviše koriste u dijagnostici infarkta miokarda, ali su vrednosti troponina u serumu povišene i kod hronične srčane insuficijencije [181]. Niko od naših pacijenata nije imao povišene vrednosti troponina T, što je još jedan dokaz da kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA ne dolazi do oštećenja miokarda. Blago povišena aktivnost CK-MB u serumu nekih pacijenata može se objasniti oslobađanjem ovog izoenzima iz skeletnih mišića.

Pro-moždani natriuretski peptid (eng. pro-brain natriuretic peptide, proBNP) je pro-hormon koji se sintetiše u miokardu komora [160,181]. Enzimskim isecanjem ProBNP-a nastaje aktivan hormon (BNP) i neaktivan N-terminalni fragment (eng. N-terminal proBNP, NT-proBNP). BNP i NT-proBNP se zajedno oslobađaju u cirkulaciju u odgovoru na opterećenje komora volumenom i pritiskom, pa služe kao markeri disfunkcije komora i srčanog popuštanja [160,181]. U našoj studiji, niko od pacijenata nije imao povišene vrednosti NT-proBNP-a, što dodatno potvrđuje odsustvo srčane disfunkcije.

Sa druge strane, postoji dosta opisa poremećaja srčanog ritma kod pacijenata sa SMA, naročito kod onih sa tipom 3 SMA [67]. Međutim, u većini slučajeva se radi o prikazima slučajeva od kojih su mnogi objavljeni pre nego što je bilo dostupno genetsko testiranje na SMA.

U studiji Palladino-a i saradnika koja se bavila zahvaćenošću srca kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA, niko od pacijenata nije imao aritmije na EKG-u [179]. U najvećoj studiji do sada koja se bavila kardiološkim poremećajima kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA, Bianco i saradnici su retrospektivno analizirali zapise 24-časovnog holter monitoringa kod 157 pacijenata, ali nisu našli poremećaje srčanog ritma [172]. Autori su takođe naveli da su upoređivali prosečnu 24-časovnu srčanu frekvencu, dobijenu pomoću holter monitoringa, sa odgovarajućim uzrasno-specifičnim referentnim vrednostima [172]. Međutim, u referenci na koju se Bianco i saradnici pozivaju [182], uopšte se ne navode vrednosti prosečne 24-časovne srčane frekvence, već samo vrednosti maksimalne i minimalne 24-časovne srčane frekvence i to samo za decu uzrasta 7–11 godina. Prema tome, diskutabilno je da li je i kako ispitivano da li pacijenti sa SMA imaju povećanu ili sniženu prosečnu 24-časovnu srčanu frekvencu.

U pedijatrijskoj populaciji se često sreću AV blok prvog stepena (produžen PR interval), supraventrikularne ekstrasistole (SVES) i retke (izolovane) monomorfne ventrikularne ekstrasistole (VES) i obično se ne smatraju patološkim nalazom [183,184]. Ubrzani idioventrikularni ritam (accelerated idioventricular rhythm, AIVR) i kratkotrajna ventrikularna tahikardija (eng. non-sustained ventricular tachycardia, NSVT) se ređe viđaju, ali se smatraju benignim poremećajima ritma ukoliko nastaju u strukturno zdravom srcu [185,186]. Takođe treba pomenuti da se rizik od aritmija povećava sa godinama, čak i kod normalnih osoba. Pored toga, veća je verovatnoća nalaženja poremećaja srčanog ritma na holteru nego na EKG-u, s obzirom na duže trajanje zapisa električne aktivnosti srca.

U našoj studiji, niko od pacijenata nije imao klinički značajne aritmije, što ukazuje na to da je mala korist od EKG i 24-časovnog holter monitoringa kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA koji nemaju kardijalnih tegoba. Čak ni nalaz AIVR i NSVT na holteru pacijentkinje sa tipom 3 SMA ne bi trebalo da bude razlog za zabrinutost, s obzirom na odsustvo kardijalnih tegoba i normalnu srčanu strukturu i funkciju, mada bi to trebalo potvrditi longitudinalnim praćenjem.

Artefakti na EKG-u („podrhtavanje izoelektrične linije“ ili „tremor izoelektrične linije“) su čest nalaz. Ovi artefakti predstavljaju šum (eng. noise) koji nastaje usled fascikulacije mišića i nekad mogu pomoći u dijagnozi SMA, mada nisu specifični za SMA [187]. Međutim, važno je da se ovi artefakti ne pomešaju sa poremećajima srčanog ritma kao što su atrijska fibrilacija ili atrijski flater, naročito kada su prisutni u svim odvodima. Pored toga, nalaze EKG-a treba oprezno tumačiti kod pacijenata sa SMA, s obzirom da skolioza i deformiteti grudnog koša mogu da utiču na EKG zapis.

Postoje radovi u literaturi koji ukazuju na to da bi neki poremećaji srčanog ritma kod pacijenata sa SMA (pretežno bradiaritmije) mogli nastati kao posledica autonomne disfunkcije [68,80,94,95]. Kod naših pacijenata nije registrovana patološka bradikardija. Takođe je postojao normalan trend smanjenja srčane frekvencije sa uzrastom, kao što je prikazano na Slici 3. Međutim, 11 od 42 pacijenta (26,2%) imalo je sinusnu tahikardiju na EKG-u i/ili povišenu prosečnu 24-časovnu srčanu frekvencu na holteru. Pored toga, kod više od polovine pacijenata su bili povećani minimalna srčana frekvencija i maksimalan RR interval. S obzirom da smo isključili najčešće uzroke ubranog srčanog rada (akutna infekcija, anemija, hipertireoidizam, lekovi koji utiču na kardiovaskularni sistem), ovi rezultati ukazuju na to da neki pacijenti sa tipom 2 i 3 SMA mogu da imaju povišen tonus simpatikusa (ili snižen tonus parasimpatikusa). Međutim, treba napomenuti da to ne znači nužno da u osnovi povišene srčane frekvence leži autonomna disfunkcija. Povećana simpatička aktivnost se sreće i kod respiratorne slabosti (slično kao kod srčane slabosti), poremećaja spavanja i nekih metaboličkih poremećaja [188–190]. U spavanju dolazi do povećane parasimpatičke i snižene simpatičke aktivnosti. Zbog toga srčana frekvencija obično dostiže najniže vrednosti tokom sna. Pacijenti sa SMA često imaju različite poremećaje spavanja, od kojih su najznačajniji poremećaji disanja u spavanju [188,189]. Na osnovu dnevnika koje su vodili roditelji naših pacijenata tokom nošenja holtera, takođe smo mogli da primetimo da se pacijenti sa SMA neretko bude tokom noći i da imaju lošiji kvalitet sna, što bi delimično moglo da objasni zašto je preko polovine naših pacijenata imalo povišenu minimalnu srčanu frekvencu, odnosno snižen maksimalan RR interval. Međutim, ne može se isključiti ni mogućnost da su neuroni autonomnog nervnog sistema u izvesnoj meri osetljivi na hronični deficit proteina SMN. Da bi se utvrdio tačan uzrok povećane srčane frekvence kod pacijenata sa SMA, potrebna su dalja ispitivanja (testovi za procenu autonomne funkcije, studije spavanja, itd.). U svakom slučaju, jako je korisno znati kolika je normalna srčana frekvencija za svakog pacijenta jer porast srčane frekvence iznad uobičajenih vrednosti može ukazivati na hipoksiju ili npr. akutnu infekciju.

Dobro je poznato da je povišen arterijski krvni pritisak kod odraslih faktor rizika za nastanak kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih oboljenja, pa rano otkrivanje i lečenje arterijske hipertenzije može da prevenira pojavu ovih komplikacija. Povišene vrednosti krvnog pritiska u detinjstvu se često

nastavljaju i u odraslom dobu [191], tako da je jako važno prepoznati i korigovati arterijsku hipertenziju u pedijatrijskom uzrastu. Dijagnoza arterijske hipertenzije se obično postavlja na osnovu vrednosti krvnog pritiska koje su izmerene na klasičan način, korišćenjem živinog ili aneroidnog sfigmomanometra, ili pomoću 24-časovnog AMKP-a. AMKP ima nekoliko prednosti u odnosu na klasično merenje krvnog pritiska: veća pouzdanost i ponovljivost merenja, izbegava se subjektivnost pri merenju krvnog pritiska, merenje se obavlja tokom pacijentovih uobičajenih aktivnosti i u dužem vremenskom periodu (uključujući i period spavanja) [192]. Zbog toga se smatra da je AMKP sigurniji za postavljanje dijagnoze arterijske hipertenzije, a može pomoći i u otkrivanju sekundarne hipertenzije [192,193].

Arterijska hipertenzija je često udružena sa gojaznošću, dislipidemijom i poremećenom tolerancijom glukoze. U skladu sa tim je i nalaz povišenog krvnog pritiska kod pacijenata sa SMA koji su imali prekomernu telesnu težinu ili su bili gojazni.

Oko 41% dece sa arterijskom hipertenzijom ima hipertrofiju miokarda leve komore. Međutim, niko od naših pacijenata sa arterijskom hipertenzijom nije imao hipertrofiju miokarda leve komore, najverovatnije zato što je hipertenzija bila lakšeg stepena.

Na osnovu naših rezultata, može se zaključiti da je za otkrivanje kardiovaskularnih poremećaja najčešće dovoljno uzeti detaljnu anamnezu i uraditi kompletan fizikalni pregled. Korist od dopunskih dijagnostičkih ispitivanja je mala, ukoliko anamneza i fizikalni pregled ne ukazuju na kardiovaskularni problem. Naravno, potrebna su dodatna istraživanja da bi se utvrdilo da li se ovi zaključci odnose i na odrasle pacijente sa SMA i na one koji primaju novu terapiju koja menja prirodan tok bolesti (naročito onasemnogene abeparvovec).

Kod pacijenata sa SMA često dolazi do nesklada između unosa i potrošnje kalorija, tako da imaju ili snižen ili povišen energetske unos [194,195]. To se naročito dešava ukoliko se kalorijski unos planira na osnovu indeksa telesne mase koji, kao što smo pomenuli, nije dobar pokazatelj uhranjenosti i telesnog sastava kod pacijenata sa SMA [107].

