

**UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET**

Stojan Z. Peri

**ISPITIVANJE FUNKCIONALNIH I
MORFOLOŠKIH POREMEĆAJA
CENTRALNOG NERVNOG SISTEMA
KOD BOLESNIKA SA MIOTONIČNOM
DISTROFIJOM TIPA 1**

doktorska disertacija

Beograd, 2013.

mentor: prof. dr Vidosava Rako evi Stojanovi
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

komentor: prof. dr Ivana Novakovi
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

lanovi komisije za odbranu doktorske disertacije:

1. akademik prof. dr Vladimir S. Kosti , predsednik komisije

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

2. prof. dr Dragana Lavrni

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

3. prof. dr Gordana Oci , profesor u penziji

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

datum odbrane: _____

Rastku

Zahvaljujem se svojoj mentorki, prof. dr Vidosavi Rako evi Stojanovi , na znanju koje mi je prenela i nesebi noj podršci koju mi pruža još od studentskih dana. Pravi je blagoslov imati je kraj sebe.

Veliku zahvalnost dugujem i svojoj komentorki, prof. dr Ivani Novakovi , akademiku prof. dr Vladimiru S. Kostu i prof. dr Dragani Lavrni za ogromnu stručnu i tehničku pomoć koja je bila neophodna za realizaciju mojih ideja.

Hvala i drugim kolegama koji su značajno doprineli ovom istraživanju: molekularnim biologima dr Valeriji Dobri i Vesni Rali , prof. dr Masimu Filipiju i dr Federiki Agosti sa Univerziteta u Milanu, prof. dr Elki Stefanovoj, neuropsihološkinjama Veri Ili i Ružici Madžarevi , ass. dr Aleksandri Pavlovi , prof. dr Ivanki Markovi , psihološkinji Mariji Srećkov, lekarima, medicinskim sestrama i tehničarima III odeljenja Klinike za neurologiju KCS.

Najlepše se zahvaljujem i svim ispitanicima koji su pristali da učestvuju u ovoj studiji.

Svojoj supruzi Marini dugujem posebnu zahvalnost na razumevanju, podršci i nesebičnoj ljubavi.

SAŽETAK

Uvod: Miotoni na distrofija tipa 1 (MD1) je autozomno-dominantno nasledno oboljenje, koje pored mišića, zahvata mnoga druga tkiva i organe, uključujući i mozak. Zahva enost centralnog nervnog sistema (CNS) u MD1 podrazumeva neuropsihološke i bihevioralne poreme taje. Razvoj savremenih neurovizualizacionih tehnika i molekularne medicine omogu ava bolje sagledavanje uzroka moždanih poreme taja.

Ciljevi: Odre ivanje neuropsihološkog i bihevioralnog profila bolesnika sa MD1, ispitivanje morfoloških specifi nosti njihovog mozga i analiza nivoa biomarkera neurodegeneracije u likvoru.

Materijal i metode: Ispitivano je 66 bolesnika kod kojih je dijagnoza MD1 potvr ena molekularno-genetskom analizom. Step en mišićne slabosti odre ivan je prema MIRS (*Muscular Impairment Rating Scale*). U istraživanju je koriš ena opsežna baterija klasi nih neuropsiholoških testova, kao i obiman set kompjuterskih testova iz baterije CANTAB (*Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery*). U studiji su koriš ene slede e skale: Hamiltonove skale za procenu depresije i anksioznosti, Milonov multiaksijalni klini ki upitnik (MMCI) za poreme taje li nosti, DSS skala za merenje prekomerne dnevne pospanosti (PDP) i Kruppova skala za težinu zamora (FSS). Kod bolesnika i 38 zdravih kontrola pregled mozga je obavljen na aparatu za magnetnu rezonanciju (MR) ja ine 1,5 T. Na snimcima je odre ivano ukupno optere enje hiperintenznim lezijama bele mase (HLBM), zapremina sive mase mozga pomo u morfometrije zasnovane na vokselu (VBM) i analiza puteva bele mase metodom difuzionog tenzorskog imidžinga (DTI). Transkranijalna sonografija mozga (TCS) koriš ena je za analizu struktura srednje linije moždanog stabla kod bolesnika i 55 zdravih kontrola. Nivo ukupnog i fosforilisanog tau proteina (T-tau i P-tau) i beta amiloida 42 (A 42) u likvoru bolesnika i 26 neurološki zdravih kontrola odre ivan je metodom sendvi ELISA.

Rezultati: Vizuospacijalna disfunkcija je uo ena kod 80 %, egzekutivna disfunkcija kod 67 %, a ošte enje jezi ke funkcije imenovanja kod 62 % obolelih. Zna ajna depresivnost je registrovana kod 15 %, anksioznost kod 11 %, PDP kod 44 %, a zamor kod 52 % bolesnika. Klini ki zna ajan poreme taj li nosti je imalo 60 % obolelih (zavisan tip li nosti 52 %, a paranoidan 39 %). Lošiji rezultati na pojedinim neuropsihološkim i bihevioralnim testovima bili su u korelaciji sa ve im brojem CTG ponovaka ($p < 0,05$). MD1 bolesnici su imali ve e

