

Molekuláris és funkcionális biomarkerek vizsgálata dystrophia myotonicában

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Dr. Lovadi Emese Ildikó

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Klinikai Idegtudományi Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel DSc.

Programvezető: Prof. Dr. Janszky József DSc.

Témavezetők: Dr. Pál Endre PhD., Med. Habil.

Dr. Sebők Ágnes PhD.

PTE Klinikai Központ, Neurológiai Klinika



Pécs, 2021

Tartalomjegyzék

Rövidítések	3
1. Bevezetés	4
1.1.A dystrophia myotonica	4
1.2.Fenotípusok	5
2.FGF-21 szint vizsgálata dystrophia myotonicában és mitochondriális betegségekben	7
2.1.Biomarkerek dystrophia myotonicában.....	7
2.2.Célkitűzések	8
2.3.Anyag és módszer	9
2.4.Eredmények.....	10
2.5.Megbeszélés	12
3.Myotonia során jelentkező kortikális aktiváció fMRI vizsgálata dystrophia myotonicában	14
3.1.Irodalmi áttekintés	14
3.2.Célkitűzések	14
3.3.Anyag és módszer	15
3.4.Eredmények.....	18
3.5.Megbeszélés	22
4.Az új eredmények összefoglalása	23
5.Irodalomjegyzék	24
6.Publikációs jegyzék	26
Köszönetnyilvánítás	29

Rövidítések

DM	dystrophia myotonica
FSHD	facioscapulohumerális izomdystrophia
FGF-21	fibroblast növekedési faktor-21
fMRI	funkcionális mágneses rezonancia képalkotás
DMPK	dystrophia myotonica protein kináz
STR	short tandem repeat
MBNL1	Muscleblind Like Splicing Regulator 1 fehérje
CUGBPI	CUG-kötő fehérje 1
EMG	elektromiográfia
EKG	elektrokardiogramm
KIR	központi idegrendszer
ICD	implantálható defibrillátor
NT-proBNP	N-terminális prohormon agyi natriuretikus peptid
BMI	testtömegindex
MELAS	mitokondriális myopathia, enkefalopátia, laktát acidosis és stroke-like epizódok
PEO	progresszív externális oftalmoplégia
ELISA	Enzim-linked immunosorbent assay
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance (HOMA – inzulin rezisztencia index)
JMDRS	Japanese Mitochondrial Disease Rating Scale (A mitokondriális betegségek japán értékelő rendszere)
RBF	töredezett kék rostok
CK	kreatinin-kináz
BOLD	blood oxygen level dependent (vér oxigén szint függő)
MRC	Medical Research Council
SMA	szupplementer motoros área
dACC	dorsalis anterior cingularis cortex

1. Bevezetés

Az izomdystrophiák a vázizom örökletes, progresszív degenerációját okozó betegségek, mely során az idegi struktúrák megkíméltek maradnak. A betegségcsoportot szimmetrikus izomgyengeség- és atrophia jellemzi, ennek jellegzetességei alapján legtöbbször lehetővé válik a betegségek elkülönítése is. A modern érában már nem csak a betegségek klinikai jellemzői, hanem az azok háttérében álló molekuláris genetikai defektusok és következményes patogenezis képezi a fő tudományos irányvonalat, így osztályozásuk is leggyakrabban molekuláris háttérük alapján történik. A közelmúlt kutatásai megalapozták, hogy méltán tekintünk bizakodóan a jövőbeli genetikai és molekuláris terápiák felé.

A felnőttek körében a myotóniával járó dystrophia, az autosomalis domináns öröklődésű dystrophia myotonica (DM) a leggyakoribb, amit a facioscapulohumeralis izomdystrophia (FSHD) követ gyakoriságban [1, 2].

Az izomdystrophiák diagnózisa a klinikum mellett az elektrofiziológia, izombiopszia és molekuláris genetikai vizsgálatokra támaszkodik. Az utóbbi évtizedekben több kutatócsoport tett erőfeszítéseket, arra irányulón, hogy az izombetegségekben könnyen kimutatható biomarkereket találjanak. A fibroblast növekedési faktor-21 (FGF-21) a lipid és glükóz metabolizmus egyik regulátora, több vizsgálatban felmerült szerepe, mint lehetséges biomarker a mitochondriális és más izombetegségek esetében. E feltételezés mentén több izombetegségben (mitochondriális myopathia, DM, FSHD) vizsgáltuk az FGF-21 szérumszintjét, melyet jelent munkánk első részében tárgyalunk.

Munkánk második részében a funkcionális mágneses rezonancia képalkotás (fMRI) felé fordulunk, mely segítségével a DM pácienseknél jelentkező myotonia során aktiválódó agyi területeket vizsgáltuk.

1.1. A dystrophia myotonica

A betegség prevalenciája a világ különböző régióiban eltér. A legtöbb vizsgálat Európában 10-20/100.000 esetet talált [3-7], azonban ez az adat valószínűleg alábecsült, a betegek jó részét nem ismerjük fel. Erre utal egy New York államban végzett szűrőprogram is, melynek során a betegség prevalenciáját 48/100.000-re becsülték [8].

A betegséget progresszív izomgyengeség és atrophia, valamint myotonia jellemzi. A myotonia egy adott izom erő kifejtését követő átmeneti relaxációs

képtelensége. A jelenség leggyakrabban a kézszorítás, időnként a beszéd vagy az állkapocs nyitás következtében alakul ki.

A betegségnek két altípusa ismert. Az 1-es típus (DM1) a klasszikus Steinert dystrophiának fel meg, míg a 2-es típust (DM2) 1994-ben írták le először. Itt az izomérintettség proximális túlsúlyú, egyéb tünetei hasonlóak, de enyhébbek, mint a DM1 típusának. Prevalenciájára vonatkozóan jelenleg nincs egyértelmű adat, azonban úgy tűnik Európában a betegség előfordulása a DM1-éhez hasonló [9].

Az izomtünetek mellett a dystrophia myotonica-t multiszisztémás érintettség jellemzi (szem, agy, szív-érrendszer, belső elválasztású mirigyek stb.).

1.1.1. Genetikai háttér és patogenezis

A dystrophia myotonica nagy variabilitást mutat, ami a tünetek súlyosságát, lefolyását és a betegség kezdetét illeti. A multiszisztémás érintettség és a klinikai tünetek heterogenitására mindkét altípusnál egy változó hosszúságú repeat expanziója a felelős. A DM1 esetében a dystrophia myotonica protein kináz (*DMPK*) vagy myotonin génen a 19q13.3 lókuszon, egy instabil „DM-kritikus régióban” CTG repeat expanzió következik be [10]. Egészségeseknél a repeat-ek száma 5-37 között van és kb. 50-es repeat számig (pre-mutált allél) a betegség tünetmentes. 50 repeat felett az allél penetranciája teljes, szinte minden esetben manifesztálódik a betegség. A DM1 enyhe formájában szenvedőknél 50-150, a súlyosabb eseteknél 150-1000, congenitális formában pedig 2000-nél hosszabb CTG repeat-eket találunk. Az expanzió hosszúságával arányos a betegség súlyossága és az első tünetek megjelenésének időpontja [11].

A dystrophia myotonica 2-es típusért egy citozin-citozin-timin-guanin (CCTG) tetranukleotid expanzió felelős. (A repeatszám egészségeseknél kb. 26, betegeknek átlagosan 5000.) Ez a 3q21.3 lókuszon található *ZNF9*, más néven *CNBP* génen helyezkedik el [12].

Összefoglalásként elmondható, hogy a spliceopáthia a DM mindkét típusának alapvető molekuláris jellemzője.

1.2. Fenotípusok

1.2.1. Kongenitális dystrophia myotonica

- a kongenitális DM1 az újszülöttkori légzési elégtelenség leggyakoribb oka [2].

- az újszülöttnak faciális diplegiája van, hypotoniás, lélegeztetésre szorul, nem tud szopni, időnként dongalábú, ritkán generalizált kontraktúrája van, arca aránytalan, bordái vékonyak és magasan áll a rekeszizma.
- késik a szellemi és motoros fejlődés
- cerebrális atrophia és a kamratágulat
- járóképesek lesznek, viszont gyakori a széklet inkontinencia [11].
- diagnosztikus vizsgálatok: genetika, izombiopsza, esetleg EMG

1.2.2. Gyermekkorai dystrophia myotonica

- első tünetek típusosan 10 éves kor előtt jelentkeznek: kognitív- és viselkedésszabályozási problémák, figyelemzavar, alacsonyabb intellektus [13].
- később a felnőttkori DM-hez hasonló tünetek alakulnak ki, a szívritmuszavar előfordulása serdülőkorban 15-20%, sport és fizikai aktivitás hatására fokozottan exacerbálódik [14].