Gubitak mišićnog tkiva i neodgovarajući energetske unos dovode do izmenjenosti telesnog sastava koja se karakteriše sniženjem nemasnog tkiva i povećanjem masnog tkiva. Pacijenti sa SMA koji su nepokretni, ali imaju relativno dobru motornu funkciju, naročito su skloni gojenju [139]. Kao što je poznato, gojaznost (naročito abdominalna gojaznost) se vezuje za pojavu insulinske rezistencije i razvoj tipa 2 dijabetesa. Pojavi tipa 2 dijabetesa često prethodi tzv. predijabetes. Predijabetes je termin koji označava povišenu glikemiju našte, poremećenu toleranciju glukoze (na osnovu OGTT-a) ili HbA1c u intervalu od 5,7 do 6,4% [162].

Insulinska rezistencija se odnosi na smanjeni odgovor ćelija i tkiva (pre svega mišićnog, jetrinog i masnog tkiva) na insulin. Kao odgovor na insulinsku rezistenciju, β -ćelije pankreasa luče povećane količine insulina kako bi se održao normalan nivo šećera u krvi, ali vremenom dolazi do iscrpljivanja β -ćelija pankreasa, nedovoljnog lučenja insulina i pojave hiperglikemije. Smatra se da upravo insulinska rezistencija predstavlja uzročnu vezu između gojaznosti i tipa 2 dijabetesa.

Zlatni standard za određivanje insulinske rezistencije je tzv. hiperinsulinemijska euglikemijska „stega” (eng. hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique). Ovaj metod podrazumeva davanje kontinuirane infuzije insulina konstantnom brzinom, pri čemu se glikemija stalno održava na normalnom nivou infuzijom glukoze čija se brzina podešava. Kada se brzina infuzije glukoze izjednači sa brzinom kojom tkiva u telu preuzimaju glukozu, postignuto je ravnotežno stanje. Na taj način, brzina infuzije glukoze postaje merilo osetljivosti tkiva na insulin. S obzirom da je ovaj metod invazivan, u kliničkoj praksi se mnogo češće koriste indirektni pokazatelji insulinske rezistencije (tzv. surogat pokazatelji insulinske rezistencije) [196].

Jedan od najčešće korišćenih surogat pokazatelja insulinske rezistencije je HOMA-IR, s obzirom da je pokazana njegova validnost kod dece i adolescenata [164]. HOMA-IR se izračunava na osnovu glikemije i insulinemije našte (videti odeljak 3.3.2.4), a zasniva se na principu da je kod veće insulinske rezistencije, odnosno niže insulinske senzitivnosti, potrebno da β -ćelije pankreasa luče više insulina da bi se održala normalna vrednost glikemije. Prema tome, više vrednosti HOMA-IR znače veću insulinsku rezistenciju, naravno, pod uslovom da je funkcija β -ćelija pankreasa relativno očuvana. Masno tkivo i jetra su najosetljiviji na dejstvo insulina, a mišići u nešto manjoj meri. Tokom perioda gladovanja su nivoi insulina u krvi relativno niski, tako da insulin pretežno deluje na masno tkivo i jetru. Zbog toga je HOMA-IR pre svega pokazatelj insulinske rezistencije na nivou masnog tkiva i jetre. Iako HOMA-IR može da pomogne da se bar približno kvantifikuje insulinska rezistencija, još uvek nije jasno definisano koje vrednosti HOMA-IR se smatraju povišenom u pedijatrijskoj populaciji [196,197]. Problem definisanja insulinske rezistencije kod adolescenata dodatno komplikuje i fiziološka insulinska rezistencija u pubertetu koja nastaje zbog delovanja različitih hormona, pre svega hormona rasta [198]. Zbog toga nismo tumačili pojedinačne vrednosti HOMA-IR, već smo posmatrali kakva je raspodela vrednosti HOMA-IR kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA prema indeksu telesne mase i obimu struka.

Povezanost između z-skora za indeks telesne mase i HOMA-IR (Slika 5), ukazuje na to da se najveća insulinska rezistencija može očekivati kod pacijenata koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni. Slična je povezanost i između z-skora za obim struka i HOMA-IR (Slika 6), tako da se najveća insulinska rezistencija očekuju kod pacijenata sa SMA koji imaju abdominalnu gojaznost.

Rezultati naše studije ukazuju na to da su povećana količina masnog tkiva i insulinska rezistencija osnovni uzrok hiperglikemije kod pedijatrijskih pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA, što odgovara patogenezi nastanka tipa 2 dijabetesa. Prema tome, naši rezultati su u suprotnosti sa teorijom koju su izneli Bowerman i saradnici, a koja tvrdi da hiperglikemija kod SMA nastaje usled pojačanog lučenja glukagona od strane α -ćelija pankreasa ili povećane osetljivosti tkiva na dejstvo glukagona, pri čemu je osetljivost na insulin povećana, a ne snižena [64,65]. Ovde treba napomenuti da kod tipa 2 dijabetesa može doći do prekomerne sekrecije glukagona, ali da to nije primarni poremećaj. U prilog insulinske rezistencije govori i kožna promena po tipu acanthosis nigricans, kod pacijentkinje sa poremećenom tolerancijom glukoze i najvišom insulinemijom našte i insulinemijom na OGTT-u.

Studija sprovedena na uzroku od šestoro gojazne dece sa tipom 2 SMA, pokazala je poremećenu toleranciju glukoze kod njih troje [99]. U našoj studiji, kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA koji su potencijalno imali povećanu količinu masnog tkiva (ITM >25. percentila za pol i uzrast), prevalencija povišene glikemije našte i/ili poremećene tolerancije glukoze iznosila je 50%. U poređenju sa tim, procenjuje se da je prevalencija poremećene regulacije glukoze kod dece i adolescenata sa prekomernom telesnom težinom i gojaznošću (ITM >90. percentila) u Srbiji 15,9% [199].

Velika većina naših pacijenata sa poremećajem metabolizma glukoze je imala ITM \geq 85. percentila, što ih svrstava među osobe sa prekomernom telesnom težinom ili gojaznošću, čak i po standardima za normalnu populaciju. Pored toga, skoro svi ovi pacijenti su bili nepokretni, što ukazuje na to da smanjena fizička aktivnost zbog invaliditeta predstavlja dodatni rizik za pojavu metaboličkih poremećaja.

Fiziološka insulinska rezistencija u pubertetu takođe može biti okidač za nastanak poremećaja metabolizma glukoze [200]. Naši rezultati pokazuju da je većina pacijenata koji su zadovoljili laboratorijske kriterijume za predijabetes bila u pubertetu.

Slično našim nalazima, u studiji Davis i saradnika samo je jedan od tri bolesnika sa SMA i poremećenom tolerancijom glukoze imao povišen HbA1c [99]. Zbog toga se čini da nivo HbA1c nije

osetljiv pokazatelj ranih poremećaja u metabolizmu glukoze kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA.

U faktore rizika za pojavu tipa 2 dijabetesa spadaju i pozitivna porodična anamneza za tip 2 dijabetesa, prevremeno rođenje i mala ili velika telesna težina na rođenju [201–203]. Međutim, nijedan od naših pacijenata sa predijabetesom nije imao ove faktore rizika.

Kada je u pitanju dislipidemija, njena prevalencija u opštoj pedijatrijskoj populaciji varira u zavisnosti od definicije dislipidemije i ispitivane populacije. Procenjuje se da prevalencija dislipidemije (definisana na osnovu lipidnog statusa) kod dece i adolescenata uzrasta 10-18 godina iznosi 22,9% [204]. Analiza podataka dobijenih iz američke Nacionalne studije ispitivanja zdravlja i ishrane (eng. National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES), za period 1999-2006, pokazala je da se prevalencija dislipidemije među mladima uzrasta 12-19 godina povećava sa povećanjem indeksa telesne mase [205].

Deguisse i saradnici su ispitivali lipidni status 52 dece sa tipom 2 SMA (medijana uzrasta 3,8 godina) i 6 sa tipom 3 SMA (medijana uzrasta 6,4 godine) nakon medijane od 5 sati posta [63]. Autori su konstatovali da je 21 od 58 pacijenata (36,2%) imao izmenjen najmanje jedan lipidni parametar, ali nisu naveli nikakav opis telesnog sastava svojih pacijenata. U našoj studiji je ukupno 11 pacijenata (29,7%) imalo izmenjen bar jedan lipidni parametar, ali je većina njih imala ITM \geq 85. percentila. Pored toga, dva pacijenta sa hiperholesterolemijom su imala pozitivnu porodičnu anamnezu za hiperholesterolemiju.

Deguisse i saradnici su takođe naveli da postoji povezanost između dislipidemije i hipoglikemije kod mišjih modela SMA (*SMN^{2B/-}*) i pacijenata sa SMA [63]. Autori su zapazili da podgrupa pacijenata sa SMA i dislipidemijom ima HbA1c ispod 5%, što je bio indirektan pokazatelj sniženih nivoa glukoze u krvi. Međutim, kod osoba koje nemaju dijabetes, obično se smatra da je HbA1c manji od 4%, a ne manji od 5%, patološki snižen. Prema tome, ne postoji jasan dokaz o povezanosti dislipidemije i hipoglikemije kod pacijenata sa SMA. Naprotiv, naša studija pokazuje moguću udruženost hiperglikemije i dislipidemije kod pacijenata sa SMA.

Masna jetra koja je viđena na ultrazvuku kod naših pacijenata, najviše odgovara ne-alkoholnoj masnoj bolesti jetre (eng. non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD). NAFLD predstavlja spektar hroničnih bolesti jetre od običnog nakupljanja masti u jetri (steatoza jetre), preko nakupljanja masti u jetri praćenog inflamacijom i oštećenjem jetre (steatohepatitis), pa sve do ciroze jetre [113,167]. Iako etiopatogeneza NAFLD nije u potpunosti razjašnjena, smatra se da u njenoj osnovi leži insulinska rezistencija [113,167,206]. Insulinska rezistencija dovodi do povećane lipolize u masnom tkivu, povećanog preuzimanja slobodnih masnih kiselina od strane jetre i povećane sinteze triglicerida u jetri.

Nedavni sistematski pregled literature i metaanaliza otkrili su da se srednja objedinjena prevalencija pedijatrijske NAFLD povećava sa 7,6% kod dece i adolescenata u opštoj populaciji na 34,2% kod onih koji posećuju klinike za dečiju gojaznost [207]. Iako je NAFLD dosta česta bolest, dijagnoza NAFLD se postavlja nakon isključivanja drugih mogućih uzroka steatoze jetre [113,167].