optere enje HLBM u odnosu na zdrave kontrole ($0,30 \pm 0,80$ prema $0,04 \pm 0,10$; $p < 0,01$). Na VBM kod bolesnika je uo eno smanjenje zapremine sive mase u skoro svim delovima CNS, uklju uju i cerebralni korteks, cerebelum, bazalne ganglije i talamus ($p < 0,05$). Pomo u DTI je na eno smanjenje frakcione anizotropije u skoro svim asocijacionim putevima bele mase, *corpus callosumu*, obe *capsulae internae* i *externae* i u moždanom stablu ($p < 0,05$). Izraženije promene u belo j masi leve hemisfere kod bolesnika sa MD1 su bile u vezi sa lošijim postignu em na skoru *pažnja i orijentacija* iz Addenbrookovog testa ($p < 0,05$). TCS je pokazao pove an procenat hipoehogenosti *substantiae nigrae* kod MD1 bolesnika u odnosu na zdrave kontrole (26 % prema 11 %; $p < 0,01$), kao i hipoehogenosti *nc. raphe* (38 % prema 8 %; $p < 0,01$). Prisustvo depresivnosti i zamora je bilo u zna ajnoj korelaciji sa smanjenom ehogenoš u ovog jedra ($p < 0,01$ i $p < 0,05$). U našem istraživanju je uo eno smanjenje nivoa A 42 kod bolesnika sa juvenilnom MD1 (jMD1) u odnosu na kontrole ($781,3 \pm 226,4$ ng/l prema $947,3 \pm 233,8$ ng/l; $p < 0,05$) i smanjenje odnosa A 42/P-tau kod bolesnika sa adultnom MD1 (aMD1) ($18,2 \pm 5,3$ prema $23,2 \pm 9,2$; $p < 0,05$). Niži nivo A 42 je bio u korelaciji sa ve im brojem CTG ponovaka u jMD1 ($= -0,53$; $p < 0,05$), dok je smanjenje odnosa A 42/P-tau korelisalo sa staroš u bolesnika u aMD1 ($= -0,30$; $p < 0,05$). Uo ena je pozitivna korelacija izme u nivoa T-tau, P-tau i A 42 u ispitivanoj kohorti bolesnika sa MD1 ($p < 0,01$).

Zaklju ci: Kod ispitivanih bolesnika sa MD1 prona eni su zna ajni kognitivni i bihevioralni poreme aji. Pomo u savremenih neurovizualizacionih metoda otkriveno je difuzno ošte enje sive i bele mase mozga koje leži u osnovi funkcionalnih poreme aja. Deo CNS promena u MD1 bio je povezan sa patologijom tau proteina i A 42. Pozitivna korelacija izme u nivoa tau proteina i A 42 u likvoru je specifi na za MD1 i može da predstavlja potencijalni biomarker ove bolesti.

KLJU NE RE I

miotoni na distrofija tipa 1 (MD1), neuropsihologija, bihevioralni poreme aji, magnetna rezonancija (MR), hiperintenzne lezije bele mase (HLBM), morfometrija zasnovana na vokselu (VBM), difuzioni tenzorski imidžing (DTI), transkranijalna sonografija (TCS), tau protein, beta amiloid

nau na oblast: medicina; **uža nau na oblast:** molekularna medicina, neurologija

ABSTRACT

Background: Myotonic dystrophy type 1 (DM1) is an autosomal dominant disease, that besides muscle affects many other tissues and organs, including the central nervous system. Brain manifestations in DM1 include neuropsychological and behavioral impairment. Development of modern neuroimaging and molecular medicine enables better insight in possible causes of the central nervous system involvement in DM1.

Aims: Assessment of neuropsychological and behavioral profile of DM1 patients, structural analysis of their brain and investigation of cerebrospinal fluid biomarkers of neurodegeneration.

Material and methods: Study comprised 66 genetically confirmed DM1 patients. Severity of muscle weakness was assessed using the Muscular Impairment Rating Scale (MIRS). Extensive battery of classic *pen and pencil* tests and Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB) were used. Following measures were also administered: Hamilton depression and anxiety scales, Millon Multiaxial Clinical Inventory (MMCI) for personality pattern, Daytime Sleepiness Scale (DSS) and Krupp's Fatigue Severity Scale (FSS). Magnetic resonance imaging on 1.5 T equipment was performed in patients and 38 healthy controls (HCs). Images were used for analysis of the white matter hyperintense lesions (WMHL) load, grey matter volume using voxel-based morphometry (VBM) and assessment of white matter tracts with diffusion tensor imaging (DTI). Transcranial sonography (TCS) was used for analysis of the brainstem midline structures in patients and 55 HCs. Cerebrospinal fluid levels of total and phosphorylated tau protein (T-tau and P-tau) as well as beta amyloid 42 (A 42) were analyzed in patients and 26 HCs using sandwich ELISA.