1.2.3. A felnőttkori dystrophia myotonica

Klinikai jellemzők

- izomérintettség: arcizmok, a sternokleidomasztoideus, disztális végtagizmok [15], az életkor előrehaladtával súlyosbodik, gyakori a járási instabilitás [16]. A myotonia jelen van az arcizmokban, a kezekben és az alkarban is. A kézben jelentkező myotonia javulhat ismételt kontrakciók során – ez a „bemelegedési jelenség”.
- Sokszerű érintettség:
- szív-érrendszer: vezetési zavarok és tachyarritmiák, kiemelten fontos a kardiológiai gondozás már a betegség diagnosztikájától kezdve [17].
- központi idegrendszer: a DM1, mind a DM2-re is jellemző az enyhe kognitív deficit, gyakoriak a fehérállományi léziók és agyi atrophia [18].
- cataracta: az 55 éves kornál hamarabb jelentkező, a posterior subcapsularis cataracta és ennek a családi halmozódása is utalhat dystrophia myotonica-ra [1, 19].
- endokrinológiai rendellenességek: pajzsmirigy, pancreas, hypothalamus és a gonádok érintettek. A cukorbetegség nem gyakoribb a DM1-ben, de az inzulinrezisztencia igen, melyet az inzulin receptor mRNS abnormális splicingja okozhat [20].
- légzési elégtelenség: elsősorban a kongenitális DM-ben jellemző, de az általános anesztézia gyakran respiratórikus és kardiovaszkuláris komplikációkkal járhat a felnőttkori formában szenvedőknél is [21-23].

Diagnosztikus vizsgálatok

- fontos a családi anamnézis és a klinikum
- gold standard: genetikai vizsgálat, azonban fontos az EMG és izombiopszia is szükséges lehet
- képalkotás: MR – KIR eltérések és a vázizmokban az atrophia követése

A betegek gondozása, therápiás lehetőségek

- genetikai tanácsadás, a többszervi érintettség okozta szövődmények megelőzése
- mozgásszervi rehabilitáció
- vizsgálatok folytak a CUG repeatekhez kötődő kis molekulákkal [24, 25] és nukleotid szekvenciákkal a poszttranszkripcionális gén splicing elérésre [26] illetve a genom szerkesztéssel [27]. Alkalmazásuk in vivo még várat magára.
- myotónia kezelése: Na-csatorna gátlók (pl. mexiletine, procainamide, propafenon, carbamazepine stb.), de ezek a szerek a myotonia javítása mellett az izomerőt ronthatják [28]
- fontos a kardiális szövődmények megelőzése (EKG monitorozás, pacemaker, illetve ICD beültetés) [29].
- alvási apnoe kezelése
- cataracta, dysphagia, endocrinopatiák diagnózisa és kezelése
- anaesthesia rizikójának figyelembevétele
- a betegek életkilátása a DM1 gyermekkori és kongenitális formájában egyértelműen csökkent, de a DM1-nél is inkább alacsonyabb. DM2 esetében az életkilátás általában az átlagpopulációval megegyező [30-33].

2. FGF-21 szint vizsgálata dystrophia myotonicában és mitochondriális betegségekben

2.1. Biomarkerek dystrophia myotonicában

A dystrophia myotonicában folyó therápiás próbálkozások jelentős része az RNS kezelést célozza meg. Így a hibás alternatív splicing során létrejött mRNS kimutatása a kezelés előtt és után, a therápiás válasz egyik fontos jövőbeli biomarkere lehet. A keringő szérum/plazma miRNS-ek biomarkerként való használhatósága is ígéretes, azonban - bár a miRNS szövetspecifikusan expresszálódik - átfedések lehetnek, több szövetben is termelődhet ugyanaz a molekula. Tekintettel arra, hogy a DM1-re

multiszisztémás érintettség jellemző, a különböző szövetek által kiválasztott miRNS elkülönítése nehézségekbe ütközik [34]. A vizsgált miRNS-ek több altípusának (miR-1, miR-133a, miR-133b, miR-206 [35] és miR-133a,-133b és -206 [36]) szérumszintje, illetve plazmakoncentrációja korrelált az izomgyengeség mértékével több vizsgálat szerint. Amellett, hogy a miRNS-ek specificitásának meghatározására még számos vizsgálatra van szükség, a miRNS kvantitatív mérésének lehetséges költség- és időhatékony protokollja sem áll egyelőre rendelkezésre. A DM1 esetében egy biomarker panel hasznos lehetne több szekunder komplikáció megítélésére, melyek a betegeknél kialakulhatnak [35, 37].

A kardiális szövődemények tekintetében kimutatták, hogy a NT-proBNP és a copeptin a pitvarfibrilláció két független prediktora lehet DM1 betegeknél [38].

2.1.1. Az FGF-21 fehérje mint biomarker

Az FGF-21 (humán fibroblast növekedési factor 21) egy 181 aminosavból álló fehérje, mely a humán FGF szupercsaládba tartozik. A családba tartozó fehérjék változatos szerepet töltenek be az endokrin, a parakrin és az intracelluláris folyamatokban, expresszálják a májsejtek, zsírszövet, thymus és a vázizmok. Az FGF-21 központi szerepet játszik a glükóz és lipid metabolizmusban és az éhezéshoz való adaptációban [39]. Szintén emelkedett FGF-21 szintet találtak a vázizmokban a mitochondriális betegség egyik állatmodelljében [40]. Azt is igazolták, hogy az FGF-21 szint megemelkedik az izom érintettséggel járó humán mitochondriális betegségekben [41]. Több friss vizsgálat igazolt emelkedett FGF-21 szintet mitochondriális betegségben szenvedő pácienseknél más neuromuscularis betegségekben szenvedőkhöz és egészséges kontrollokhoz viszonyítva [42, 43]. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a mitochondriális diszfunkció éhezéshoz hasonló állapotot idéz elő, és a máj és a barna zsírszövethez hasonlóan a megbetegedett vázizom szintén képes az FGF-21 szekréciójára [40, 44].

2.2. Célkitűzések

- az FGF-21 szérumszintjének meghatározása több neuromuscularis betegségben (mitochondriális myopáthia, dystrophia myotonica, FSHD) és egészséges kontrolloknál.
- a kapott értékek összevetése és korreláció-analízise több klinikai paraméterrel

2.3. Anyag és módszer

2.3.1. Beteganyag

A vizsgálatba 30 mitochondriális betegséggel, 16 dystrophia myotonica-val (DM1), 5 facioscapulohumerális izomdystrophiával (FSHD) diagnosztizált pácienset és 20 egészséges kontrollt vontunk be. A vizsgálatot a helyi etikai bizottság jóváhagyta (Engedély száma: 4581/2012). A betegek beleegyező nyilatkozatot írtak alá. Az egészséges kontrollok előzményeiben nem volt érdemi megbetegedés, a BMI értékük a normális tartományban volt, nem álltak orvosi gyógykezelés vagy gyógyszeres terápia alatt. A normálistól eltérő BMI indexű (<17 vagy >30) pácienseket és kontrollokat a vizsgálatból kizártuk. A betegek diagnózisát a típusos klinikum mellett genetikai vizsgálat is megerősítette.

A mitochondriális betegek között 5 MELAS-al (mitochondriális myopathia, encephalopathia, laktát acidosis és stroke-like epizódok), 15 PEO-val (progresszív externális optalmoplégia) – melyből egy Kearns-Sayre szindrómás beteg – és 10 mitochondriális myopáthiával diagnosztizált beteg került bevonásra. A mitochondriális betegség diagnózisát a 2002-ben

	Kontroll	Mitochondriális betegek			DM1	FSHD
		MELAS	PEO	Myopathia		
N(férfi/nő)	20 (9/11)	5 (3/2)	15 (9/6)	10 (3/7)	16 (7/9)	5 (2/3)
Kor (év)	45.9±16.1	51.2±23.8	59.6±15.3	57.7±9.6	50.9±12.6	41±12.3
Kezdet (év)	NA	41.2±21.6	39.2±23.1	47.1±14	35.1±15.9	30.4±14.6
BMI (kg/m ²)	26.0±5.3	23.7±6.5	26.3±6.0	27.1±8.1	27.1±5.4	21.7±2.6
Diab. M.	0/20	0/5	3/15	2/10	3/16	0/5

1. Táblázat. A vizsgálatba bevont egészséges kontrollok és betegek demográfiai adatai. Életkor: években kifejezve. N, vizsgálati alanyok száma (férfi/nő); Diab., a diabeteses alanyok száma; NA – nem alkalmazható

publikált [45] kritériumok alapján állítottuk fel. A betegek demográfiai adatait a 1. táblázat összegzi.

2.3.2. Módszer

Minden beteg részletes belgyógyászati és neurológiai kivizsgáláson esett át. A vérvétel minden alkalommal ugyanazon időpontban történt (8:00, éhgyomorra), majd a szérumot izoláltuk és -80 °C-on tároltuk az enzimkapcsolt immunsorbens vizsgálat (ELISA) elvégzéséig. A dystrophia myotonica és mitochondriális betegeknek HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance) indexet számoltunk az inzulinrezisztencia kimutatására [46]. Az izomgyengeség kvantifikálására az összegzett MRC (Medical Research Council) pontszámot használtuk. Ezt a nyak flexorok, extensorok és 15 végtagi izomcsoport izomerejének kétoldali értékeléséből

számítottuk. A betegségekkel járó szisztémás érintettséget a JMDS (Japanese Mitochondrial Disease Rating Scale) segítségével értékeltük [47]. Vizsgálatunkban a skála tételeihez a szemmozgás eltéréseinek értékelését is hozzáadtuk. Minden betegnél vizsgáltuk az izombiopsziás mintátnemzetközi standardoknak megfelelően. A mitochondriális betegek genetikai vizsgálata izom, vagy vérmintából történt. A DM1 és FSHD betegek diagnózisát szintén genetikai vizsgálat erősítette meg.

Az FGF-21 szérumszint duplikált meghatározása egy kereskedelmi forgalomban elérhető e ELISA kit-el történt (Quantikin ELISA kit, R&D Systems Inc). Az FGF-21 szérumkoncentrációját (pg/ml) a gyártó utasításai alapján számoltuk ki. Az ELISA tesztet vakon E.L. és M.C. végezte.