NAFLD retko daje tegobe, naročito u pedijatrijskom uzrastu. U laboratorijskim analizama, često su povišene aminotransferaze (ALT i AST) i γ -GT. Određivanje ALT-a se preporučuje kao skrining za NAFLD, dok je biopsija jetre zlatni standard za postavljanje dijagnoze i procenu težine NAFLD [167]. Senzitivnost i specifičnost ALT-a za otkrivanje NAFLD zavisi od toga kako se definiše povišen ALT. Prema postojećim preporukama za skrining za NAFLD, smatra se da je ALT značajno povišen ukoliko je dva puta veći od gornje granice normalnih vrednosti za zdravu populaciju dece i adolescenata koji nisu gojazni (gornja granica normalnih vrednosti za osobe muškog pola je 25,8 U/l, a za osobe ženskog pola 22,1 U/l) [208]. Pritom, treba napomenuti da su ove gornje granice normalnih

vrednosti niže od gornjih referentnih vrednosti ALT-a koje prilaže većina laboratorija. Međutim, pokazano je da čak ni normalne vrednosti ALT-a ne isključuju dijagnozu NAFLD kod dece i adolescenata [209].

U našem istraživanju je samo jedan od četiri pacijenta sa ultrazvučnim nalazom steatoze jetre imao značajno povišen ALT. Prema tome, prevalencija steatoze jetre među pacijentima sa SMA se može potceniti ukoliko se samo određuje ALT. Steatoza jetre se može otkriti pomoću ultrazvuka, mada i ultrazvučna metoda ima nisku senzitivnost i specifičnost. Abdominalna gojaznost takođe može da oteža prikazivanje trbušnih organa jer smanjuje prodornost ultrazvučnih talasa.

Svi naši pacijenti sa masnom jetrom na ultrazvuku su imali ITM ≥ 85 . percentila, predijabetes i dislipidemiju. Pored toga, nisu otkriveni drugi mogući uzroci steatoze jetre. Međutim, neki radovi govore da pacijenti sa SMA mogu razviti poremećaje oksidacije masnih kiselina [114,115] i biogeneze mitohondrija [61,210], što može dovesti do smanjene razgradnje masnih kiselina i prekomernog nakupljanja lipida u jetri. Ovu teoriju bi mogla da potkrepi i činjenica da je jedna naša pacijentkinja imala masnu jetru već u uzrastu od tri godine.

Masno tkivo stvara brojne citokine (adipocitokini) koji učestvuju u regulaciji energetskog metabolizma (npr. leptin, adiponektin, rezistin, itd.). Međutim, adipocitokini mogu da utiču i na zapaljenski odgovor. Tako, na primer, povećano oslobađanje nekih adipocitokina (npr. faktora nekroze tumora-alfa [eng. tumor necrosis factor alpha, TNF- α] ili interleukina-6 [IL-6]) podstiče zapaljenje koje doprinosi nastanku tipa 2 dijabetesa i ateroskleroze [211–213]. CRP je reaktant akutne faze koji se primarno stvara u jetri, pod uticajem proinflamatornih citokina (pre svega TNF- α i IL-6) koje oslobađaju makrofagi i adipociti. Prema tome, blago povišene vrednosti CRP-a, kod naših pacijenata sa SMA koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni, najverovatnije odražavaju povećano stvaranje ovih proinflamatornih citokina. Zanimljivo je da je pokazano da mišji modeli teških oblika SMA rano razvijaju sistemsku inflamaciju koja doprinosi daljoj progresiji bolesti [214].

Naši rezultati pokazuju da su više vrednosti leptina povezane sa većim ITM i obrnuto, što je u skladu sa onim što se viđa u opštoj pedijatrijskoj populaciji. Međutim, za razliku od nalaza Kölbela i saradnika, nismo pokazali da postoji povezanost između motorne funkcionalnosti (procenjene pomoću HFMSE skora) i nivoa leptina kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA [106]. Ovo se dobrim delom može objasniti time što su Köbel i saradnici neadekvatno primenili formulu za izračunavanje z-skora za leptin. Originalna formula za izračunavanje z-skora za leptin je osmišljena na osnovu rezultata dobijenih u populaciji zdrave dece i adolescenata uzrasta 5,8–19,9 godina (prosečna starost 13,28 godina), pri čemu je leptin određivan pomoću radioimunoeseja. Sa druge strane, u studiji Kölbela i saradnika, pacijenti sa SMA su bili uzrasta 6 meseci–21 godine (prosečna starost 8,63 godina), imali su dosta varijabilne vrednosti ITM za pol i uzrast (z-skor za ITM je varirao od -6,77 do +2,7), a leptin je određivan ELISA metodom.

Prevalencija metaboličkog sindroma je visoka među gojaznom decom i adolescentima i raste sa povećanjem gojaznosti [215]. Pored gojaznosti, na prevalenciju metaboličkog sindroma utiče i pubertetski razvoj, s obzirom da se u pubertetu javljaju endokrine i metaboličke promene koje mogu da utiču na komponente metaboličkog sindroma. Jedna prospektivna kohortna studija u koju je bilo uključeno 1098 adolescenata koji su pohađali državnu školu blizu grada Sinsinatija u Sjedinjenim Američkim Državama, pokazala je da se u periodu adolescencije ne može pouzdano postaviti dijagnoza metaboličkog sindroma [216]. Bez obzira na to što je mali broj pacijenata u našoj studiji ispunjavao kriterijume za dijagnozu metaboličkog sindroma, primetno je grupisanje faktora rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti (dislipidemija, povišen krvni pritisak, predijabetes) kod nepokretnih pacijenata sa SMA koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni.

Insulinska rezistencija, povišena glikemija našte, poremećena tolerancija glukoze, dislipidemija, NAFLD i hronična inflamacija povezani su sa razvojem tipa 2 dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti. S obzirom na povećano preživljavanje pacijenata sa SMA u eri savremene terapije, može se očekivati češće ispoljavanje navedenih poremećaja.

Tokom perioda gladovanja, nivoi glukoze u krvi se održavaju zahvaljujući procesu glukoneogeneze koji se pretežno odvija u jetri. Mišićno tkivo takođe igra važnu ulogu jer obezbeđuje supstrate za proces glukoneogeneze (npr. laktate i alanin). Jedna studija je ispitivala da li će pacijenti sa neuromišićnim bolestima, čija je mišićna masa manja od 10% od ukupne telesne mase, razviti hipoglikemiju tokom 23-časovnog posta [101]. Svi pacijenti sa SMA koji su bili uključeni u ovu studiju (četvoro pacijenata sa tipom 2 SMA) razvili su hipoglikemiju tokom perioda posta [101]. Sa druge strane, poznato je da mala deca, koja su inače zdrava, mogu razviti ketotsku hipoglikemiju tokom perioda gladovanja [217]. U našoj studiji je dvogodišnji pacijent sa SMA i malom telesnom težinom, posle 12-časovnog posta, razvio hipoglikemiju koja je imala sve karakteristike ketotske hipoglikemije. Iako je teško reći da li je smanjena mišićna masa presudna za nastanak hipoglikemije, trebalo bi izbeći produženo gladovanje kod pacijenata sa SMA sa malom telesnom težinom, kako bi se smanjio rizik od razvoja hipoglikemije.

Većina poremećaja metabolizma šećera i masti kod naših pacijenata sa SMA se može jednostavno objasniti njihovim izmenjenim telesnim sastavom usled gubitka mišićnog tkiva, neskladom između energetske unosa i potrošnje i sniženom fizičkom aktivnošću. Pored toga, neke dislipidemije mogu biti nasledne. Uticaj ishrane na telesni sastav i na metabolizam šećera i masti kod pacijenata sa SMA bi trebalo proceniti longitudinalnim istraživanjima. Hronični nedostatak proteina SMN u jetri, pankreasu i skeletnim mišićima bi takođe mogao doprineti nastanku ovih poremećaja, s obzirom na pojavu steatoze jetre u mladom uzrastu kod jedne naše pacijentkinje sa SMA.

Naši rezultati navode na zaključak da bi pravilna ishrana i održavanje odgovarajuće telesne težine i telesnog sastava mogli da doprinesu normalnom odvijanju metabolizma šećera i masti kod pacijenata sa SMA. Fizička aktivnost takođe omogućava redukciju telesne težine i povećanje insulinske senzitivnosti. Međutim, s obzirom da pacijenti sa SMA imaju mišićnu slabost i da se često zamaraju pri naporu, nije uvek izvodljivo povećati nivo fizičke aktivnosti.

Prema tome, kada se uzmu u obzir svi faktori koji utiču na telesni sastav kod SMA, na ishranu se možda može najviše uticati, a naročito je važna tačna procena energetske unosa i energetske potrošnje. Pritom bi trebalo imati u vidu da preporuke za ishranu koje važe za opštu populaciju nisu uvek direktno primenljive kod pacijenata sa SMA, zbog njihovog izmenjenog telesnog sastava i specifičnih energetske i nutritivne potrebe.

Regulisanje telesne težine normalizuje insulinsku senzitivnost, čime se smanjuje rizik za razvoj tipa 2 dijabetesa, NAFLD i kardiovaskularnih bolesti. Bolja kontrola telesne težine i telesnog sastava bi takođe mogla da smanji pojavu dislipidemije i povišenog arterijskog krvnog pritiska kod pacijenata sa SMA. Pored toga, pokazano je da smanjenje telesne težine dovodi do poboljšanja patohistološkog nalaza kod NAFLD [218].

Oralni antidijabetici iz grupe bigvandina (npr. metformin) i tiazolidindiona (glitazona) smanjuju insulinsku rezistenciju i pospešuju efekte insulina. Međutim, u literaturi ne postoje studije koje su se bavile efikasnošću i bezbednošću ovih lekova u lečenju insulinske rezistencije kod pacijenata sa SMA, tako da postoji širok prostor za nova istraživanja na ovom polju.