Results: Visuospatial dysfunction was observed in 80 % of DM1 patients, executive dysfunction in 67 % and naming was impaired in 62 %. Significant depressiveness was registered in 15 % and anxiety in 11 % of patients, excessive daytime sleepiness in 44 % and fatigue in 52 %. Clinically significant personality impairment was registered in 60 % of patients (dependent personality in 52 % and paranoid in 39 %). Worse results on certain neuropsychological and behavioral tests correlated with longer CTG expansion ($p < 0.05$). DM1 patients had higher WMHL load compared to HCs (0.30 ± 0.80 vs. 0.04 ± 0.10 ; $p < 0.01$). VBM showed decrease in grey matter volume in almost all parts of the brain, including cerebral cortex,

cerebellum, basal ganglia and thalami ($p < 0.05$). DTI showed decrease of fractional anisotropy in almost all white matter association fibers, callosal body, both internal and external capsules and in the brainstem ($p < 0.05$). In DM1 patients, more extensive white matter changes in the left hemisphere were in correlation with worse results on the *attention and orientation* subscore of the Addenbrooke's cognitive examination test ($p < 0.05$). TCS showed increased frequency of hypoechogenicity of the substantia nigra in DM1 patients compared to HCs (26 % vs. 11 %; $p < 0.01$), and also of the raphe nucleus (38 % vs. 8 %; $p < 0.01$). Presence of depressiveness and fatigue was in significant association with decreased echogenicity of the raphe ($p < 0.01$ and $p < 0.05$). We observed decreased level of A₄₂ in patients with juvenile DM1 (jDM1) compared to HCs (781.3 ± 226.4 ng/l vs. 947.3 ± 233.8 ng/l; $p < 0.05$), and decreased A₄₂/P-tau ratio in patients with adult DM1 (aDM1) (18.2 ± 5.3 vs. 23.2 ± 9.2 ; $p < 0.05$). Lower level of A₄₂ correlated with higher number of CTG repeats in jDM1 ($\rho = -0.53$; $p < 0.05$), while decrease of A₄₂/P-tau ratio correlated with patients age in aDM1 ($\rho = -0.30$; $p < 0.05$). Positive correlation between T-tau, P-tau and A₄₂ was observed in our cohort of DM1 patients ($p < 0.01$).

Conclusions: Significant cognitive and behavioral impairment was observed in our DM1 patients. Modern neuroimaging revealed diffuse abnormalities of the grey and white brain matters underlying functional changes. At least a part of the central manifestations in DM1 was associated with tau protein and A₄₂ pathology. Positive correlation between cerebrospinal fluid T-tau and A₄₂ is specific for DM1 and it might be a potential biomarker in this disease.

KEY WORDS

myotonic dystrophy type 1 (DM1), neuropsychology, behavior, magnetic resonance imaging (MRI), white matter hyperintense lesions (WMHL), voxel-based morphometry (VBM), diffusion tensor imaging (DTI), transcranial sonography (TCS), tau protein, beta amyloid

scientific area: medicine; **narrow area of expertise:** molecular medicine, neurology

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Istorijat.....	1
1.2. Epidemiologija MD1.....	2
1.3. Etiopatogeneza MD1.....	3
1.3.1. Molekularno-genetski mehanizmi u MD1.....	5
1.3.1.1. Uticaj CTG ponovaka na obradu preinformacione RNK (<i>trans</i> efekat).....	5
1.3.1.2. Ostale uloge CUGBP1 i MBNL1 proteina.....	8
1.3.1.3. Uloga ekspresije samog DMPK gena na patogenezu MD1 (<i>cis</i> efekat).....	9
1.3.1.4. Uloga ekspresije susednih gena na patogenezu MD1.....	9
1.3.1.5. Ostali molekularni mehanizmi uklju eni u patogenezu MD1.....	10
1.3.2. Nestabilnost ekspandiranih CTG ponovaka.....	11
1.3.3. Maternalni obrazac nasle ivanja kod kongenitalne forme MD1.....	12
1.4. Klini ka slika MD1.....	13
1.4.1.1. Kongenitalna MD1.....	13
1.4.1.2. De ja/juvenilna MD1.....	14
1.4.1.3. Adultna MD1.....	15
1.4.1.4. Kasna adultna MD1.....	15
1.4.2. Miši ne manifestacije.....	15
1.4.3. Oftalmološke manifestacije.....	18
1.4.4. Otološke manifestacije.....	19
1.4.5. Kardiološki poreme aji.....	19
1.4.6. Respiratorne komplikacije.....	21
1.4.7. Endokrinološki poreme aji.....	21
1.4.8. Gastroenterološki poreme aji.....	24
1.4.9. Poreme aji urinarnog trakta.....	25
1.4.10. Poreme aji koštano-zglobnog sistema.....	25
1.4.11. Kožne manifestacije.....	26
1.4.12. Kancerogeneza u MD1.....	26
1.4.13. Rizik od anestezije kod bolesnika sa MD1.....	27

1.4.14. Periferna neuropatija.....	27
1.4.15. Zahva enost centralnog nervnog sistema u MD1.....	27
1.4.15.1. Molekularna osnova zahva enosti centralnog nervnog sistema.....	28
1.4.15.2. Patohistološki nalaz na tkivu mozga bolesnika sa MD1.....	29
1.4.15.3. Neuropsihološki profil bolesnika.....	30
1.4.15.4. Psihijatrijski poreme taji.....	31
1.4.15.5. Pospanost i zamor.....	32
1.4.15.6. Neuroradiološki nalazi.....	33
1.4.15.7. Analiza biomarkera neurodegeneracije u likvoru bolesnika sa MD1.....	35
1.5. Dijagnostika MD1.....	35
1.5.1. Osnovne dijagnosti ke procedure.....	35
1.5.2. Dopunske dijagnosti ke procedure.....	36
1.5.3. Diferencijalna dijagnoza MD1.....	37
1.5.4. Prenatalna dijagnostika i genetsko savetovanje.....	38
1.6. Terapijski pristup u MD1.....	39
1.6.1. Simptomatska terapija i klini ki skrining.....	40
1.6.2. Genska terapija.....	45
1.7. Prognoza kod bolesnika sa MD1.....	48
2. CILJEVI.....	50
3. MATERIJAL I METODE.....	51
3.1. Molekularno-genetska dijagnostika.....	52
3.1.1. Izolovanje genomske DNK iz limfocita periferne krvi.....	52
3.1.2. <i>Southern blot</i> produkata dobijenih metodom <i>long-range small-pool</i> PCR.....	53
3.2. Analiza sociodemografskih i klini kih karakteristika bolesnika.....	55
3.3. Analiza potencijalnih faktora rizika za nastanak centralnih poreme taja u MD1.....	56
3.4. Neuropsihološko testiranje.....	59
3.4.1. Klasi no neuropsihološko testiranje.....	59
3.4.1.1. Primenjivani testovi.....	61
3.4.2. CANTAB.....	64