A statisztikai elemzést SPSS v19. (IBM Co., Armonk, New York) szoftverrel végeztük el. A klinikai adatnak az összehasonlítása nonparametrikus tesztek segítségével történt (Mann-Whitney U teszt és varianciaanalízis). A Person korrelációs használtuk az FGF-21 szintek és a klinikai adatok összevetésére. A számítások során 0.05 szignifikancia szinttel dolgoztunk.

2.4. Eredmények

Az FGF-21 szintet 71 mintából határoztuk meg, ezek közül 20 egészséges kontroll és 51, a felsorolt izombetegségekben szenvedő páciens volt. A kontrollok és a páciensek BMI-je 18-30 között volt. A 17 alatti és 30 feletti BMI-vel rendelkező pácienseket kizártuk, mivel azt találtuk, hogy a kontrollok szérum FGF-21 szintje nagyban korrelált a BMI-vel ($r=0.75$, $p=0.0005$). A betegek egyik csoportjában sem találtunk a BMI és FGF-21 szintek között szignifikáns korrelációt.

A statisztikai elemzés azt mutatta, hogy a JMDS érték PEO betegek körében szignifikánsan magasabb volt, mint a mitochondriális myopáthiás

csoportban, a DM1-ben és az FSHD-ben szenvedő betegeknél, nem volt azonban szignifikáns különbség a MELAS-os betegekhez viszonyítva (1/A ábra). A betegek CK szintje a normális tartománytól (200 U/l-ig) a közepesen emelkedettig változott, a vizsgált csoportok között nem volt e tekintetben szignifikáns különbség. A szérum laktát szintek a mitochondriális betegeknél magasabbak voltak a DM1-betegekéhez képest, ez különösen érvényes a PEO betegcsoportra (1/B ábra). A szérum FGF-21 szint hasonló értékeket mutatott az egészséges kontrollok, MELAS és

mitochondriális myopáthiás betegnél, és enyhén emelkedett volt FSHD-ban.

Az FGF-21 szint szignifikánsan magasabb volt PEO-ban (589.5 ± 496.4 (átlag \pm SD), 5,2-1705,7 tartomány) és DM1-ben ($429 \pm 328,5$ (átlag \pm SD),

	Kontroll	Mitochondriális			DM1	FSHD
		MELAS	PEO			
		Myopathia				
Diffúz mit. acc.	NA	2.8 \pm 1.3	2.9 \pm 1.3	2.9 \pm 1.6	0.8 \pm 2	0
RBF (SDH)	NA	7.4 \pm 11.9*	10.8 \pm 13.9*	6.2 \pm 15.7*	0.27 \pm 0.57	0.03 \pm 0.05
COX- rostok	NA	3.2 \pm 4.5	16.6 \pm 16.5*	1.0 \pm 0.7	0.5 \pm 0.7	0.03 \pm 0.05
COX+RBF	NA	8.2 \pm 13.3*	3.3 \pm 2.5	15.7 \pm 25.4*	0	0

2. táblázat. Mitochondriális eltérések az izom szövettani mintákban. Az adatokat a százalékos arány középértéke \pm standard deviáció formában tüntettük fel. *szignifikáns különbség ($p < 0,05$). Diffúz, diffúz mitochondriális accumulatio; NA, nem alkalmazható; MELAS, mitochondriális encephalopathia laktát acidosis és stroke-like epizódok; PEO, progresszív externális ophtalmoplegia; DM1 dystrophia mytonica 1 típus; RBF, töredezett kék rostok; SDH, szukcinát dehidrogenáz; COX, cytochrome-1 oxidáz.

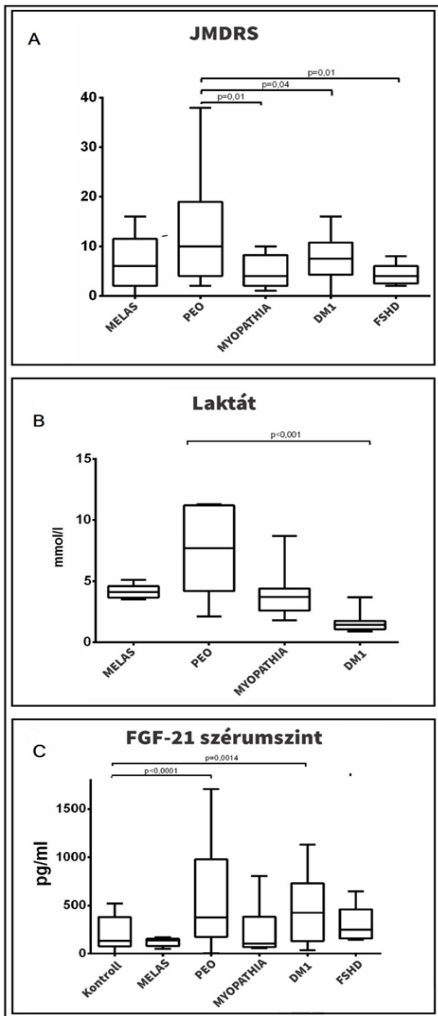
36,5-1130,9 tartomány), mint az egészséges kontrolloknál ($138 \pm 173,3$ (átlag \pm SD), 0-510 tartomány) (1/C ábra). A HOMA-IR index a DM1 betegeknél szignifikánsan magasabb volt, mint a mitochondriális csoportnál ($6.13 \pm 4,86$ vs. $1,8 \pm 1,2$, ((átlag \pm SD) $p=0,012$). Az izombiopsziás mintákban talált eltéréseket az 2. táblázat foglalja össze.

Az összefüggés-vizsgálatok során a mitochondriális csoportban az FGF-21 szint a laktát szinttel ($r=0,69$, $p=0,0008$) és az RBF-ek arányával ($r=0,44$, $p=0,03$) mutatott összefüggést.

Az alcsoport elemzés során még erősebb korreláció mutatkozott a laktát szint és az RBF-ek aránya között a PEO csoportban. Ezen túlmenően az FGF-21 szint korrelált a JMDRS pontszámokkal is (2. ábra).

Nem volt különbség az FGF-21 szérum szintekben a nemek között, és nem volt összefüggésben a betegek életkorával sem. Nem találtunk összefüggést az FGF-21 és az izomgyengeség, vagy CK értékek között sem. A HOMA-IR nem korrelált egyik klinikai vagy biokémiai paraméterrel sem a vizsgált csoportokban.

2.5. Megbeszélés



1. ábra. Az vizsgálatba bevont egészséges kontrollok és betegek JMDRS, Laktát és FGF értékei. A JMDRS (A) és szérum laktát szintek (B) a PEO csoportban voltak a legmagasabbak. A szérum fibroblast-növekedési faktor 21 (FGF-21) szintek (C) szignifikánsan magasabbak voltak a PEO és DM1 pácienseknél, az egészséges kontrollokhoz képest. A boksz-plot ábra jelzi a középpértéket (25 és 75 percentilisekkel) a szárák pedig a min-max értékeket. A szignifikancia szinteket megjelöltük.

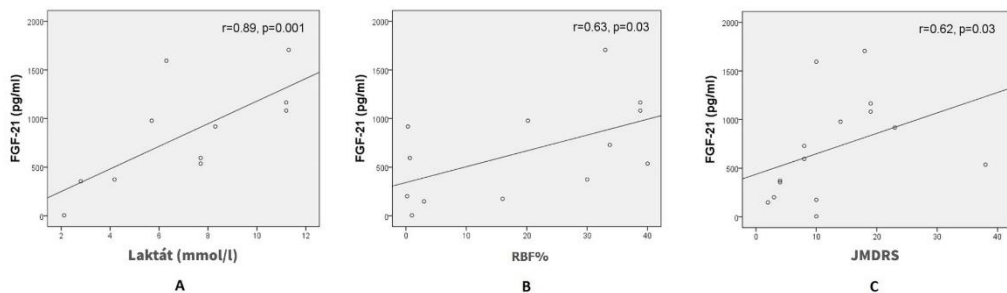
– az FGF-21 szérumszintje emelkedett a mitochondriális betegknél: MELAS és mitochondriális myopathia esetén csaknem normális, míg PEO-ban szignifikánsan emelkedett volt. Az izolált myopáthiában mért normális FGF-21 szint magyarázata lehet az enyhébb izomérintettség, a túlsúlyos páciensek kizárása valamint a diabetes mellitus magas előfordulása is, ez magyarázza korábbi tanulmányoktól eltérő eredményt [41].

– az FGF-21 szint az RBF rostok arányával korrelált mely a mitochondriális diszfunkció egyik fő hisztológiai mutatója.

– eredményeink alapján az FGF-21 jóval szenzitívebb markere a mitochondriális betegégeknek mint a CK vagy laktát szint [48].

– a szövettani jellemzőkkel összhangban az FSHD betegknél normális FGF-21 szintet találtunk, a mitochondriális elváltozásokra és diszfunkcióra utaló jelek előfordulása elhanyagolható mértékű volt.

egyik legfontosabb megállapításunk a DM1 betegknél észlelt emelkedett FGF-21 szint, melynek egyik



2. ábra . A szérumban FGF-21 szint korrelációja a biokémiai, hisztológiai és klinikai paraméterekkel PEO betegeknél. A szérumban FGF-21 szint szorosan korrelál a szérumban laktát szintekkel (A), az izombiopsziás minták RBF rostok arányával (B), és a JMDRS értékkel (C).

magyarázata az inzulin rezisztencia lehet, ezt támasztja alá, hogy az inzulin rezisztencia (emelkedett HOMA-IR) szignifikánsan gyakoribb volt DM1-ben mint a mitochontriális betegeknél. A másik lehetséges magyarázat a DM1 betegeknél kialakuló mitochontriális diszfunkció, mely hozzájárul az FGF-21 termeléséhez, erre a szövettani eltérések is utalnak (2. táblázat).