Na kraju, treba pomenuti da ova studija ima nekoliko ograničenja. Prvo, radi se o studiji preseka, iako bi bilo praktičnije da su pacijenti longitudinalno praćeni. Longitudinalno praćenje bi omogućilo da se utvrdi da li su opaženi poremećaji ritma kod nekih pacijenata sa SMA zaista benigni i

mogao bi se ispitati uticaj ishrane na promene u telesnom sastavu i na pojavu poremećaja metabolizma šećera i masti. Međutim, većina pacijenata koji su bili uključeni u ovu studiju sada prima neku od terapija koje menjaju tok bolesti, što bi moglo da oteža tumačenje rezultata prospektivnog praćenja. Drugo, da bi se ispitalo da li pacijenti sa SMA imaju veću sklonost ka razvoju poremećaja metabolizma šećera i masti u odnosu na decu i adolescente u opštoj populaciji, trebalo bi imati kontrolnu grupu za poređenje. Međutim, jako je teško naći odgovarajuću kontrolnu grupu za pacijente sa SMA, s obzirom da bi pacijente i kontrole trebalo upariti ne samo po polu i uzrastu, već i po telesnoj težini i, po mogućstvu, telesnom sastavu. Samo na taj način bi se moglo ispitati da li kod pacijenata sa SMA postoji veća sklonost ka pojavi poremećaja metabolizma šećera i masti, nevezano od izmenjenog telesnog sastava. Zbog nedostatka kontrolne grupe, naše rezultate smo poredili sa rezultatima velikih populacionih studija, gde god je to bilo moguće. Treće, s obzirom da se radi o retkoj bolesti, relativno mali broj pacijenata je bio obuhvaćen istraživanjem. Sa druge strane, naš uzorak je bio reprezentativan za celu populaciju dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA u Srbiji. Četvrto, skolioza, deformiteti grudnog koša i gojaznost otežavaju ultrazvučni prikaz srca, što može da utiče na tačnost dobijenih merenja. Tako kod jednog pacijenta nismo uspeli da dobijemo prekordijalne ultrazvučne preseke, mada je bila moguća vizuelizacija srca supkostalno. Nedostaci ehokardiografije se mogu prevazići primenom magnetne rezonance srca. Međutim, sama magnetna rezonanca ima određena ograničenja, uključujući potrebu za anestezijom kod male dece i dece koja ne mogu da sarađuju pri pregledu, kao i prisustvo kontraindikacija za magnetnu rezonancu, poput metalnih implantata nakon operacija kičme. Peto, RR intervali dobijeni holter monitoringom su usrednjavani tokom perioda od jednog minuta, dok su u referentnoj studiji [157] RR intervali usrednjavani na svakih pet srčanih otkucaja. S obzirom da je vremenski interval u kome je vršeno usrednjavanje bio veći u našoj studiji, dobijene ekstremne vrednosti mogu biti „manje ekstremne”, tj. minimalna srčana frekvencija može biti viša, a maksimalna niža nego u referentnoj studiji. Međutim, ovo je značajno samo kada postoje velike varijacije srčane frekvencije u intervalima od jednog minuta, što obično nije slučaj. Šesto, vrednosti arterijskog krvnog pritiska kod dece i adolescenata bolje korelišu sa telesnom visinom nego sa uzrastom. Zbog toga bi vrednosti krvnog pritiska pre svega trebalo tumačiti u odnosu na telesnu visinu. Međutim, pacijenti sa SMA često ispoljavaju zastoj u rastu, što otežava definisanje normalnih vrednosti krvnog pritiska u toj populaciji. Na primer, nije bilo moguće tumačiti nalaze AMKP na osnovu odgovarajućih referentnih vrednosti krvnog pritiska za telesnu visinu, jer ne postoje referentne vrednosti za decu nižu od 125 cm, pa smo primenjivali odgovarajuće referentne vrednosti krvnog pritiska za uzrast. Prema tome, postoji mogućnost da smo koristili više referentne vrednosti krvnog pritiska i time potcenili učestalost hipertenzije kod pacijenata sa SMA. Sedmo, za procenu telesnog sastava smo koristili antropometrijske pokazatelje (ITM, OS), umesto da smo telesni sastav određivali metodom dvoenergetske rendgenske denzitometrije celog tela (DXA). Međutim, naš pristup je verovatno učinio da više pacijenata budu potencijalni kandidati za OGTT, ali je malo verovatno da je to značajno uticalo na rezultate i zaključke naše studije. Osmo, glikemija je određivana u serumu, umesto u plazmi, iako glikemija u plazmi može biti viša nego glikemija u serumu. Međutim, svi uzorci krvi su odmah obrađivani i analizirani kako bi se eliminisala potencijalna razlika između nivoa glukoze u serumu i plazmi. Deveto, OGTT nije mogao biti urađen kod svih pacijenata kod kojih je to planirano, tako da postoji mogućnost da je otkriveno manje pacijenata sa predijabetesom. Deseto, kod pacijenata sa SMA se može javiti usporeno pražnjenje želuca, tako da ne možemo sa sigurnošću isključiti uticaj usporenog pražnjenja želuca na rezultate OGTT-a. Na kraju, za dijagnozu steatoze jetre smo koristili ultrazvučni metod, umesto biopsije jetre koja je zlatni standard ili magnetne rezonance. Međutim, iako ultrasonografija ima nižu senzitivnost i specifičnost za otkrivanje steatoze jetre, ona ima prednost kao neinvazivna metoda koja je pritom i lako dostupna.

6 Zaključci

Na osnovu rezultata ove studije, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Medijana starosti dece i adolescenata (uzrasta do 19 godina) sa genetski potvrđenim tipom 2 i 3 SMA iznosi 7,2 godine, dok je odnos muškog i ženskog pola 1:1,2.
- Medijana z-skora za telesnu težinu iznosi -0,6 za pacijente sa tipom 2 SMA, a 0,1 i 1,1 redom za pokretne i nepokretne bolesnike sa tipom 3 SMA.
- Među pacijentima sa SMA uzrasta ≥ 2 godine, 59,5% ima ITM >25 . percentila, a 37,8% ima ITM ≥ 85 . percentila za pol i uzrast. Pored toga, 37,8% pacijenata je u pubertetu. Abdominalnu gojaznost (procenjenu na osnovu obima struka) ima 29,7% pacijenata.
- Respiratornu potporu zahteva 29,6% pacijenata sa tipom 2 SMA.
- Medijana HFMSE skora motorne funkcionalnosti iznosi 12, 28,5 i 49 redom za pacijente sa tipom 2 SMA, nepokretne pacijente sa tipom 3 SMA i pokretne pacijente sa tipom 3 SMA uzrasta ≥ 2 godine.
- Prevalencija strukturnih anomalija srca kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA iznosi 2,4%.
- Pacijenti sa SMA imaju normalnu sistolnu i dijastolnu funkciju komora, kao i masu miokarda, ali mogu imati sniženu zapreminu leve komore. Nije pokazano prisustvo nekroze niti fibroze miokarda.
- Pacijenti sa SMA nemaju patološku bradikardiju i primetan je normalan trend smanjenja srčane frekvence sa uzrastom. Međutim, 26,2% pacijenata ima sinusnu tahikardiju na EKG-u i/ili povišenu prosečnu 24-časovnu srčanu frekvencu. Pored toga, 54,8% pacijenata ima povišenu minimalnu srčanu frekvencu i snižen maksimalan RR interval na holter monitoringu.
- Ubrzan srčani rad kod pacijenata sa SMA može se povezati sa respiratornom insuficijencijom, poremećajima spavanja i prekomernom telesnom težinom. Potrebna su dalja ispitivanja da bi se utvrdilo da li autonomna disfunkcija (povišen tonus simpatikusa ili snižen tonus parasimpatikusa) doprinosi nastanku tahikardije.
- Prevalencija benignih ventrikularnih poremećaja srčanog ritma kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA iznosi 4,8%. Nisu zabeleženi maligni poremećaji srčanog ritma.
- Prevalencija povišenog arterijskog krvnog pritiska (procenjena na osnovu rezultata merenja krvnog pritiska sfigmomanometrom i AMPK-a) kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA iznosi 14,3%. Skoro svi pacijenti sa arterijskom hipertenzijom imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni.
- Pacijenti sa SMA koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni, mogu razviti insulinsku rezistenciju, povišenu glikemiju našte, poremećenu toleranciju glukoze, dislipidemiju i masnu jetru, dok mala deca sa SMA, koja imaju nisku telesnu težinu, mogu da razviju hipoglikemiju.
- Kod pacijenata koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni, u prilog postojanja insulinske rezistencije, pored povišenih vrednosti HOMA-IR, govore kožna promena po

tipu acanthosis nigricans i ultrazvučni nalaz steatoze jetre. Blago povišene vrednosti CRP-a ukazuju na proinflamatorno stanje.

- Prevalencija predijabetesa kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA uzrasta ≥ 2 godine iznosi 29,7%. Međutim, niko od pacijenata nije imao jasno ispoljen tip 2 dijabetesa.
- Prevalencija dislipidemije kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA uzrasta ≥ 2 godine iznosi 29,7%, a steatoze jetre (procenjena na osnovu ultrazvučnog nalaza) 10,8%.
- Kod 43,2% pacijenata je prisutan najmanje jedan nalaz koji ukazuje na poremećaj metabolizma šećera i masti (predijabetes, dislipidemija ili steatoza jetre na ultrazvuku). Skoro svi ovi pacijenti su nepokretni, a njih 75% ima ITM ≥ 85 . percentila za pol i uzrast.
- Prisutna je statistički značajna povezanost između z-skora za ITM i nivoa leptina (nivoi leptina eksponencijalno rastu sa povećanjem količine masnog tkiva). Sa druge strane, nije pokazana povezanost između nivoa leptina i HFMSE skora motorne funkcionalnosti.
- Polovina pacijenata sa abdominalnom gojaznošću, uzrasta ≥ 6 godina, ispunjava kriterijume za dijagnozu metaboličkog sindroma.
- Nepokretni pacijenti sa SMA, koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni, posebno su skloni razvoju poremećaja metabolizma šećera i masti i arterijske hipertenzije. Zbog toga je neophodno obezbediti optimalnu ishranu i redovno praćenje telesnog sastava, kako bi se sprečio razvoj tipa 2 dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti kod ove osetljive grupe pacijenata sa SMA.