3.4.2.1.	Primenjivani testovi.....	65
3.5.	Psihijatrijsko ispitivanje.....	67
3.6.	Pospanost, zamor i sindrom nemirnih nogu.....	68
3.7.	Pregled mozga pomo u MR.....	69
3.7.1.	Tehni ki parametri MR.....	69
3.7.2.	Analiza snimaka dobijenih MR.....	69
3.7.2.1.	Odre ivanje optere enja hiperintenznim lezijama bele mase.....	70
3.7.2.2.	Morfometrija zasnovana na vokselu (VBM).....	70
3.7.2.3.	Difuzioni tenzorski imidžing (DTI).....	71
3.8.	Transkranijalna sonografija parenhima mozga.....	72
3.9.	Odre ivanje nivoa biomarkera neurodegeneracije u likvoru.....	73
3.10.	Ispitivanje kvaliteta života.....	74
3.11.	Statisti ka obrada podataka.....	75
4.	REZULTATI.....	77
4.1.	Sociodemografske i klini ke karakteristike ispitivanih bolesnika.....	77
4.2.	Rezultati molekularno-genetske analize.....	80
4.3.	Faktori rizika.....	81
4.4.	Neuropsihološko testiranje.....	85
4.4.1.	Klasi ni testovi.....	85
4.4.2.	CANTAB.....	88
4.4.3.	Faktori povezani sa neuropsihološkim nalazom kod bolesnika sa jMD1.....	90
4.4.4.	Faktori povezani sa neuropsihološkim nalazom kod bolesnika sa aMD1.....	91
4.5.	Psihijatrijsko ispitivanje.....	92
4.5.1.	Depresivnost i anksioznost.....	92
4.5.2.	Poreme aji li nosti.....	94
4.6.	Pospanost, zamor i sindrom nemirnih nogu.....	97
4.7.	Nalazi na MR mozga.....	99
4.7.1.	Optere enje hiperintenznim lezijama bele mase.....	101
4.7.2.	Morfometrija zasnovana na vokselu (VBM).....	104
4.7.3.	Difuzioni tenzorski imidžing (DTI).....	104

4.7.4. Povezanost nalaza na MR sa neuropsihološkim i bihevioralnim promenama.....	109
4.8. Transkranijalna sonografija moždanog parenhima.....	110
4.9. Nivo biomarkera neurodegeneracije u likvoru.....	113
4.10. Kvalitet života kod bolesnika sa MD1.....	117
4.10.1. Faktori koji uti u na kvalitet života kod bolesnika sa jMD1.....	120
4.10.2. Faktori koji uti u na kvalitet života kod bolesnika sa aMD1.....	122
5. DISKUSIJA.....	126
5.1. Klini ke i molekularno-genetske karakteristike ispitivanih bolesnika sa MD1.....	126
5.2. Analiza potencijalnih faktora rizika za nastanak centralnih poreme aja u MD1.....	128
5.3. Neuropsihološki profil bolesnika sa MD1.....	132
5.4. Psihijatrijsko ispitivanje.....	143
5.4.1. Anksioznost i depresivnost.....	143
5.4.2. Poreme aji li nosti.....	148
5.5. Pospanost i zamor.....	151
5.6. MR mozga kod bolesnika sa MD1.....	155
5.7. Transkranijalna sonografija moždanog parenhima.....	161
5.8. Nivo biomarkera neurodegeneracije u likvoru.....	163
5.9. Kvalitet života kod bolesnika sa MD1.....	167
6. ZAKLJU CI.....	172
7. LITERATURA.....	175
8. SPISAK SKRA ENICA.....	214
9. BIOGRAFIJA.....	219

1. UVOD

Miotoni na distrofija tip 1 (MD1) je autozomno-dominantno nasledno, sporo progresivno multisistemsko oboljenje, koje se klinički manifestuje hipotrofijom i slaboš u mišića, miotonijom, kataraktom, poremećajima srčanog sprovođenja i ritma, endokrinopatijom, poremećajima gastrointestinalnog i respiratornog trakta, kao i zahvatanjem perifernog i centralnog nervnog sistema (Harper 2001).