- a DM1 betegek körében nem tudunk kimutatni szignifikáns összefüggést az FGF-21 szint és a mitochontriális érintettség vagy a klinikai tünetek súlyossága között, így elképzelhető, hogy az inzulin rezisztencia nagyobb hatást gyakorol az FGF-21 szintekre, mint a mitochontriális diszfunkció.
- az FGF-21 szérumszintje összefügg a mitochontriális diszfunkcióval, azonban a mitochontriális szindrómák és alcsoportok különböznek a FGF-21 szérumszint tekintetében.
- további vizsgálatok szükségesek a fenotípus, az izomérítettség súlyossága és az FGF-21 közötti összefüggések elemzésére.
- neuromusculáris betegségekben fontos az inzulin rezisztencia figyelembevétele az FGF-21 szint értékelésénél.
- további biomarkerek vizsgálata és összevetése klinikai paraméterekkel folyamatban van.

3. Myotonia során jelentkező kortikális aktiváció fMRI vizsgálata dystrophia myotonicanban

3.1. Irodalmi áttekintés

A dystrophia myotonica legjellemzőbb tünete az akaratlanul fenntartott izomkontrakció mely klinikailag a kézizmok, kézszorítás relaxációs nehézségeként ismerhető fel. A myotonia átmenetileg oldódik mozgás, bemelegítés hatására [49]. A myotonia és a bemelegedés jelenségének háttere egyelőre nem tisztázott. A myotonia önmagában feltehetőleg az izomban lévő klorid csatorna rendellenessége miatt alakul ki [50].

A dystrophia myotonica multiszisztémás betegség, a központi idegrendszert is érinti. Az agyi elváltozások széles skáláját mutatták ki DM1-ben, első sorban fehérállományi léziókat és atrophíát észleltek [51, 52]. Egy korábbi tanulmány az ujj-hüvelykujj oppozíciójának fMRI vizsgálata során DM1 betegeknel az egészséges kontrolloknál szignifikánsabban erősebb BOLD (blood oxygen level dependent) aktivációt mutatott több agyi területen (pl. szenzomotoros kéreg, parietális lebeny, thalamus, premotoros área, insula, szupplementer motoros area). Ezen eltéréseket olyan kompenzatórikus mechanizmusoknak tulajdonították, mint a funkcionális hálózatok reorganizációja és redisztribúciója, mely a betegségre jellemző gyorsult öregedési folyamat következménye lehet [53]. Egy másik áttekintő közleményben a frontális, temporális és parietális lebenyben csökkent glükózfelvételt és cerebrális perfúziót találtak [54]. Tekintettel arra, hogy a DM1-ben elsősorban a neuromusculáris eltéréseket vizsgálták, a myotóniával kapcsolatos agyi érintettség háttere eddig nem volt ismert.

3.2. Célkitűzések

- Azt feltételeztük, hogy a priméren izom eredetű myotonia során kompenzációs mechanizmusok aktiválódnak az agyban, de nem lehet kizárni azt sem, hogy az agy legalább részben érintett/részt vesz a myotonia fenntartásában.
- Célul tűztük ki, hogy fMRI segítségével a myotonia során aktiválódó agyi területeket feltérképezzük.
- Választ kerestünk arra, hogy a myotóniás és nem myotóniás DM1 betegek között a kézszorítás feladat végrehajtása során jelentkezik-e szignifikáns különbség a BOLD jelben valamely agyterületen
- A rendelkezésre álló irodalmi adatok alapján magyarázatot kerestünk a megfigyelt eltérő aktiváció neurofiziológiai hátterére

3.3. Anyag és módszer

3.3.1. Betegek

A vizsgálatba 16 (9 nő, 7 férfi, életkoruk 31-60 év), a dystrophia myotonica 1-es típusával diagnosztizált beteget vontunk be. Kizárási kritérium volt a kórelőzményben szereplő alkoholabúzus, szerfüggőség, kognitív deficit (Mini mental state vizsgálat kevesebb mint 25/30 pont) és bármilyen ok, mely miatt MRI vizsgálat nem lett volna elvégezhető. Minden páciens jobbkézes volt, ennek igazolására az „Edinburgh Handedness Inventory tesztet” [55] használtuk. A vizsgálatba bevont betegek egyes klinikai jellemzőit a 3. táblázatban foglaltuk össze.

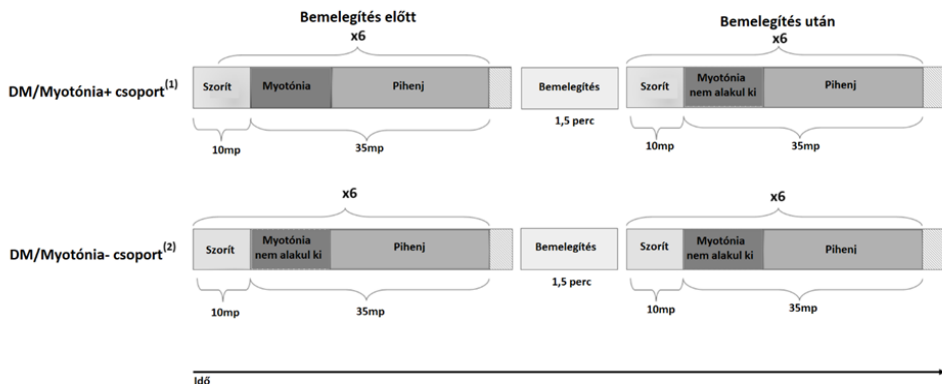
A betegeket két csoportra osztottuk: A DM/ Myotonia+ csoportnál klinikailag is észlelhető volt a myotonia készszorítás során, míg a DM/Myotonia- csoportnál a vizsgálat során myotóniát nem észleltünk (azonban EMG vizsgálat náluk is myotóniát igazolt). Ez alapján mindkét csoportba 8-8 páciens került beválasztásra.

	Nem (N/F)	Életkor (Év)	Betegségtartam (Év)	Myotonia kezdete (Év)	össz-MRC
DM/Myotonia+⁽¹⁾ (n=8)	5/3	48,33±8,33 (31-60)	15,22± 10,37 (5-39)	33± 9,84 (18-44)	459,0± 40,34 (383-516)
DM/Myotonia-⁽²⁾ (n=8)	4/4	47,29± 8,14 (39-58)	22,14± 5,46 (15-29)	24,86±6,12 (17-34)	454,7±34,61 (387-492)
Minden páciens (n=16)	9/7	47,88± 7,99 (31-60)	18,25± 9,04 (5-39)	29,44±9,16 (17-44)	457,1± ±36,77 (383-516)

3. Táblázat A páciensek klinikai jellemzői. (1) Kéz myotóniát mutató dystrophia myotonica páciensek (2) Kéz myotóniát nem mutató dystrophia myotonica páciensek. Az adatok leírása: átlag±standard deviáció (min-max értékek) formában történt. Össz-MRC: 24 izomnál elvégzett izomerőmérés értékeinek (1-10 skála) összege. A két csoport között nem volt statisztikailag szignifikáns különbség (Mann-Whitney U teszt, $p>0.05$).

3.3.2. Képalkotás

A vizsgálat során strukturális és funkcionális képalkotást végeztünk. A strukturális képalkotás során nagy felbontású T1- és T2-es súlyozott képek készültek a szerkezeti elváltozások értékeléséhez (a részleteket lásd alább). A funkcionális képalkotás három fázist tartalmazott a 3. ábrán vázolt protokoll szerint.



3. ábra. A vizsgálati paradigmák időbeli elrendezése. (1) Kéz myotóniát mutató dystrophia myotonica páciensek (2) Kéz myotóniát nem mutató dystrophia myotonica páciensek. Szorít: bal kézszorítás; Bemelegítés: a bal kéz ismételt ökölbe szorítása és ellazítása a myotonia jelenség maximális lecsengéséig.

Bemelegítés előtti vizsgálat

A feladat során a következő egymást követő blokkok ismétlődtek összesen hat alkalommal (az első blokkot 30 másodperces nyugalmi idő vezette be):

1. Kézszorítás blokk: a betegek bal kezüket ökölbe szorították. A blokk 10 másodpercig tartott és a „szorít” felszólítás vezette be.
2. Kézszorítás utáni blokk: ("Myotonia" volt észlelhető a DM/Myotonia+ csoportban, mely a DM/Myotonia- csoportnál nem alakult ki): ezt a blokkot a "elenged" szóval vezettük be. A DM/Myotonia+ betegeknél myotonia alakult ki (a kézfejüket nem tudták azonnal ellazítani a szorítást követően). Felhívtuk a betegek figyelmét, hogy akaratlagosan ne relaxálják a kézfejüket, hagyják, hogy a myotonia spontán elmúljon. A kéz teljes relaxációja a myotonia megszűnését jelentette, az addig eltelt időt minden mérés során regisztráltuk.
3. Pihenj blokk: A blokkok között 35mp pihenőidőt iktattunk be. A tulajdonképpeni pihenőidő (alapállapot) a myotonia megszűnését követte (35mp). A vizuális processing és a kapcsolódó funkciók zavaró hatásainak elkerülése érdekében a betegek szemüket csukva tartották a képalkotás során.