7 Literatura

1. Kolb SJ, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: a timely review. *Arch Neurol*. 2011;68(8):979-84.
2. Arnold WD, Kassar D, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle Nerve*. 2015;51(2):157-67.
3. Peeters K, Chamova T, Jordanova A. Clinical and genetic diversity of SMN1-negative proximal spinal muscular atrophies. *Brain*. 2014;137(11):2879-96.
4. D'Amico A, Mercuri E, Tiziano FD, Bertini E. Spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis*. 2011;6:71.
5. Wirth B, Schmidt T, Hahnen E, Rudnik-Schöneborn S, Krawczak M, Müller-Myhsok B, et al. De novo rearrangements found in 2% of index patients with spinal muscular atrophy: mutational mechanisms, parental origin, mutation rate, and implications for genetic counseling. *Am J Hum Genet*. 1997;61(5):1102-11.
6. Verhaart IEC, Robertson A, Wilson IJ, Aartsma-Rus A, Cameron S, Jones CC, et al. Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. *Orphanet J Rare Dis*. 2017;12(1):124.
7. Eggermann K, Gläser D, Abicht A, Wirth B. Spinal muscular atrophy (5qSMA): best practice of diagnostics, newborn screening and therapy. *Medizinische Genetik*. 2020;32(3): 263-72.
8. Pearn J. Classification of spinal muscular atrophies. *Lancet*. 1980;1(8174):919-22.
9. Verhaart IEC, Robertson A, Leary R, McMacken G, König K, Kirschner J, et al. A multi-source approach to determine SMA incidence and research ready population. *J Neurol*. 2017;264(7):1465-73.
10. Munsat TL, Davies KE. International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany). *Neuromuscul Disord*. 1992;2(5-6):423-8.
11. von Gontard A, Zerres K, Backes M, Laufersweiler-Plass C, Wendland C, Melchers P, et al. Intelligence and cognitive function in children and adolescents with spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord*. 2002;12(2):130-6.
12. Mercuri E, Bertini E, Iannaccone ST. Childhood spinal muscular atrophy: controversies and challenges. *Lancet Neurol*. 2012;11(5):443-52.
13. Dubowitz V. Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype. *Eur J Paediatr Neurol*. 1999;3(2):49-51.
14. Emery AE. The nosology of the spinal muscular atrophies. *J Med Genet*. 1971;8(4):481-95.
15. Butchbach ME. Copy Number Variations in the Survival Motor Neuron Genes: Implications for Spinal Muscular Atrophy and Other Neurodegenerative Diseases. *Front Mol Biosci*. 2016;3:7.
16. Finkel R, Bertini E, Muntoni F, Mercuri E; ENMC SMA Workshop Study Group. 209th ENMC International Workshop: Outcome Measures and Clinical Trial Readiness in Spinal Muscular Atrophy 7-9 November 2014, Heemskerk, The Netherlands. *Neuromuscul Disord*. 2015;25(7):593-602.
17. Falsaperla R, Romeo G, Di Giorgio A, Pavone P, Parano E, Connolly AM. Long-term survival in a child with arthrogryposis multiplex congenita and spinal muscular atrophy. *J Child Neurol*. 2001;16(12):934-6.
18. Wijngaarde CA, Veldhoen ES, van Eijk RPA, Stam M, Otto LAM, Asselman FL, et al. Natural

- history of lung function in spinal muscular atrophy. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2020;15(1):88.
19. Wang CH, Finkel RS, Bertini ES, Schroth M, Simonds A, Wong B, et al. Participants of the International Conference on SMA Standard of Care. Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol*. 2007;22(8):1027-49.
 20. Mercuri E, Finkel RS, Muntoni F, Wirth B, Montes J, Main M, et al. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care. *Neuromuscul Disord*. 2018;28(2):103-115.
 21. Gombash SE, Cowley CJ, Fitzgerald JA, Iyer CC, Fried D, McGovern VL, et al. SMN deficiency disrupts gastrointestinal and enteric nervous system function in mice. *Hum Mol Genet*. 2015;24(19):5665.
 22. Wohlfart G, Fex J, Eliasson S. Hereditary proximal spinal muscular atrophy, a clinical entity simulating progressive muscular dystrophy. *Acta Psychiatr Neurol Scand*. 1955;30(1-2):395-406.
 23. Kugelberg E, Welander L. Heredofamilial juvenile muscular atrophy simulating muscular dystrophy. *Arch Neurol Psychiatry*. 1956;75(5):500-9.
 24. Montes J, Dunaway S, Garber CE, Chiriboga CA, De Vivo DC, Rao AK. Leg muscle function and fatigue during walking in spinal muscular atrophy type 3. *Muscle Nerve*. 2014;50(1):34-9.
 25. 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):255-66.
 26. Brkušaniin M, Kosać A, Jovanović V, Pešović J, Brajušković G, Dimitrijević N, et al. Joint effect of the SMN2 and SERF1A genes on childhood-onset types of spinal muscular atrophy in Serbian patients. *J Hum Genet*. 2015;60(11):723-8.
 27. Swoboda KJ. Of SMN in mice and men: a therapeutic opportunity. *J Clin Invest*. 2011;121(8):2978-81.
 28. Vijzelaar R, Snetselaar R, Clausen M, Mason AG, Rinsma M, Zegers M, et al. The frequency of SMN gene variants lacking exon 7 and 8 is highly population dependent. *PLoS One*. 2019;14(7):e0220211.
 29. Lam BJ, Hertel KJ. A general role for splicing enhancers in exon definition. *RNA*. 2002;8(10):1233-41.
 30. Tan CA, Westbrook MJ, Truty R, Kvitek DJ, Kennemer M, Winder TL, et al. Incorporating Spinal Muscular Atrophy Analysis by Next-Generation Sequencing into a Comprehensive Multigene Panel for Neuromuscular Disorders. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2020;24(10):616-24.
 31. 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):358-68.
 32. He J, Zhang QJ, Lin QF, Chen YF, Lin XZ, Lin MT, et al. Molecular analysis of SMN1, SMN2, NAIP, GTF2H2, and H4F5 genes in 157 Chinese patients with spinal muscular atrophy. *Gene*. 2013;518(2):325-9.
 33. Ahn EJ, Yum MS, Kim EH, Yoo HW, Lee BH, Kim GH, et al. Genotype-Phenotype Correlation of SMN1 and NAIP Deletions in Korean Patients with Spinal Muscular Atrophy. *J Clin Neurol*. 2017;13(1):27-31.

34. Brkušanin M, Jeftović-Velkova I, Jovanović VM, Perić S, Pešović J, Brajušković G, et al. SMN1 Copy number as a modifying factor of survival in Serbian patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Srp Arh Celok Lek.* 2018;146(11–12):646–52.
35. Oprea GE, Kröber S, McWhorter ML, Rossoll W, Müller S, Krawczak M, et al. Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science.* 2008;320(5875):524-7.
36. Riessland M, Kaczmarek A, Schneider S, Swoboda KJ, Löhr H, Bradler C, et al. 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.
37. 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):154-62.
38. Prasad AN, Prasad C. The floppy infant: contribution of genetic and metabolic disorders. *Brain Dev.* 2003;25(7):457-76.
39. Igarashi M. Floppy infant syndrome. *J Clin Neuromuscul Dis.* 2004;6(2):69-90.
40. Peredo DE, Hannibal MC. The floppy infant: evaluation of hypotonia. *Pediatr Rev.* 2009;30(9):e66-76.
41. Mercuri E, Pera MC, Brogna C. Neonatal hypotonia and neuromuscular conditions. *Handb Clin Neurol.* 2019;162:435-48.
42. Scheffer H, Cobben JM, Matthijs G, Wirth B. Best practice guidelines for molecular analysis in spinal muscular atrophy. *Eur J Hum Genet.* 2001;9(7):484-91.
43. Wirth B, Brichta L, Schrank B, Lochmüller H, Blick S, Baasner A, et al. Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased SMN2 copy number. *Hum Genet.* 2006;119(4):422-8.
44. Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, Clermont O, Burllet P, Viollet L, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell.* 1995;80(1):155-65.
45. Covert DD, Le TT, McAndrew PE, Strasswimmer J, Crawford TO, Mendell JR, et al. The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 1997;6(8):1205-14.
46. Schrank B, Götz R, Gunnensen JM, Ure JM, Toyka KV, Smith AG, et al. 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):9920-5.
47. Sleigh JN, Gillingwater TH, Talbot K. The contribution of mouse models to understanding the pathogenesis of spinal muscular atrophy. *Dis Model Mech.* 2011;4(4):457-67.
48. Groen EJM, Perenthaler E, Courtney NL, Jordan CY, Shorrock HK, van der Hoorn D, et al. Temporal and tissue-specific variability of SMN protein levels in mouse models of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2018;27(16):2851-62.
49. Gabanella F, Carissimi C, Usiello A, Pellizzoni L. The activity of the spinal muscular atrophy protein is regulated during development and cellular differentiation. *Hum Mol Genet.* 2005;14(23):3629-42.
50. 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.
51. Chaytow H, Huang YT, Gillingwater TH, Faller KME. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75(21):3877-94.

52. Hebert MD, Szymczyk PW, Shpargel KB, Matera AG. Coilin forms the bridge between Cajal bodies and SMN, the spinal muscular atrophy protein. *Genes Dev.* 2001;15(20):2720-29.
53. Clelland AK, Kinnear NP, Oram L, Burza J, Sleeman JE. The SMN protein is a key regulator of nuclear architecture in differentiating neuroblastoma cells. *Traffic.* 2009;10(11):1585-98.
54. Tisdale S, Lotti F, Saieva L, et al. SMN is essential for the biogenesis of U7 small nuclear ribonucleoprotein and 3'-end formation of histone mRNAs. *Cell Rep.* 2013;5(5):1187-95.
55. Bachand F, Boisvert FM, Côté J, Richard S, Autexier C. The product of the survival of motor neuron (SMN) gene is a human telomerase-associated protein. *Mol Biol Cell.* 2002;13(9):3192-202.
56. Parker GC, Li X, Anguelov RA, Toth G, Cristescu A, Acsadi G. Survival motor neuron protein regulates apoptosis in an in vitro model of spinal muscular atrophy. *Neurotox Res.* 2008;13(1):39-48.
57. Simon CM, Dai Y, Van Alstyne M, Koutsoumpa C, Pagiazitis JG, Chalif JI, et al. Converging Mechanisms of p53 Activation Drive Motor Neuron Degeneration in Spinal Muscular Atrophy. *Cell Rep.* 2017;21(13):3767-80.
58. Van Alstyne M, Simon CM, Sardi SP, Shihabuddin LS, Mentis GZ, Pellizzoni L. Dysregulation of Mdm2 and Mdm4 alternative splicing underlies motor neuron death in spinal muscular atrophy. *Genes Dev.* 2018 Aug 1;32(15-16):1045-59.
59. Dimitriadi M, Derdowski A, Kalloo G, Maginnis MS, O'hern P, Bliska B, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(30):E4377-86;
60. Chang HC, Hung WC, Chuang YJ, Jong YJ. Degradation of survival motor neuron (SMN) protein is mediated via the ubiquitin/proteasome pathway. *Neurochem Int.* 2004;45(7):1107-12.
61. Ripolone M, Ronchi D, Violano R, Vallejo D, Fagiolari G, Barca E, et al. Impaired Muscle Mitochondrial Biogenesis and Myogenesis in Spinal Muscular Atrophy. *JAMA Neurol.* 2015;72(6):666-75.
62. Baranello G, Vai S, Broggi F, Masson R, Arnoldi MT, Zanin R, et al. Evolution of bone mineral density, bone metabolism and fragility fractures in Spinal Muscular Atrophy (SMA) types 2 and 3. *Neuromuscul Disord.* 2019;29(7):525-32.
63. Deguise MO, Baranello G, Mastella C, Beauvais A, Michaud J, Leone A, et al. Abnormal fatty acid metabolism is a core component of spinal muscular atrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019;6(8):1519-32.
64. Bowerman M, Swoboda KJ, Michalski JP, Wang GS, Reeks C, Beauvais A, et al. Glucose metabolism and pancreatic defects in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 2012;72(2):256-68.
65. Bowerman M, Michalski JP, Beauvais A, Murray LM, DeRepentigny Y, Kothary R. Defects in pancreatic development and glucose metabolism in SMN-depleted mice independent of canonical spinal muscular atrophy neuromuscular pathology. *Hum Mol Genet.* 2014;23(13):3432-44.
66. Brener A, Lebenthal Y, Shtamler A, Levy S, Stein R, Fattal-Valevski A, et al. The endocrine manifestations of spinal muscular atrophy, a real-life observational study. *Neuromuscul Disord.* 2020;30(4):270-6.
67. 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.
68. Hachiya Y, Arai H, Hayashi M, Kumada S, Furushima W, Ohtsuka E, et al. Autonomic dysfunction in cases of spinal muscular atrophy type 1 with long survival. *Brain Dev.*