1.1. Istorijat MD1

Hans Gustav Wilhelm Steinert (1875-1911), internista i profesor na Univerzitetu u Lajpcigu, objavio je 1909. godine rad pod nazivom „O kliničkom i anatomskom ispoljavanju mišićne atrofije kod bolesnika sa miotonijom“ (Wagner et Steinberg 2008, Steinert 1909). Ovu novu bolest je nazvao miotoni na distrofija opisujući i do detalja karakterističnu distribuciju hipotrofija i slabosti mišića sa miotoničnim fenomenima i endokrinološkim poremećajima (Romeo 2012, Wagner et Steinberg 2008, Steinert 1909).

Griffith 1911. godine po prvi put opisuje ekstremnu bradikardiju kod pojedinih pacijenata sa miotoničnom distrofijom (Romeo 2012).

Bolest je 1912. godine po prvi put nazvana Steinertova bolest u publikaciji objavljenj od strane Hansa Curschmanna, Steinertovog kolege i velikog prijatelja (Curschmann 1912). U ovoj publikaciji Curschmann ukazuje i na pojavu katarakte i niže inteligencije u sklopu ovog multisistemskog oboljenja (Curschmann 1912).

Fleischer 1918. godine opisuje autozomno-dominantno nasleđivanje mišićnih smetnji i katarakte (Romeo 2012, Harper 2001).

Genetska osnova bolesti ustanovljena je 1992. godine na Masa usetskom institutu za tehnologiju (*Massachusetts Institute of Technology*) kada je otkriveno da je miotoni na distrofija posledica ekspanzije mikrosatelitskih CTG ponovaka u 3' regionu gena koji kodira protein kinazu miotoni ne distrofije (*dystrophia myotonica protein kinase*, DMPK), enzim iz familije serin treonin kinaza. Identifikovani gen je mapiran na hromozomskom lokusu 19q13.3 (Brook et al. 1992, Fu et al. 1992, Mahadevan et al. 1992).

Dve godine kasnije, grupa istraživača opisuje multisistemski autozomno-dominantni poremećaj sličan Steinertovoj bolesti, ali bez mutacije u DMPK genu (Thornton et al. 1994). Potom je opisan i miotonični poremećaj sa dominantnom slaboš u proksimalnih mišića i nogu i

odsustvom mutacije u DMPK genu, a bolest je označena kao proksimalna miotonična miopatija (PROMM) (Ricker et al. 1994), odnosno proksimalna miotonična distrofija (PROMD) (Udd et al. 1997). Na Univerzitetu u Minesoti 1998. godine gen za PROMM/PROMD mapiran je na hromozomskom lokusu 3q21 (Ranum et al. 1998). Kasnija istraživanja na istom univerzitetu su pokazala da je bolest posledica ekspanzije CCTG ponovaka u prvom intronu gena koji kodira *zink-finger protein 9* (ZNF9) (Liquori et al. 2001).

Međunarodni konzorcijum za miotoničnu distrofiju revidirao je 2000. godine kliničku nomenklaturu - slučajevi oboljenja sa mutacijom na lokusu 19q13.3 označeni su kao miotonična distrofija tipa 1 (MD1), oni sa mutacijom na lokusu 3q21 kao miotonična distrofija tipa 2 (MD2), dok bi se novootkriveni lokusi dalje označavali brojevima po redu, kao MD3, MD4 itd (The International Myotonic Dystrophy Consortium 2000).

1.2. Epidemiologija miotonične distrofije tip 1

MD1 je najčešća forma miotonične distrofije kod odraslih osoba (Harper 2001, Emery et al. 2001).

MD1 se javlja sa podjednako u oba pola i sa kliničkom prevalencijom od 1 do 20 obolelih na 100000 stanovnika u populaciji bele rase (Harper 2011). Veliki broj starijih bolesnika, kao i onih sa blagom formom bolesti, ostaje nedijagnostikovano te se pretpostavlja da je prevalencija u opštoj populaciji veća (Udd et Krahe 2012). Visoka prevalencija bolesti opisuje se u pojedinim regijama, uključujući i Baskiju u Španiji (26,5 obolelih na 100000 stanovnika), region Norrbotten u severnoj Švedskoj (36,5 na 100000), ostrvo Guam (preko 75,3 na 100000), kao i region Saguenay-Lac St. Jean u državi Kvebek u Kanadi (189/100000) (Harper 2001, Lopez de Munain et al. 1993, Rolander et Floderus 1961, Chen et al. 1968, Mathieu et al. 1990) što može biti posledica prisustva osnivača mutacije (*founder effect*) ili posledica genetske izolovanosti populacije (Yotova et al. 2005).

U poređenju sa belom rasom, uestalost bolesti je manja u Indiji, kao i u populacijama žute i crne rase (Basu et al. 2001, Yamagata et al. 1998, Ashizawa et Epstein 1991, Emery et al. 1991). U Japanu je prevalencija 1 do 9 na 100000 stanovnika (Yamagata et al. 1998, Ashizawa et Epstein 1991, Nakagawa et al. 1991). Bolest je još ređa u jugoistočnoj Aziji, a na Tajvanu prevalencija iznosi samo 0,46 obolelih na 100000 stanovnika (Ashizawa et Epstein 1991, Hsiao et al. 2003). Do sada je opisan samo jedan rodoslov sa MD1 u crnoj populaciji u supsaharskoj

Africi (Krahe et al. 1995, Goldman et al. 1996), dok je prevalencija MD1 kod Afroamerikanaca oko 5 na 100000 (Harper 2001, Emery et al. 1991).