Bemelegítés utáni vizsgálat

A bemelegítés utáni vizsgálatot a bemelegítés előtti vizsgálatához hasonlóan végeztük, azonban a megelőző „bemelegítő” gyakorlat következtében klinikai myotonia sem a DM/Myotonia+ sem a DM/Myotonia- esetén nem volt várható illetve nem is alakult ki.

Passzív kézmozgatás

A passzív kézmozgatást 30 mp pihenőidő vezette be, ezt 5 alkalommal passzív kézmozgatás követte (a vizsgáló végezte a páciens ujjainak nyitását és zárását, míg a páciens megkértük, hogy ne ellensúlyozza a mozgást), 30 másodperc, majd ismét 30 másodperc pihenőidő következett.

Képalkotási paraméterek

A képalkotást 3T Magnetom TIM Trio humán teljes test MRI szkenneren (Siemens AG, Erlangen, Németország) végeztük, szabványos 12 csatornás fejtekerccsel.

A T1-súlyozott nagy felbontású mérést háromdimenziós (3D) MPRAGE szekvencia segítségével készítettük. A funkcionális képeket egy standard 2D spin echo EPI szekvencia segítségével nyertük, az egymásutáni szeletek közötti áttűnés elkerülése érdekében összefésült szeletrendet alkalmaztunk. Összesen 150 elemet nyertünk 300 másodperc alatt.

Adatfeldolgozás

Az előfeldolgozást és a statisztikai elemzést a FEAT (FMRI Expert Analysis Tool) 5.98-as verziójával végeztük el.

A DM/Myotonia+ csoportban a „myotonia” és „pihenj” állapotok időzítését az észlelt myotonia időtartamához igazítottuk. A pácienseknél regisztrált myotonia időtartamokat nemcsak a bemelegítés előtti vizsgálatok során, hanem a bemelegítés utáni myotonia nélküli állapot vizsgálatához is felhasználtuk az aktivációk direkt összehasonlításához.

A DM/Myotonia- csoport vizsgálataihoz a „szorít és a „pihenj” állapotokon túl a „hiányzó myotonia” állapotot használtuk, hogy az adatok összehasonlíthatóak legyenek a DM/Myotonia+ csoportban regisztráltakkal. A „hiányzó myotonia” állapot 5mp-ig tartott, mivel ez volt a myotonia átlagos időtartama a DM/Myotonia+ csoportnál.

A következő csoportszintű összehasonlításokat végeztük el:

A: Bemelegítés előtti állapot és bemelegítés utáni állapot (ugyanazon az alanyon történt vizsgálat, tehát bemelegítés előtti szorítás versus bemelegítés utáni szorítás, bemelegítés előtti myotonia versus bemelegítés után myotonia nélküli állapot). Az extrakció alapú kontraszt-térképeket páros t-teszt alapján számoltuk ki. Az ismétlés és fáradtság BOLD válaszra gyakorolt esetleges hatásainak felfedésére a bemelegítés előtti és utáni állapotokat a DM/Myotonia- csoportnál is összehasonlítottuk.

B: A DM/Myotonia+ csoport bemelegítés előtti állapota és a DM/Myotonia- bemelegítés előtti állapotának összehasonlítása (különböző alanyok összehasonlítása tehát a DM/Myotonia+ csoport kézzszorítása versus DM/Myotonia- csoport kézzszorítása, valamint a DM/Myotonia+ csoport myotóniája versus DM/Myotonia- csoport hiányzó myotonia állapota). Az extrakció alapú kontraszt-térképeket párosítatlan t-teszt alapján számoltuk ki.

A passzív kézmozgatás feladatot a Myotonia és kontroll csoportok esetén hasonlítottuk össze extrakció alapú kontraszt térképen párosítatlan t-teszt segítségével.

3.4. Eredmények

Strukturális képalkotás

Strukturális képalkotással a pácienseknél enyhe, nem-specifikus eltéréseket találtunk, ilyen az atrophia, kamratágulat, egyeseknél fehérállományi léziók és tágabb Virchow-Robin ürök. Olyan mértékű elváltozás, mely a funkcionális képalkotást akadályozná, nem volt.

Funkcionális képalkotás

A DM/Myotonia+ csoport minden betegénél legalább 3mp-es (átlag 5 mp, max. 12mp) myotóniát észleltünk a bemelegítést megelőző kézzszorításokat követően. A bemelegítést követő kézzszorítások vizsgálatakor nem regisztráltunk 1 másodpercnél hosszabb myotóniát. A DM/Myotonia- csoportban egyik kézzszorításkor sem jelentkezett myotonia.

DM/Myotónia+ csoport

Szignifikánsan magasabb ($p < 0.05$, $Z > 2.3$) BOLD jel volt elvezethető a bemelegítést megelőzően myotonia során, mint a bemelegítést követő myotonia nélküli állapotban a szupplementer motoros area (SMA) és a dorsalis anterior cingularis cortex (dACC) területéről (4. táblázat, 4. ábra). A szorítás során nem volt szignifikáns különbség a bemelegítés előtti vagy utáni fázisban.

DM/Myotonia- csoport

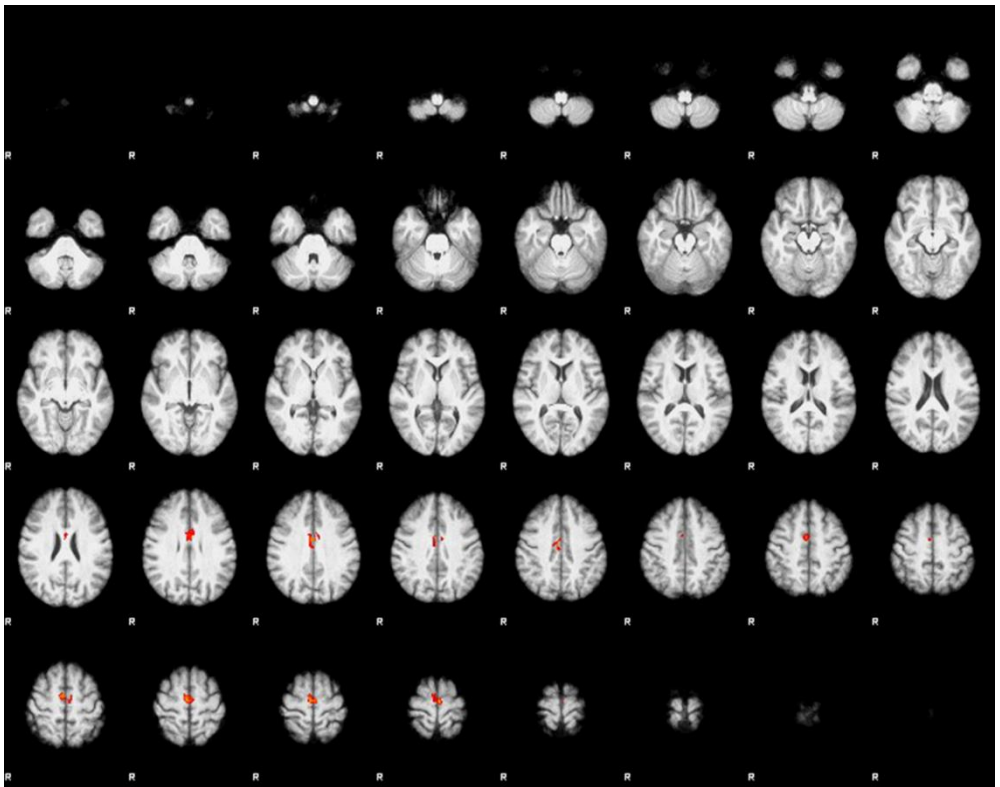
A bemelegítés előtti és utáni fázisok között nem volt szignifikáns különbség a BOLD jelben. Szignifikánsan magasabb BOLD jelet találtunk a Myotonia+ csoportban a myotonia során, mint a DM/Myotonia- csoportban myotonia hiányában a szupplementer motoros área (SMA) és a dorsalis anterior cinugularis cortex (dACC) (5. ábra, 5. táblázat). A kézsorítás során regisztrált BOLD jelben a két csoport között nem volt szignifikáns különbség.

Passzív kézmozgatás

Nem regisztráltunk szignifikáns különbséget a passzív kézmozgatás fázisban -a BOLD jelben a DM/Myotonia+ és DM/Myotonia- csoportok között.

Cluster	Voxel #	P	Max. Z	Z max. koordináták (MNI152) ¹			Atlasz vetület ²
				X (mm)	Y (mm)	Z (mm)	
1	314	0.00681	4.29	6	-10	62	49 % SMA ³
2	224	0.0452	5.09	2	-2	30	65% ACC ⁴

4. táblázat. A szignifikánsan magasabb BOLD jelű voxelek jellemzői a bemelegítés előtti myotonia során (1. Cluster) valamint bemelegítés után, myotonia hiányában (2. Cluster).¹Koordináták milliméterekben az MNI152 standard térben; ²Jelölés a Harvard-Oxford kortikális szerkezeti atlasz szerint. ³SMA=szuplementer motoros area. ⁴ACC=Elülső cinguláris cortex.