2005;27(8):574-8.

69. Allardyce H, Kuhn D, Hernandez-Gerez E, Hensel N, Huang YT, Faller K, et al. Renal pathology in a mouse model of severe spinal muscular atrophy is associated with downregulation of glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF). *Hum Mol Genet* 2020;29(14):2365–78.
70. Khairallah MT, Astroski J, Custer SK, Androphy EJ, Franklin CL, Lorson CL. SMN deficiency negatively impacts red pulp macrophages and spleen development in mouse models of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2017;26(5):932–41.
71. Deguise MO, De Repentigny Y, McFall E, Auclair N, Sad S, Kothary R. Immune dysregulation may contribute to disease pathogenesis in spinal muscular atrophy mice. *Hum Mol Genet* 2017;26(4):801–19.
72. Hamilton G, Gillingwater TH. Spinal muscular atrophy: going beyond the motor neuron. *Trends Mol Med* 2013;19(1):40–50.
73. 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.
74. Simone C, Ramirez A, Bucchia M, Rinchetti P, Rideout H, Papadimitriou D, et al. Is spinal muscular atrophy a disease of the motor neurons only: pathogenesis and therapeutic implications? *Cell Mol Life Sci* 2016;73(5):1003–20.
75. 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):779–92.
76. Yeo CJJ, Darras BT. Overturning the Paradigm of Spinal Muscular Atrophy as Just a Motor Neuron Disease. *Pediatr Neurol* 2020;109:12–9.
77. Finkel RS, Mercuri E, Meyer OH, Simonds AK, Schroth MK, Graham RJ, et al. 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.
78. 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):4059–71.
79. Rudnik-Schöneborn S, Heller R, Berg C, Betzler C, Grimm T, Eggermann T, et al. Congenital heart disease is a feature of severe infantile spinal muscular atrophy. *J Med Genet* 2008;45(10):635–8.
80. Grotto S, Cuisset J-M, Marret S, Drunat S, Faure P, Audebert-Bellanger S, et al. Type 0 Spinal Muscular Atrophy: Further Delineation of Prenatal and Postnatal Features in 16 Patients. *J Neuromuscul Dis* 2016;3(4):487–95.
81. Sheng L, Wan B, Feng P, Sun J, Rigo F, Frank Bennett C, et al. Downregulation of survivin contributes to cell-cycle arrest during postnatal cardiac development in a severe spinal muscular atrophy mouse model. *Hum Mol Genet* 2018;27(3):486–98.
82. Bevan AK, Hutchinson KR, Foust KD, Braun L, McGovern VL, Schmelzer L, et al. Early heart failure in the SMN Δ 7 model of spinal muscular atrophy and correction by postnatal scAAV9-SMN delivery. *Hum Mol Genet* 2010;19(20):3895–905.
83. Heier CR, Satta R, Lutz C, Didonato CJ. Arrhythmia and cardiac defects are a feature of spinal muscular atrophy model mice. *Hum Mol Genet* 2010;19(20):3906–18.
84. Tanaka H, Uemura N, Toyama Y, Kudo A, Ohkatsu Y. Cardiac involvement in the Kugelberg-Welander syndrome. *Am J Cardiol* 1976;38(4):528–32.

85. Ceroni M, Grandi A, Poloni M, Venco A. Association of cardiomyopathy with Kugelberg-Welander disease. *Ital J Neurol Sci* 1982;3:143–7.
86. Elkohen M, Vaksmann G, Elkohen MR, Francart C, Foucher C, Rey C. [Cardiac involvement in Kugelberg-Welander disease. A prospective study of 8 cases]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1996;89:611–7.
87. Kuru S, Sakai M, Konagaya M, Yoshida M, Hashizume Y, Saito K. An autopsy case of spinal muscular atrophy type III (Kugelberg-Welander disease). *Neuropathology* 2009;29(1):63–7.
88. Yasuma F, Kuru S, Konagaya M. Dilated Cardiomyopathy in Kugelberg-Welander Disease: Coexisting Sleep Disordered Breathing and Its Treatment with Continuous Positive Airway Pressure. *Intern Med* 2004;43(10):951–4.
89. Distefano G, Sciacca P, Parisi MG, Parano E, Smilari P, Marletta M, et al. [Heart involvement in progressive spinal muscular atrophy. A review of the literature and case histories in childhood]. *Pediatr Med Chir* 1994;16(2):125–8.
90. Finsterer J, Stöllberger C. Cardiac Involvement in Werdnig-Hoffmann's Spinal Muscular Atrophy. *Cardiology* 1999;92(3):178–82.
91. Gardner-Medwin D, Hudgson P, Walton JN. Benign spinal muscular atrophy arising in childhood and adolescence. *J Neurol Sci* 1967;5(1):121–58.
92. Tanaka H, Nishi S, Nuruki K, Tanaka N. Myocardial ultrastructural changes in Kugelberg-Welander syndrome. *Heart* 1977;39(12):1390–3.
93. Espeland T, Lunde IG, Amundsen BH, Gullestad L, Aakhus S. Myokardfibrose. *Tidsskrift for Den norske legeforening* 2018;138.
94. Bach JR. Medical considerations of long-term survival of Werdnig-Hoffmann disease. *Am J Phys Med Rehabil* 2007;86(5):349–55.
95. Falsaperla R, Vitaliti G, Collotta AD, Fiorillo C, Pulvirenti A, Alaimo S, et al. Electrocardiographic Evaluation in Patients With Spinal Muscular Atrophy: A Case-Control Study. *J Child Neurol* 2018;33(7):487–92.
96. 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):144–7.
97. Araujo A prufer de QC, Araujo M, Swoboda KJ. Vascular perfusion abnormalities in infants with spinal muscular atrophy. *J Pediatr* 2009;155(2):292–4.
98. Somers E, Lees RD, Hoban K, Sleight JN, Zhou H, Muntoni F, et al. Vascular Defects and Spinal Cord Hypoxia in Spinal Muscular Atrophy. *Ann Neurol* 2016;79(2):217–30.
99. Davis RH, Miller EA, Zhang RZ, Swoboda KJ. Responses to Fasting and Glucose Loading in a Cohort of Well Children with Spinal Muscular Atrophy Type II. *J Pediatr* 2015;167(6):1362–68.e1
100. Bruce AK, Jacobsen E, Dossing H, Kondrup J. Hypoglycaemia in spinal muscular atrophy. *Lancet (London, England)* 1995;346(8975):609–10.
101. Ørngreen MC, Zacho M, Hebert A, Laub M, Vissing J. Patients with severe muscle wasting are prone to develop hypoglycemia during fasting. *Neurology* 2003;61(7):997–1000.
102. Berti B, Onesimo R, Leone D, Palermo C, Giorgio V, Buonsenso D, et al. Hypoglycaemia in patients with type 1 SMA: An underdiagnosed problem? *Arch Dis Child* 2020;105(7):707.
103. Mulroy E, Gleeson S, Furlong MJ. Stress-Induced Ketoacidosis in Spinal Muscular Atrophy: An Under-Recognized Complication. *J Neuromuscul Dis.* 2016;3(3):419–423.

104. Lakkis B, El Chediak A, Hashash JG, Koubar SH. Severe ketoacidosis in a patient with spinal muscular atrophy. *CEN Case Rep.* 2018;7(2):292-295.
105. Stoimenis D, Spyridonidou C, Theofanidou S, et al. Euglycemic Ketoacidosis in Spinal Muscular Atrophy. *Case Rep Pediatr.* 2019;2019:2862916.
106. Kölbel H, Hauffa BP, Wudy SA, Bouikidis A, Marina A Della, Schara U. Hyperleptinemia in children with autosomal recessive spinal muscular atrophy type I-III. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173144.
107. Sproule DM, Montes J, Montgomery M, Battista V, Koenigsberger D, Shen W, et al. Increased fat mass and high incidence of overweight despite low body mass index in patients with spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord.* 2009;19(6):391–6.
108. Rosenbloom AL. The management of diabetic ketoacidosis in children. *Diabetes Ther.* 2010;1(2):103-120.
109. McGuire LC, Cruickshank AM, Munro PT. Alcoholic ketoacidosis. *Emerg Med J.* 2006;23(6):417-20.
110. Taylor R. Type 2 diabetes: etiology and reversibility. *Diabetes Care.* 2013;36(4):1047-55.
111. Lund A, Bagger JI, Christensen M, Knop FK, Vilsbøll T. Glucagon and type 2 diabetes: the return of the alpha cell. *Curr Diab Rep.* 2014;14(12):555.
112. Dahl DS, Peters HA. Lipid disturbances associated with spinal muscular atrophy. Clinical, electromyographic, histochemical, and lipid studies. *Arch Neurol.* 1975;32(3):195-203.
113. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018;67(1):328–57.
114. Tein I, Sloane AE, Donner EJ, Lehotay DC, Millington DS, Kelley RI. Fatty acid oxidation abnormalities in childhood-onset spinal muscular atrophy: Primary or secondary defect(s)? *Pediatr Neurol.* 1995;12(1):21–30.
115. Crawford TO, Sladky JT, Hurko O, Besner-Johnston A, Kelley RI. Abnormal fatty acid metabolism in childhood spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 1999;45(3):337–43.
116. Lonardo A, Ballestri S, Marchesini G, Angulo P, Loria P. Nonalcoholic fatty liver disease: a precursor of the metabolic syndrome. *Dig Liver Dis.* 2015;47(3):181-90.
117. Wang HH, Lee DK, Liu M, Portincasa P, Wang DQ. Novel Insights into the Pathogenesis and Management of the Metabolic Syndrome. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2020;23(3):189-230.
118. Magge SN, Goodman E, Armstrong SC, Daniels S, Corkins M, De Ferranti S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents: Shifting the focus to cardiometabolic risk factor clustering. *Pediatrics.* 2017;140(2):e20171603.
119. Zimmet P, Alberti GKMM, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes.* 2007;8(5):299-306.
120. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120(16):1640-5.
121. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation.