Sirova prevalencija MD1 u Beogradu na dan 31. decembra 2002. godine bila je 5,3 obolelih na 100000 stanovnika (Mladenovic et al. 2006). Pretpostavlja se da bi broj bolesnika sa MD1 bio veći kad bi se uključili i oligosimptomatski slučajevi i kada bi se primenila molekularno-genetska analiza kod svih članova porodice obolelog.

1.3. Etiopatogeneza MD1

MD1 je bolest koja se nasleđuje autozomno-dominantno, a nastaje usled ekspanzije trinukleotidnih CTG ponovaka na hromozomskom lokusu 19q13.3 u 3' nekodirajućoj sekvenci (3' *untranslated region*, 3'UTR) DMPK gena (Brook et al. 1992).

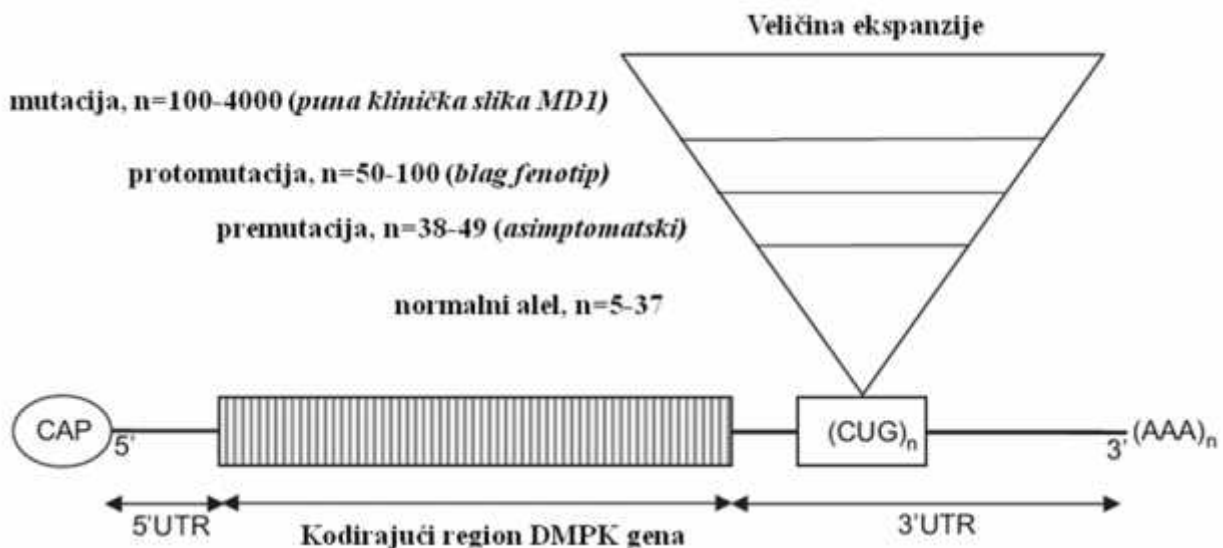
Analize vezanosti DNK markera koje su pokazale neravnotežu (*linkage disequilibrium*) ukazuju da je kod MD1 prisutan efekat jednog ili nekoliko osnovnih mutacija i da se mutacija odigrala na haplotipu koji je, inače, najzastupljeniji u opštoj zdravoj populaciji (Neville et al. 1994). Smatra se da se mutacija javila posle migracije prvobitnog plemena iz Afrike, pre oko 120000 do 60000 godina (Ashizawa et Epstein 1991). Tome u prilog ide i činjenica da je opisan samo jedan rodoslov sa MD1 u supsaharskoj Africi (Krahe et al. 1995, Goldman et al. 1996).

Zdrave osobe imaju 5 do 37 CTG ponovaka u DMPK genu, dok se kod obolelih od MD1 broj ovih ponovaka kreće od 50 do 4000 (Ashizawa et Epstein 2011) (Slika 1). Veći broj CTG ponovaka globalno je povezan sa težom kliničkom slikom (Ashizawa et Epstein 2011) i ranijim početkom bolesti (Udd et Krahe 2012, Savic et al. 2002). Druge genotipsko-fenotipske korelacije u MD1 se navode nekonzistentno, najverovatnije zbog nepreciznih podataka o fenotipskim karakteristikama i zbog različitog nivoa somatske nestabilnosti mutiranog alela u različitim tkivima (Wong et al. 1995, Higham et al. 2012, Udd et Krahe 2012).

Zdrave osobe mogu da nose tzv. mali normalni alel sa 5 do 18 ponovaka ili veliki normalni alel sa 19 do 37 ponovaka (Huang et Kuo 2005). Osobe koje nose jedan mali i jedan veliki normalni alel preferencijalno potomstvu prenose veliki alel što se označava kao *fenomen segregacione distorzije* (Carey et al. 1994). Osobe sa 38-49 CTG ponovaka imaju *premutaciju*, tj. nemaju simptome bolesti, ali s obzirom na nestabilnost CTG polinukleotida u mejozi, njihovo potomstvo nosi rizik da ima preko 50 ponovaka. Ovakva kritična ekspanzija trinukleotidnog niza od premutacije ka patološkom broju ponovaka ponekad se naziva *tranziciona mutacija*

(Martorell et al. 2001, Lavedan et al. 1993). Osobe sa 50 do 100 CTG ponovaka smatraju se nosiocem *protomutacije* i obi no ispoljavaju blage simptome bolesti (Udd et Krahe 2012). Male ekspanzije sa 50 do 70 ponovaka mogu se prenositi na nekoliko slede ih generacija bez zna ajnih promena (Barceló et al. 1993, Simmons et al. 1998), dok broj ponovaka preko 80 nosi veliki rizik od zna ajne genetske anticipacije (Huang et Kuo 2005).