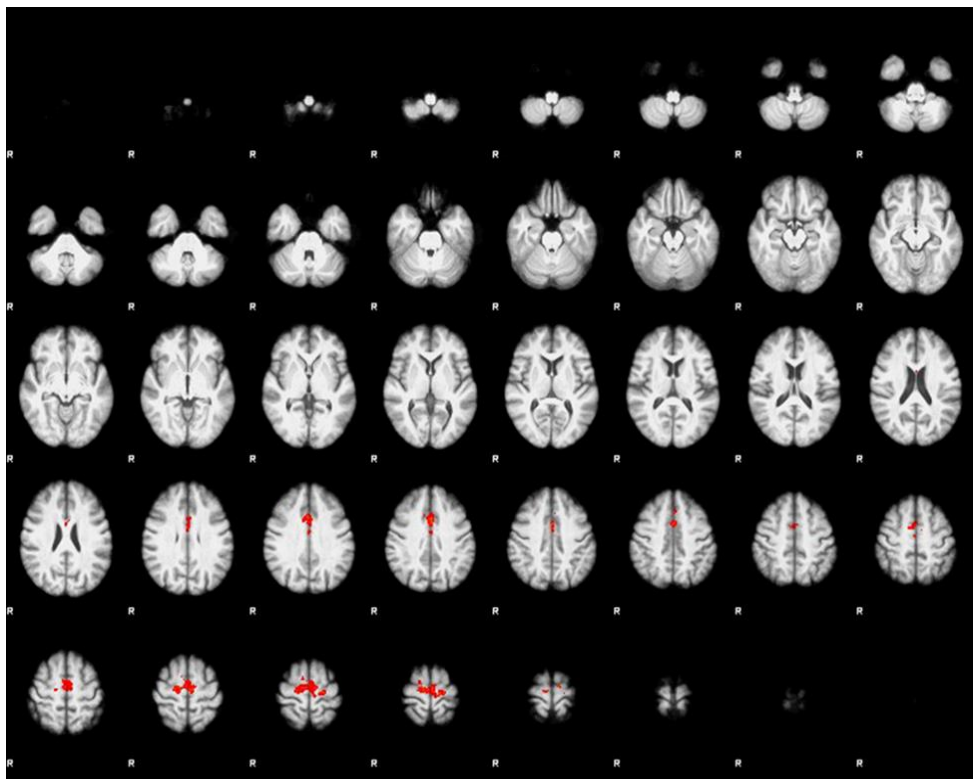


4. ábra. Bemelegítést megelőző myotonia majd a bemelegítés utáni myotonia nélküli állapotok összehasonlítása a M/Myotonia+ csoportban. A piros-sárga clusterek (átvetítve az MNI 152 standard térre) szignifikánsan ($p < 0,05$, $Z > 2,3$) magasabb BOLD jelet mutatnak myotonia során, mint a myotonia hiányában. A clusterek a szuplementer motoros áréában (SMA) és a hátsó elülső cinguláris kéregben (dACC) találhatóak, részletes leírásukat a 4. táblázat tartalmazza.

Cluster	Voxel #	P	Max. Z	Z max koordináták (MNI152) ¹			Atlasz vetület ²
				X (mm)	Y (mm)	Z (mm)	
1	682	0.00014	3,79	0	12	34	81 % ACC ⁴
2	516	0.003	2,91	-4	-12	62	50% SMA ³

5. táblázat. A szignifikánsan magasabb BOLD jelű voxelek jellemzői a Myotonia+ csoportnál myotonia során (1. Cluster) valamint a Myotonia- csoportnál myotonia hiányában (2.Cluster).¹Koordináták milliméterekben az MNI152 standard térben;²Jelölés a Harvard-Oxford kortikális szerkezeti atlasz szerint.

³SMA=szupplementer motoros área. ⁴ACC=Elülső cinguláris cortex ;



5. ábra . A DM/Myotónia+ csoport bemelegítést megelőző myotonia során és a DM/Myotónia- csoport bemelegítés megelőző, myotonia nélküli állapotának összehasonlítása A piros-sárga clusterek (átvéttve az MNI 152 standard térre) szignifikánsan ($p < 0,05$, $Z > 2,3$) magasabb BOLD jelet mutatnak a DM/Myotónia+ csoportnál myotónia során mint a DM/Myotónia- csoportnál myotonia hiányában. A clusterek a szupplementer motoros areában (SMA) és a hátsó elülső cinguláris kéregben (dACC) találhatóak, részletes leírásukat a 5. táblázat táblázat tartalmazza.

3.5. Megbeszélés

- Tanulmányunkban első ízben vizsgáltuk a myotonia jelenség során létrejövő agyi aktivitást
- Először a bemelegedés jelenség alapján, majd a két, myotonia pozitív ill. negatív betegsoporton keresztül tudtuk elkülönítve vizsgálni a myotonia alatt ill. ennek hiányában bekövetkező BOLD aktivációt. Szignifikánsan magasabb BOLD jelet találtunk a szupplementer motoros areaban (SMA) és a dorsalis anterior cinguláris cortexben (dACC).
- a primer motoros areák nem mutattak aktivációt a myotonia során tehát az agyi funkciók valószínűleg nem vesznek részt a myotonia kialakulásában
- a myotónia valószínűleg kompenzatórikus kérgi aktivációhoz vezet, ezek a területek feltehetően részt vesznek a normál izomrelaxációban is
- a mediális frontális kéreg aktivációja a motoros kontroll mechanizmusokhoz, mozgásindítás/mozgáselőkészítéshez kapcsolódhat („aktív termináció” esetleg „hibajelzés”)
- az akaratlagos izomlazítást több vizsgálatban is összefüggésbe hozták az SMA-val [56-59], így feltételezhető, hogy esetünkben a myotonia során az SMA-ban észlelt magasabb BOLD jel egy hasonló akaratlan gátló funkciót jelez
- az anterior cinguláris kéreg (dACC) szintén a mediális frontális cortex motoros kontroll áréájában található, és a kognitív funkciók mozgáshoz kapcsolásáért felelős, betegeinknél a myotonia során korábbi vizsgálatok alapján [60-63] valószínűleg a hibajelentéshez/hibás kivitelezéshez kapcsolódóan aktiválódik
- a passzív kézmozgatás során nem volt szignifikáns különbség a BOLD jelben a betegsoportok között, mely alapján a dACC és SMA aktiváció a myotóniával van összefüggésben és nem a DM okozta esetleges motoros vagy szenzoros eltérések/rendellenességek okozzák
- a myotonia összefügghet a magasabb rendű motoros kontroll áréák aktivációjával, mely a motoros terminációban résztvevő gátló pályák aktivációjának a következménye lehet
- eredményeink fontos információkkal járulhatnak hozzá a motoros áréák kutatásához, és az egyes centrális és perifériás betegségekben létrejövő kortikális válaszok megértésében (pl. Parkinson-kór, disztóniák, apraxiák).
- a jövőben vizsgálatokat tervezünk az izombetegek követésére izom-MR vizsgálatokkal, illetve a myotonia mechanizmusának vizsgálatára tovább bővítenénk a DM1 betegek körét, valamint

fMRI vizsgálatokat végeznék kongenitális myotoniás betegeknél is.

4. Az új eredmények összefoglalása

Doktori felkészülésem során elvégzett klinikai kutatásaim legfontosabb eredményei összefoglalva:

- Több izombetegségben határoztuk meg az FGF-21 szérumszintet. Ez legtöbbször emelkedett a mitochondriális betegeknél, elsősorban PEO-ban, viszont MELAS-ban és izolált myopáthiás betegeknél csaknem normális FGF-21 szintet mértünk. Ennek oka lehet az enyhébb izomérintettség, a túlsúlyos páciensek kizárása, vagy az FGF-21 szint diabetes mellitus előfordulásával való összefüggése.
- Eredményeink megerősítik, hogy myopáthiás betegeknél az FGF-21 szint a mitochondriális károsodás súlyosságával van összefüggésben, azonban nem volt szignifikáns összefüggés a FGF-21 szint és az izomgyengeség mértéke között.
- Eredményeink igazolták az FGF-21 és laktát szint közti összefüggést.
- Az izomszövetben kialakuló elsődleges és másodlagos mitochondriális diszfunkció FGF-21 termeléséhez vezethet.
- Vizsgálatunk legfontosabb eredménye, hogy a DM1 betegeknél emelkedett FGF-21 szintet mértünk. Ennek egyik magyarázata a betegségben jól ismert inzulin rezisztencia lehet, egy másik lehetséges magyarázatot a DM1 betegeknél valószínűsíthető mitochondriális diszfunkció adhat.
- Neuromusculáris betegségekben fontos az inzulin rezisztencia figyelembevétele az FGF-21 szint értékelésénél.
- fMRI vizsgálatunk során kimutattuk, hogy a primer motoros áréak nem vesznek részt a myotonia kialakulásában, de ez az izom eredetű jelenség másodlagos, valószínűleg kompenzatórikus kérgi aktivációhoz vezet.
- Az elnyújtott relaxáció lehetővé tette azon területek fMRI feltérképezését melyek valószínűleg részt vesznek a normál izomrelaxációban is. Ezek a mediális frontális kéreg, az anterior cinguláris kéreg, valamint a szupplementer motoros área. Az első kettő a motoros kontroll mechanizmusokért felelős, de a „hibajelzéshez” kötött mechanizmusok részei is lehetnek. A szupplementer motoros área a motoros válasz felfüggesztéséhez vezető gátlást fejtheti ki.