- European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med.* 1999;16(5):442-3.
122. Gong DW, Bi S, Pratley RE, Weintraub BD. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *J Biol Chem.* 1996;271(8):3971-4.
 123. Lausten-Thomsen U, Christiansen M, Louise Hedley P, Esmann Fonvig C, Stjernholm T, Pedersen O, et al. Reference values for serum leptin in healthy non-obese children and adolescents. *Scand J Clin Lab Invest.* 2016;76(7):561-67.
 124. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Müller J, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(9):2904-10.
 125. Messina S, Sframeli M. New Treatments in Spinal Muscular Atrophy: Positive Results and New Challenges. *J Clin Med.* 2020;9(7):2222.
 126. Finkel RS, Chiriboga CA, Vajsaar J, Day JW, Montes J, De Vivo DC, et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. *Lancet.* 2016;388(10063):3017-26.
 127. Bennett CF, Krainer AR, Cleveland DW. Antisense Oligonucleotide Therapies for Neurodegenerative Diseases. *Annu Rev Neurosci.* 2019;42:385-406.
 128. Dhillon S. Risdiplam: First Approval. *Drugs.* 2020;80(17):1853-1858.
 129. Calder AN, Androphy EJ, Hodgetts KJ. Small Molecules in Development for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy. *J Med Chem.* 2016;59(22):10067-83.
 130. Stevens D, Claborn MK, Gildon BL, Kessler TL, Walker C. Onasemnogene Apeparvovec-xioi: Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *Ann Pharmacother.* 2020;54(10):1001-9.
 131. Li C, Samulski RJ. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet.* 2020;21(4):255-72.
 132. Sumner CJ, Crawford TO. Two breakthrough gene-targeted treatments for spinal muscular atrophy: challenges remain. *J Clin Invest.* 2018;128(8):3219-27.
 133. Friese J, Geitmann S, Holzwarth D, Müller N, Sassen R, Baur U, et al. Safety Monitoring of Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy with Onasemnogene Apeparvovec –A Single Centre Experience. *J Neuromuscul Dis.* 2021;8(2):209-16.
 134. Schorling DC, Pechmann A, Kirschner J. Advances in Treatment of Spinal Muscular Atrophy - New Phenotypes, New Challenges, New Implications for Care. *J Neuromuscul Dis.* 2020;7(1):1-13.
 135. Long KK, O’Shea KM, Khairallah RJ, Howell K, Paushkin S, Chen KS, et al. Specific inhibition of myostatin activation is beneficial in mouse models of SMA therapy. *Hum Mol Genet.* 2019;28(7): 1076–89.
 136. Glanzman AM, Mazzone E, Main M, Pelliccioni M, Wood J, Swoboda KJ, et al. The Children’s Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP INTEND): Test development and reliability. *Neuromuscul Disord.* 2010;20(3):155–61.
 137. O’Hagen JM, Glanzman AM, McDermott MP, Ryan PA, Flickinger J, Quigley J, et al. An expanded version of the Hammersmith Functional Motor Scale for SMA II and III patients. *Neuromuscul Disord.* 2007;17(9-10):693-7.
 138. Gupta MC, Wijesekera S, Sossan A, Martin L, Vogel LC, Boakes JL, et al. Reliability of radiographic parameters in neuromuscular scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2007;32(6):691-5.
 139. Sproule DM, Montes J, Dunaway S, Montgomery M, Battista V, Koenigsberger D, et al. Adiposity is increased among high-functioning, non-ambulatory patients with spinal muscular

- atrophy. *Neuromuscul Disord*. 2010;20(7):448–52.
140. WHO Child Growth Standards. *Dev Med Child Neurol*. 2009;51(12):1002.
 141. Growth charts. Centers for Disease Control and Prevention Web site, <https://www.cdc.gov/growthcharts/index.htm>. Updated September 9, 2010. Accessed January 28, 2021.
 142. Dubois D, Dubois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med*. 1916;17:863–71.
 143. Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr*. 2004;145(4):439–44.
 144. Sharma AK, Metzger DL, Daymont C, Hadjiyannakis S, Rodd CJ. LMS tables for waist-circumference and waist-height ratio Z-scores in children aged 5-19 y in NHANES III: Association with cardio-metabolic risks. *Pediatr Res*. 2015;78(6):723–9.
 145. Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Cruickshank JK, Dominiczak A, Erdine S, Hirth A, et al. 2016 European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents. *J Hypertens*. 2016;34(10):1887-920.
 146. Flynn JT, Kaelber DC, Baker-Smith CM, Blowey D, Carroll AE, Daniels SR, et al. Clinical practice guideline for screening and management of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics*. 2017;140(3):e20171904.
 147. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*. 1969;44(235):291–303.
 148. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*. 1970;45(239):13–23.
 149. Glanzman AM, O’Hagen JM, McDermott MP, Martens WB, Flickinger J, Riley S, et al. Validation of the Expanded Hammersmith Functional Motor Scale in spinal muscular atrophy type II and III. *J Child Neurol*. 2011;26(12):1499-507.
 150. Lai WW, Geva T, Shirali GS, Frommelt PC, Humes RA, Brook MM, et al. Guidelines and standards for performance of a pediatric echocardiogram: a report from the Task Force of the Pediatric Council of the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006;19(12):1413-30.
 151. Lopez L, Colan SD, Frommelt PC, Ensing GJ, Kendall K, Younoszai AK, et al. Recommendations for quantification methods during the performance of a pediatric echocardiogram: a report from the Pediatric Measurements Writing Group of the American Society of Echocardiography Pediatric and Congenital Heart Disease Council. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010;23(5):465-95; quiz 576-7.
 152. Pettersen MD, Du W, Skeens ME, Humes RA. Regression equations for calculation of z scores of cardiac structures in a large cohort of healthy infants, children, and adolescents: an echocardiographic study. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008;21(8):922-34.
 153. Koestenberger M, Friedberg MK, Nestaas E, Michel-Behnke I, Hansmann G. Transthoracic echocardiography in the evaluation of pediatric pulmonary hypertension and ventricular dysfunction. *Pulm Circ*. 2016;6(1):15-29.
 154. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol*. 2009;51(6):1061-7.

155. Rijnbeek PR, Witsenburg M, Schrama E, Hess J, Kors JA. New normal limits for the paediatric electrocardiogram. *Eur Heart J*. 2001;22(8):702-11.
156. Rijnbeek PR, van Herpen G, Bots ML, Man S, Verweij N, Hofman A, et al. Normal values of the electrocardiogram for ages 16–90 years. *J Electrocardiol*. 2014;47(6):914-21.
157. Salameh A, Gebauer RA, Grollmuss O, Vít P, Reich O, Janousek J. Normal limits for heart rate as established using 24-hour ambulatory electrocardiography in children and adolescents. *Cardiol Young*. 2008;18(5):467-72.
158. Andropoulos DB. Appendix B: Pediatric Normal Laboratory Values. In: Gregory GA, Andropoulos DB, editors. *Gregory's Pediatric Anesthesia, Fifth Edition*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2011. p. 1300–14.
159. Sharma S, Jackson PG, Makan J. Cardiac troponins. *J Clin Pathol*. 2004;57(10):1025-26.
160. Nir A, Lindinger A, Rauh M, Bar-Oz B, Laer S, Schwachtgen L, et al. NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatr Cardiol*. 2009;30(1):3-8.
161. Thornton PS, Stanley CA, De Leon DD, Harris D, Haymond MW, Hussain K, et al. Recommendations from the Pediatric Endocrine Society for Evaluation and Management of Persistent Hypoglycemia in Neonates, Infants, and Children. *J Pediatr*. 2015;167(2):238–45.
162. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2015;38:S8–16.
163. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412–9.
164. Gungor N, Saad R, Janosky J, Arslanian S. Validation of surrogate estimates of insulin sensitivity and insulin secretion in children and adolescents. *J Pediatr*. 2004;144(1):47–55.
165. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499–502.
166. Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents; National Heart, Lung, and Blood Institute. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics*. 2011;128(Suppl 5):S213-56.
167. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nu. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64(2):319–34.
168. Parati G, Stergiou G, O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Bilo G, et al. European society of hypertension practice guidelines for ambulatory blood pressure monitoring. *J Hypertens*. 2014;32(7):1359-66.
169. Sarikouch S, Peters B, Gutberlet M, Leismann B, Kelter-Kloeping A, Koerperich H, et al. Sex-specific pediatric Percentiles for ventricular size and mass as reference values for Cardiac MRI assessment by steady-state free-precession and phase-contrast MRI flow. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2010;3(1):65-76.
170. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004;27(6):1487-95.