Slika 1. Odnos fenotipa i broja CUG ponovaka u preinformacionoj RNK prepisanoj sa DMPK gena



DMPK gen i njegov primarni prepis; UTR (untranslated regions) - regioni koji se ne prevode; prilago eno prema Turner et Hilton-Jones 2010.

Nedavno je otkriveno i prisustvo tzv. varijantnih ponovaka poput CCG ili GGC, koji se interponiraju u CTG niz kod oko 4 % bolesnika sa MD1 što može uticati i na dinamiku mutacije i na fenotipske manifestacije bolesti (Braidia et al. 2010). Ponekad su varijantni ponovci prisutni samo u odre enom tkivu (Axford et al. 2011).

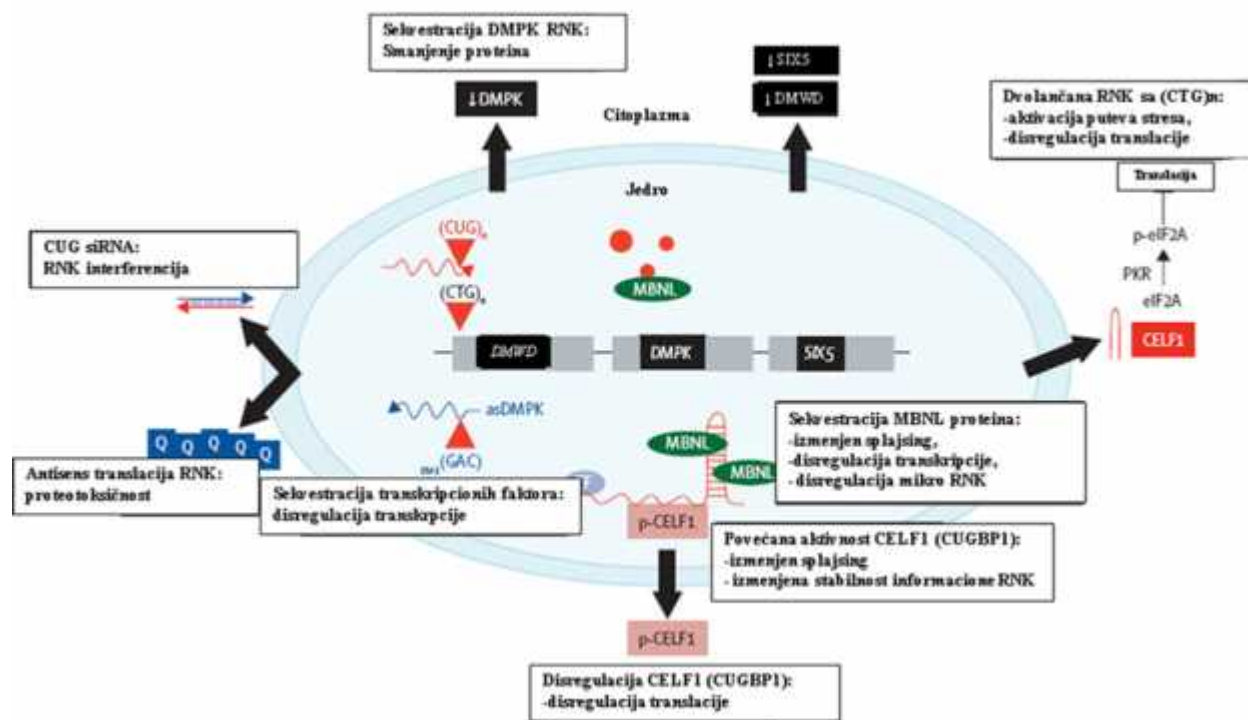
S obzirom na to da se radi o autozomno-dominantnoj bolesti, jasno je da je dovoljna mutacija samo u maj inom ili o evom alelu da bi došlo do razvoja MD1, ali su opisivani i retki slu ajevi homozigota sa mutacijom u DMPK genu (Cobo et al. 1993, Martorell et al. 1996, Abbruzzese et al. 2002, Zühlke et al. 2007, Cerghet et al. 2008). Na osnovu u estalosti bolesti u opštoj populaciji, pojava homozigota se o ekuje kod jedne osobe na 256000000 stanovnika, pa

se homozignost naj eš e javlja kao posledica konsangviniteta (Zühlke et al. 2007). Klini ka slika kod opisanih homozigota naj eš e se ne razlikuje u odnosu na heterozigote i ide od asimptomatske do teške, kongenitalne forme bolesti (Zühlke et al. 2007). Dakle, MD1 je *prava* dominantno nasledna bolest kod koje se ne razlikuje klini ka slika kod homozigota i heterozigota (Cerghet et al. 2008).

1.3.1. Molekularno-genetski mehanizmi u MD1

Smatra se da je osnovni mehanizam odgovoran za nastanak bolesti zapravo formiranje toksine RNK koja uti e na obradu razli itih primarnih prepisa RNK, a da manji uticaj može imati smanjena ekspresija samog DMPK gena i susednih gena poput SIX5 i DMWD (Slika 2).