- A dorsalis-anterior cinguláris kéregben és a szupplementer motoros áreaban létrejövő szimultán aktiváció arra utal, hogy az inhibált izomrelaxáció másodlagos választ vált ki a motoros kontrollért felelős területeken.
- Eredményeink fontos információkkal járulhatnak hozzá a motoros áreák kutatásához és az egyes centrális és perifériás betegségekben létrejövő kortikális válaszok megértéséhez.

5. Irodalomjegyzék

1. Harper, P., *Myotonic dystrophy, 3rd edition*. 2001, London: Saunders.
2. Molnár Mária Judit, G.K., *Az izombetegségek alapjai és modern szemlélete*. 2001.
3. Wheeler, T.M., et al., *Ribonuclear foci at the neuromuscular junction in myotonic dystrophy type 1*. *Neuromuscul Disord*, 2007. **17**(3): p. 242-7.
4. Norwood, F.L., et al., *Prevalence of genetic muscle disease in Northern England: in-depth analysis of a muscle clinic population*. *Brain*, 2009. **132**(Pt 11): p. 3175-86.
5. Hughes, M.I., et al., *The prevalence of inherited neuromuscular disease in Northern Ireland*. *Neuromuscul Disord*, 1996. **6**(1): p. 69-73.
6. Magee, A., et al., *The epidemiology of myotonic dystrophy in Northern Ireland*. *Community Genet*, 1999. **2**(4): p. 179-83.
7. Siciliano, G., et al., *Epidemiology of myotonic dystrophy in Italy: re-appraisal after genetic diagnosis*. *Clin Genet*, 2001. **59**(5): p. 344-9.
8. Johnson, N.E., et al., *Population-Based Prevalence of Myotonic Dystrophy Type 1 Using Genetic Analysis of Statewide Blood Screening Program*. *Neurology*, 2021. **96**(7): p. e1045-e1053.
9. Meola, G., *Myotonic dystrophy type 2: the 2020 update*. *Acta Myol*, 2020. **39**(4): p. 222-234.
10. Buxton, J., et al., *Detection of an unstable fragment of DNA specific to individuals with myotonic dystrophy*. *Nature*, 1992. **355**(6360): p. 547-8.
11. Turner, C., et al., *The myotonic dystrophies: diagnosis and management*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010. **81**(4): p. 358-67.
12. Liquori, C.L., et al., *Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9*. *Science*, 2001. **293**(5531): p. 864-7.
13. Douniol, M., et al., *Psychiatric and cognitive phenotype of childhood myotonic dystrophy type 1*. *Dev Med Child Neurol*, 2012. **54**(10): p. 905-11.
14. Lagrue, E., et al., *A large multicenter study of pediatric myotonic dystrophy type 1 for evidence-based management*. *Neurology*, 2019. **92**(8): p. e852-e865.
15. Bouchard, J.P., et al., *Natural history of skeletal muscle involvement in myotonic dystrophy type 1: a retrospective study in 204 cases*. *J Neurol*, 2015. **262**(2): p. 285-93.
16. Wiles, C.M., et al., *Falls and stumbles in myotonic dystrophy*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2006. **77**(3): p. 393-6.
17. Lund, M., et al., *Cardiac involvement in myotonic dystrophy: a nationwide cohort study*. *Eur Heart J*, 2014. **35**(32): p. 2158-64.
18. Comim, C.M., et al., *Neurotrophins, cytokines, oxidative parameters and functionality in Progressive Muscular Dystrophies*. *An Acad Bras Cienc*, 2015. **87**(3): p. 1809-18.
19. Thornton, C.A., *Myotonic dystrophy*. *Neurol Clin*, 2014. **32**(3): p. 705-19, viii.
20. Machuca-Tzili, L., et al., *Clinical and molecular aspects of the myotonic dystrophies: a review*. *Muscle Nerve*, 2005. **32**(1): p. 1-18.

21. Moxley, R.T., 3rd, et al., *Report of the 84th ENMC workshop: PROMM (proximal myotonic myopathy) and other myotonic dystrophy-like syndromes: 2nd workshop. 13-15th October, 2000, Loosdrecht, The Netherlands.* Neuromuscul Disord, 2002. **12**(3): p. 306-17.
22. Klompe, L., et al., *Anaesthesiological and ventilatory precautions during cardiac surgery in Steinert's disease.* J Card Surg, 2007. **22**(1): p. 74-5.
23. Bogaard, J.M., et al., *Pulmonary function and resting breathing pattern in myotonic dystrophy.* Lung, 1992. **170**(3): p. 143-53.
24. Rzuczek, S.G., et al., *Precise small-molecule recognition of a toxic CUG RNA repeat expansion.* Nat Chem Biol, 2017. **13**(2): p. 188-193.
25. Luu, L.M., et al., *A Potent Inhibitor of Protein Sequestration by Expanded Triplet (CUG) Repeats that Shows Phenotypic Improvements in a Drosophila Model of Myotonic Dystrophy.* ChemMedChem, 2016. **11**(13): p. 1428-35.
26. LoRusso, S., et al., *Myotonic Dystrophies: Targeting Therapies for Multisystem Disease.* Neurotherapeutics, 2018. **15**(4): p. 872-884.
27. van Agtmaal, E.L., et al., *CRISPR/Cas9-Induced (CTGCAG)_n Repeat Instability in the Myotonic Dystrophy Type 1 Locus: Implications for Therapeutic Genome Editing.* Mol Ther, 2017. **25**(1): p. 24-43.
28. Heatwole, C., et al., *Mexiletine in Myotonic Dystrophy Type 1: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial.* Neurology, 2021. **96**(2): p. e228-e240.
29. Khalighi, K., et al., *Cardiac involvement in myotonic dystrophy.* J Community Hosp Intern Med Perspect, 2015. **5**(1): p. 25319.
30. Groh, W.J., et al., *Electrocardiographic abnormalities and sudden death in myotonic dystrophy type 1.* N Engl J Med, 2008. **358**(25): p. 2688-97.
31. Schoser, B.G., et al., *Sudden cardiac death in myotonic dystrophy type 2.* Neurology, 2004. **63**(12): p. 2402-4.
32. Yum, K., et al., *Myotonic dystrophy: disease repeat range, penetrance, age of onset, and relationship between repeat size and phenotypes.* Curr Opin Genet Dev, 2017. **44**: p. 30-37.
33. Mathieu, J., et al., *A 10-year study of mortality in a cohort of patients with myotonic dystrophy.* Neurology, 1999. **52**(8): p. 1658-62.
34. Koehorst, E., et al., *The Biomarker Potential of miRNAs in Myotonic Dystrophy Type 1.* J Clin Med, 2020. **9**(12).
35. Koutsoulidou, A., et al., *Elevated Muscle-Specific miRNAs in Serum of Myotonic Dystrophy Patients Relate to Muscle Disease Progress.* PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0125341.
36. Perfetti, A., et al., *Validation of plasma microRNAs as biomarkers for myotonic dystrophy type 1.* Sci Rep, 2016. **6**: p. 38174.
37. Scholer, N., et al., *Serum microRNAs as a novel class of biomarkers: a comprehensive review of the literature.* Exp Hematol, 2010. **38**(12): p. 1126-30.
38. Russo, V., et al., *SERUM cardiac-specific biomarkers and atrial fibrillation in myotonic dystrophy type 1.* J Cardiovasc Electrophysiol, 2019. **30**(12): p. 2914-2919.
39. Iglesias, P., et al., *Biological role, clinical significance, and therapeutic possibilities of the recently discovered metabolic hormone fibroblastic growth factor 21.* Eur J Endocrinol, 2012. **167**(3): p. 301-9.
40. Tynismaa, H., et al., *Mitochondrial myopathy induces a starvation-like response.* Hum Mol Genet, 2010. **19**(20): p. 3948-58.
41. Suomalainen, A., et al., *FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study.* Lancet Neurol, 2011. **10**(9): p. 806-18.
42. Su, S.L., et al., *FGF21 in ataxia patients with spinocerebellar atrophy and mitochondrial disease.* Clin Chim Acta, 2012. **414**: p. 225-7.
43. Davis, R.L., et al., *A comparison of current serum biomarkers as diagnostic indicators of mitochondrial diseases.* Neurology, 2016. **86**(21): p. 2010-5.