171. Pearce EN. Hypothyroidism and dyslipidemia: modern concepts and approaches. *Curr Cardiol Rep.* 2004;6(6):451-6.
172. Bianco F, Pane M, D'Amico A, Messina S, Delogu A, Soraru G, et al. Cardiac Function in Types II and III Spinal Muscular Atrophy: Should We Change Standards of Care? *Neuropediatrics.* 2015;46(1):33-6.
173. Mulleners WM, van Ravenswaay CM, Gabreëls FJ, Hamel BC, van Oort A, Sengers RC. Spinal muscular atrophy combined with congenital heart disease: a report of two cases. *Neuropediatrics.* 1996;27(6):333-4.
174. Vilela H, Santos J, Colaço J, Oliveira E, Canas-da-Silva P. Reversal of neuromuscular blockade with sugammadex in a patient with spinal muscular atrophy type III (Kugelberg-Welander syndrome). *J Anesth.* 2012;26(2):306-7.
175. Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(12):1890-900.
176. Menke LA, Poll-The BT, Clur S-A, Bilardo CM, van der Wal AC, Lemmink HH, et al. Congenital heart defects in spinal muscular atrophy type I: a clinical report of two siblings and a review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2008;146A(6):740-4.
177. Matesanz SE, Curry C, Gross B, Rubin AI, Linn R, Yum SW, et al. Clinical Course in a Patient With Spinal Muscular Atrophy Type 0 Treated With Nusinersen and Onasemnogene Abeparvec. *J Child Neurol.* 2020;35(11):717-723.
178. Althunayyan A, Petersen SE, Lloyd G, Bhattacharyya S. Mitral valve prolapse. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2019;17(1):43-51.
179. Palladino A, Passamano L, Taglia A, D'Ambrosio P, Scutifero M, Cecio MR, et al. Cardiac involvement in patients with spinal muscular atrophies. *Acta Myol.* 2011;30(3):175-8.
180. Naeije R. Pulmonary hypertension in hypoventilation syndromes. *Eur Respir J.* 2014;43(1):12-5.
181. Fernandes BA, Maher KO, Deshpande SR. Cardiac biomarkers in pediatric heart disease: A state of art review. *World J Cardiol.* 2016;8(12):719-27.
182. Southall DP, Johnston F, Shinebourne EA, Johnston PGB, Johnston GB. 24-Hour electrocardiographic study of heart rate and rhythm patterns in population of healthy children. *Br Heart J.*;45(3):281-91.
183. Dickinson DF. The normal ECG in childhood and adolescence. *Heart.* 2005;91(12):1626-30.
184. Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A, Blom N, Borggrefe M, Camm J, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *Eur Heart J.* 2015;36(41):2793-867.
185. Grimm W, Hoffmann J, Maisch B. [Accelerated idioventricular rhythm]. *Z Kardiol.* 1994;83(12):898-907.
186. Katritsis DG, Camm AJ. Nonsustained ventricular tachycardia: where do we stand? *Eur Heart J.* 2004;25(13):1093-9.
187. Padmanabha H, Kadwa RA, Sahu JK, Singhi PD. Electrocardiographic Tremor as an Important Diagnostic Aid in Spinal Muscular Atrophy. *Indian J Pediatr.* 2016;83(12-13):1506-7.
188. Mellies U, Dohna-Schwake C, Stehling F, Voit T. Sleep disordered breathing in spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* 2004;14(12):797-803.
189. Pera MC, Romeo DM, Graziano A, Palermo C, Messina S, Baranello G, et al. Sleep disorders in spinal muscular atrophy. *Sleep Med.* 2017;30:160-163.

190. Palatini P. Heart rate and the cardiometabolic risk. *Curr Hypertens Rep.* 2013;15(3):253-9.
191. Chen X, Wang Y. Tracking of blood pressure from childhood to adulthood: A systematic review and meta-regression analysis. *Circulation.* 2008;117(25):3171-80.
192. Stergiou GS, Alamara CV, Salgami EV, Vaindirlis IN, Dacou-Voutetakis C, Mountokalakis TD. Reproducibility of home and ambulatory blood pressure in children and adolescents. *Blood Press Monit.* 2005;10(3):143–7.
193. Seeman T, Palyzová D, Dušek J, Janda J. Reduced nocturnal blood pressure dip and sustained nighttime hypertension are specific markers of secondary hypertension. *J Pediatr.* 2005;147(3):366–71.
194. Messina S, Pane M, De Rose P, Vasta I, Sorleti D, Aloysius A, et al. Feeding problems and malnutrition in spinal muscular atrophy type II. *Neuromuscul Disord.* 2008;18(5):389–93.
195. Martinez EE, Quinn N, Arouchon K, Anzaldi R, Tarrant S, Ma NS, et al. Comprehensive nutritional and metabolic assessment in patients with spinal muscular atrophy: Opportunity for an individualized approach. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(6):512-19.
196. Brown RJ, Yanovski JA. Estimation of insulin sensitivity in children: Methods, measures and controversies. *Pediatr Diabetes.* 2014;15(3):151–61.
197. Fox C, Bernardino L, Cochran J, Essig M, Bridges KG. Inappropriate Use of Homeostasis Model Assessment Cutoff Values for Diagnosing Insulin Resistance in Pediatric Studies. *J Am Osteopath Assoc.* 2017;117(11):689-96.
198. Moran A, Jacobs DR, Steinberger J, Cohen P, Hong CP, Prineas R, et al. Association between the insulin resistance of puberty and the insulin-like growth factor-I/growth hormone axis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(10):4817-20.
199. Vukovic R, Mitrovic K, Milenkovic T, Todorovic S, Zdravkovic D. Type 2 diabetes mellitus and impaired glucose regulation in overweight and obese children and adolescents living in Serbia. *Int J Obes.* 2012;36(11):1479–81.
200. Kelsey MM, Zeitler PS. Insulin Resistance of Puberty. *Curr Diab Rep.* 2016;16(7):64.
201. Scott RA, Langenberg C, Sharp SJ, Franks PW, Rolandsson O, Drogan D, et al. The link between family history and risk of type 2 diabetes is not explained by anthropometric, lifestyle or genetic risk factors: The EPIC-InterAct study. *Diabetologia.* 2013;56(1):60–9.
202. Hofman PL, Regan F, Jackson WE, Jefferies C, Knight DB, Robinson EM, et al. Premature birth and later insulin resistance. *N Engl J Med.* 2004;351(21):2179–86.
203. Harder T, Rodekamp E, Schellong K, Dudenhausen JW, Plagemann A. Birth weight and subsequent risk of type 2 diabetes: a meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2007;165(8):849-57.
204. Li J, Motsko SP, Goehring EL, Tave A, Pezzullo JC, Jones JK. Prevalence of pediatric dyslipidemia: Comparison of a population-based claims database to national surveys. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2010;19(10):1031–40.
205. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of abnormal lipid levels among youths --- United States, 1999-2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59(2):29-33.
206. Newton KP, Hou J, Crimmins NA, Lavine JE, Barlow SE, Xanthakos SA, et al. Prevalence of prediabetes and type 2 diabetes in children with nonalcoholic fatty liver disease. *JAMA Pediatr.* 2016;170(10):e161971.
207. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JPT, Lawlor DA, Fraser A. The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140908.

208. Schwimmer JB, Dunn W, Norman GJ, Pardee PE, Middleton MS, Kerkar N, et al. SAFETY study: alanine aminotransferase cutoff values are set too high for reliable detection of pediatric chronic liver disease. *Gastroenterology*. 2010;138(4):1357-64, 1364.e1-2.
209. Molleston JP, Schwimmer JB, Yates KP, Murray KF, Cummings OW, Lavine JE, et al. Histological abnormalities in children with nonalcoholic fatty liver disease and normal or mildly elevated alanine aminotransferase levels. *J Pediatr*. 2014;164(4):707-13.e3.
210. Berger A, Mayr JA, Meierhofer D, Fötschl U, Bittner R, Budka H, et al. Severe depletion of mitochondrial DNA in spinal muscular atrophy. *Acta Neuropathol*. 2003;105(3):245–51.
211. Wang X, Bao W, Liu J, Ouyang YY, Wang D, Rong S, et al. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*. 2013;36(1):166-75.
212. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;105(2):141-50.
213. Golia E, Limongelli G, Natale F, Fimiani F, Maddaloni V, Russo PE, et al. Adipose tissue and vascular inflammation in coronary artery disease. *World J Cardiol*. 2014;6(7):539-54.
214. Wan B, Feng P, Guan Z, Sheng L, Liu Z, Hua Y. A severe mouse model of spinal muscular atrophy develops early systemic inflammation. *Hum Mol Genet*. 2018;27(23):4061-76.
215. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, et al. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. *N Engl J Med*. 2004;350(23):2362-74.
216. Goodman E, Daniels SR, Meigs JB, Dolan LM. Instability in the diagnosis of metabolic syndrome in adolescents. *Circulation*. 2007;115(17):2316–22.
217. Huidekoper HH, Duran M, Turkenburg M, Ackermans MT, Sauerwein HP, Wijburg FA. Fasting adaptation in idiopathic ketotic hypoglycemia: A mismatch between glucose production and demand. *Eur J Pediatr*. 2008;167(8):859–65.
218. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(2):367-378.e5.

Biografija autora

Stefan Đorđević je rođen 05.01.1987. godine u Beogradu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je upisao 2005. godine. Diplomirao je 2011. godine sa prosečnom ocenom 9,85, nakon što je odbranio diplomski rad pod nazivom „Kriterijumi za formiranje liste čekanja za transplantaciju srca kod dece obolele od kardiomiopatija“ (mentor prof. dr Ida Jovanović). Od septembra 2012. godine je zaposlen u Univerzitetnoj dečjoj klinici u Beogradu, na Odeljenju kardiologije. Doktorske akademske studije, smer Epidemiologija, upisao je 2013. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Specijalizaciju iz pedijatrije je završio u Univerzitetnoj dečjoj klinici u Beogradu i stekao zvanje specijalista pedijatrije u julu 2019. godine. Od novembra 2019. je na užoj specijalizaciji iz reumatologije u Institutu za reumatologiju u Beogradu. Autor je i koautor više radova iz oblasti kardiologije. Član je Srpskog lekarskog društva i Međunarodne organizacije za sprovođenje istraživanja u dečjoj reumatologiju (PRINTO, eng. Paediatric Rheumatology InterNational Trials Organisation).

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Стефан А. Ђорђевић

број уписа ЕП-01/13

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

Процена учесталости кардиоваскуларних болести и поремећаја метаболизма шећера и масти код пацијената са спиналном мишићном атрофијом

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 11.03.2021.



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Стефан Ђорђевић

Број уписа ЕП-01/13

Студијски програм Епидемиологија

Наслов рада Процена учесталости кардиоваскуларних болести и поремећаја
метаболизма шећера и масти код пацијената са спиналном мишићном атрофијом

Ментор проф. др Љиљана Марковић-Денић

Потписани Стефан А. Ђорђевић


изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 11.03.2021.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Процена учесталости кардиоваскуларних болести и поремећаја метаболизма шећера и масти код пацијената са спиналном мишићном атрофијом

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

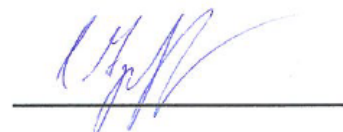
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 11.03.2021.



1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.