44. Kim, K.H., et al., *Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine*. Nat Med, 2013. **19**(1): p. 83-92.
45. Bernier, F.P., et al., *Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adults and children*. Neurology, 2002. **59**(9): p. 1406-11.
46. Muniyappa, R., et al., *Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008. **294**(1): p. E15-26.
47. Yatsuga, S., et al., *MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan*. Biochim Biophys Acta, 2012. **1820**(5): p. 619-24.
48. Davis, R.L., et al., *Fibroblast growth factor 21 is a sensitive biomarker of mitochondrial disease*. Neurology, 2013. **81**(21): p. 1819-26.
49. Logigian, E.L., et al., *Quantitative analysis of the "warm-up" phenomenon in myotonic dystrophy type 1*. Muscle Nerve, 2005. **32**(1): p. 35-42.
50. Charlet, B.N., et al., *Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing*. Mol Cell, 2002. **10**(1): p. 45-53.
51. Minnerop, M., et al., *The brain in myotonic dystrophy 1 and 2: evidence for a predominant white matter disease*. Brain, 2011. **134**(Pt 12): p. 3530-46.
52. Romeo, V., et al., *Brain involvement in myotonic dystrophies: neuroimaging and neuropsychological comparative study in DM1 and DM2*. J Neurol, 2010. **257**(8): p. 1246-55.
53. Caramia, F., et al., *Functional MRI changes in the central motor system in myotonic dystrophy type 1*. Magn Reson Imaging, 2010. **28**(2): p. 226-34.
54. Okkersen, K., et al., *Brain imaging in myotonic dystrophy type 1: A systematic review*. Neurology, 2017. **89**(9): p. 960-969.
55. Oldfield, R.C., *The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory*. Neuropsychologia, 1971. **9**(1): p. 97-113.
56. Terada, K., et al., *Movement-related cortical potentials associated with voluntary relaxation of foot muscles*. Clin Neurophysiol, 1999. **110**(3): p. 397-403.
57. Toma, K., et al., *Activities of the primary and supplementary motor areas increase in preparation and execution of voluntary muscle relaxation: an event-related fMRI study*. J Neurosci, 1999. **19**(9): p. 3527-34.
58. Toxopeus, C.M., et al., *Cerebral activation patterns related to initiation and inhibition of hand movement*. Neuroreport, 2007. **18**(15): p. 1557-60.
59. Nachev, P., et al., *Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas*. Nat Rev Neurosci, 2008. **9**(11): p. 856-69.
60. Orr, C., et al., *Error-related anterior cingulate cortex activity and the prediction of conscious error awareness*. Front Hum Neurosci, 2012. **6**: p. 177.
61. Luu, P., et al., *Medial frontal cortex in action monitoring*. J Neurosci, 2000. **20**(1): p. 464-9.
62. Gehring, W.J., et al., *Prefrontal-cingulate interactions in action monitoring*. Nat Neurosci, 2000. **3**(5): p. 516-20.
63. Shackman, A.J., et al., *The integration of negative affect, pain and cognitive control in the cingulate cortex*. Nat Rev Neurosci, 2011. **12**(3): p. 154-67.

6. Publikációs jegyzék

Az értekezés témájához kapcsolódó tudományos folyóiratcikkek:

Lovadi, E ; Cserekleyi, M ; Merkli, H ; Fülöp, K ; Sebők, A ; Karcagi, V ; Komoly, S ; Pál, E. Elevated FGF 21 in myotonic dystrophy type 1 and mitochondrial diseases MUSCLE & NERVE 55 : 4 pp. 564-569. , 6 p. (2017)

Folyóirat szakterülete: Neurology (clinical), helyzete: Q2, IF (év 2017): 2,496.

Tóth, A*; Lovadi, E*; Komoly, S; Schwarcz, A; Orsi, G; Perlaki, G; Bogner, P; Sebők, A; Kovács, N; Pál, E**; Janszky J**. Cortical involvement during myotonia in myotonic dystrophy: an fMRI study. Acta Neurologica Scandinavica 132: 1 pp. 65-72., 8 p. (2015)

*megosztott első szerzők; **megosztott utolsó szerzők;

Folyóirat szakterülete: Neurology, helyzete: Q2., IF (év 2015): 2,559.

Kumulatív impact factor (az értekezés témájához kapcsolódóan): 5,055

Kumulatív impact factor: 5,404

Az értekezés témájához kapcsolódó könyvfejezet:

Pal E, Lovadi E, Gati I, Merkli H, Komoly S. Muscle biopsy: Diagnostic value in suspected myopathies. In: Washington, HS; Castillo, Jimenez CE (szerk.) Myopathies: : New Research Hauppauge (NY), USA : Nova Science Publishers (2012) pp. 57-74., 18 p.

Az értekezés témájához kapcsolódó tudományos előadások:

Lovadi E, Pál E, Sebők Á, Bajkó Z. Hisztometriás mérések módszertana Dystrophia Myotonicában. Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem TDK Konferencia, Marosvásárhely, 2011. március 27-30.

Nusser N, Sebők Á, Lovadi E. Dystrophia myotonica-s betegek rehabilitációja a harkányi kórházban. Orvosi Rehabilitáció és Fizikális Medicina Magyarországi Társasága XXXIII. Vándorgyűlése, Szolnok, 2014. szeptember 4-6.

Az értekezés témájához kapcsolódó tudományos poszterek:

Lovadi E, Nusser N, Sebők Á, Pál E, Komplex gondozás és rehabilitáció Dystrophia Myotonicában. Magyar Ideg- és Elmeorvosok Társaságának XXXV Vándorgyűlése, Debrecen, 2012. november 22-24., 3. díj.

Lovadi E, Sebők Á, Nusser N, Komoly S, Pál E Összetett rehabilitáció dystrophia myotonicában. Magyar Neurológusok Társaságának XXXVI konferenciája, Eger, 2016. október 20-22.

Lovadi E, Nagy Sz, Sebők Á, Komoly S, Pál E Izomatropia kvantitatív MRI vizsgálata dystrophia myotonica (DM1) betegekben. Magyar Neurológusok Társaságának XXXVI konferenciája, Eger, 2016. október 20-22.

E. Pál, E. Lovadi, M. Cserekyei, Á. Sebők, S. Komoly FGF21: A biomarker of neuromuscular diseases. — WCN 2013, No: 2471, Topic: 7 — Neuromuscular disorders, Bécs, Ausztria, 2013. szeptember 21-26.

Az értekezés témájához nem kapcsolódó tudományos folyóiratcikkek:

Lovadi E, Csécsi P, Lovig Cs, Karádi Zs, Szapáry L Lipidek és az agyérbetegség – Új lehetőségek az LDL-koleszterin-szint csökkentésére. ORVOSI HETILAP 157 : 52 pp. 2059-2065. , 7 p. (2016)

Folyóirat szakterülete: klinikai és kísérletes orvostudomány, helyzete: Q3, IF (év2016): 0,349

Az értekezés témájához nem kapcsolódó tudományos előadások:

Lovadi E, Sárkány Á, Csécei P, Verzár Zs, Szapáry L, Significance of hypertension in cerebrovascular diseases. ISHOP3 Third International Symposium on Hypertension Translational Medicine in Hypertension, Esszék, Horvátország, 2014. november 27-30.

Az értekezés témájához nem kapcsolódó tudományos poszterek:

Lovadi E, Gyimesi Cs, Janszky J, Sebők Á, Illés Zs A „Nagy Imitátor”: Non-convulzív status epilepticus kapcsán felismert neurosyphilis. Magyar Ideg- és Elmeorvosok Társaságának XXXV Vándorgyűlése, Debrecen, 2012. november 22-24.,

Lovadi E, Csécei P, Lovig Cs, Karádi Zs, Szapáry L Thalamus- Mesencephalon Ischaemia ritka klinikai megnyilvánulása. Magyar Neurológusok Társaságának XXXVI konferenciája, Eger, 2016. október 20-22.

Lovadi E, Csécei P, Karádi Zs, Kasza G, Szapáry L A carotis endarterectomia korai postoperatív ellátása Stroke őrzőnkben. A Magyar Stroke Társaság XIII. Konferenciája és a Magyar Neuroszonológiai Társaság X. konferenciája, Győr, 2017. október 5-7.

Lovadi E, Csécei P, Karádi Zs, Szólics A, Lenzsér G, Szapáry L Myocardialis infarctussal szövődött ébredési ischaemiás stroke revascularizációs kezelése. A Magyar Stroke Társaság XIII. Konferenciája és a Magyar Neuroszonológiai Társaság X. konferenciája, Győr, 2017. október 5-7.

Rozgonyi R, Lovadi E, Csécei P, Faludi B Alvásvizsgálatok jelentősége thalamus és agytörzsi stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság XIII. Konferenciája és a Magyar Neuroszonológiai Társaság X. konferenciája, Győr, 2017. október 5-7.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet és hálámat kifejezni azoknak, akik az utóbbi, több mint tíz évben segítették tudományos és klinikai munkámat, tanácsaikkal, sokszor biztatásukkal.

Komoly Sámuel Professzor úrral még Marosvásárhelyen volt alkalmam találkozni, Ő azonnal nyitott és segítőkész volt, hogy nyári tanulmányutamat 2010-ben a Pécsi Neurológiai Klinikán tölthessem. Az akkor lefektetett alapok és új ismeretségek vezettek el a jelen dolgozat megírásához is. Első bizonytalan lépteimet Dr. Pál Endre és Dr. Sebők Ágnes segítették útmutatásukkal, hozzáértésükkel és megelőlegezett bizalmukkal, mely nem apadt el az évek során. Komoly Sámuel és Janszky József Professzor urak, valamint a Pécsi Neurológiai Klinika dolgozói mindvégig támogatták klinikai és tudományos előremeneteletem. Ezúton szeretném kifejezni hálámat és nagyrabecsülésemet irányukban is.

Családom támogatása, hite és bizalma, férjem Tibor segítségével nélkül e dolgozat, és az alapjául szolgáló tudományos munka szintén nem valósulhatott volna meg.

Végül, de nem utolsó sorban köszönet betegeinknek, akik sokszor több száz kilométeres utat tettek meg, hogy vizsgálatainkban részt vegyenek, és akik mindvégig feltétlen bizalmukkal ruházták fel kutatócsoportunkat. Szavaikból, hozzáállásukból mindannyian sokat tanultunk.

„A történelemben a véletlenek különös ajtókat tudnak kinyitni a jövőbe. És ha kinyílik egy ilyen ajtó, akkor be kell lépni rajta.”

Voltaire