Slika 2. Molekularni mehanizmi u osnovi MD1



prilago eno prema Udd et Krahe 2012.

1.3.1.1. Uticaj CTG ponovaka na obradu preinformacione RNK (*trans* efekat)

Usled pove anog broja CTG ponovaka u DMPK genu, transkripcijom nastaje mutirana RNK što se smatra neophodnim i dovoljnim uslovom za nastanak MD1 (Mankodi et al. 2000, de

Haro et al. 2006). Mutirana RNK sadrži veliki broj CUG ponovaka i akumulira se u jedru u tzv. ribonukleinskim fokusima (Taneja et al. 1995), posledi no uti u i na RNK vezuju e proteine iz grupe transkripcionih faktora i regulatora obrade primarnog prepisa tj. splajsinga (*splicing*). To se prvenstveno odnosi na CUG vezuju i protein (CUGBP1 ili CELF1, lan 1 *Elav-like* porodice) i proteine iz porodice MBNL (*muscle blind like*), od kojih je najvažniji MBNL1 (Klein et al. 2011, Osborne et al. 2006, Machuca-Tzili et al. 2011). Dakle, patološka RNK svojim deponovanjem dovodi do efekta *toksi nog poja anja funkcije (toxic gain-of-function)* (Day et Ranum 2005).

Sekvestracija MBNL1 proteina u ribonuklearnim fokusima dovodi do smanjenja njegove aktivnosti u jedru (Fardaei et al. 2002, Mankodi et al. 2003, Jiang et al. 2004, Lin et al. 2006). Sa druge strane, utvr eno je da se CUGBP1 ne nalazi u fokusima patološke RNK, tj. ne kolokalizuje sa njima (Fardaei et al. 2002, Mankodi et al. 2003, Jiang et al. 2004). Dokazano je da je kod bolesnika sa MD1 pove an nivo stabilnog oblika CUGBP1 proteina usled njegove hiperfosforilacije pomo u razli itih kinaza, uklju uju i protein kinazu C, AKT1, ciklin D3, ciklin-zavisnu kinazu 4, kinazu 3 beta glikogen sintaze i protein kinazu zavisnu od dvostrukog lanca RNK (PKR) (de Haro et al. 2006, Udd et Krahe 2012). Smatra se i da nedostatak adekvatnog insulinskog receptora u MD1 može doprineti prekomernoj fosforilaciji CUGBP1 proteina (Johnson et Heatwole 2012).

Kod zdravih ljudi, obrazac splajsovanja se menja u zavisnosti od tkiva i faze razvoja. Ovaj alternativni splajsing ima klju ni uticaj na razli ite elijske funkcije i u fiziološkom i u patološkom stanju (Pistoni et al. 2010). Zanimljiivo je da je skeletni miši jedno od tkiva sa najraznovrsnijim repertoarom alternativne obrade RNK, razli itog na ina iskrajanja introna i povezivanja egzona (Pistoni et al. 2010). MBNL1 i CUGBP1 imaju važnu ulogu u splajsinu primarnog prepisa RNK deluju i antagonisti ki. Naime, MBNL1 usmerava obradu u pravcu stvaranja adultnih formi proteina, dok CUGBP1 stimuliše embrionalne forme tako da smanjena aktivnost MBNL1 i pove ana aktivnost CUGBP1 u MD1 jasno vodi predominaciji embrionalnih formi razli itih proteina.

Do sada je identifikovano više od 30 gena kod kojih je ošte en splajsing u MD1 (Udd et Krahe 2012, de Haro et al. 2006). Zato se MD1 ozna ava kao *splajsopatija* (Botta et al. 2007). Ovakav na in nasle ivanja kod koga mutacija u nekodiraju im sekvencama jednog gena dovodi do ošte enja proteina kodiranih od strane drugih gena ozna ava se kao *trans* dominantni. Na ovaj

na in se može objasniti multisistemski karakter MD1 (Osborne et Thornton 2006, Du et al. 2010).

Ošte en splajsing primarnog prepisa RNK za protein CLCN1 dovodi do pojave nefunkcionalnih transkripta hlornog kanala koji sadrže region izme u egzona 6 i 7, tzv. egzon 7a, ime se jasno može objasniti miotonija (Charlet-B et al. 2002, Mankodi et al. 2002, Wheeler et al. 2007). Ošte en splajsing za insulinski receptor dovodi do dominacije receptora tipa A kom nedostaje egzon 11 i koji je normalno eksprimiran u nezrelim mišima što se povezuje sa pojavom insulinske rezistencije u MD1 (Savkur et al. 2001). Srani troponin (TNT) kod bolesnika sa MD1 je fetalnog tipa sa uključenjem egzona 5 što može biti uzrok aritmogene kardiopatije (Philips et al. 1998). Izmenjeni tau protein, beta amiloid i NMDA receptor mogu delom objasniti kognitivne promene, dok se samo pretpostavlja uloga izmenjenog miotubularin srodnog proteina 1 u nastanku mišinih hipotrofija i slabosti kod kongenitalne MD1 (Philips et al. 1998, Buj-Bello et al. 2002, Romeo 2012). Ošte en splajsing egzona 11 gena za amfifizin povezuje se sa miotubularnim defektom, pojavom centralnih nukleusa u miocitima i sa razvojnom slabošću u i hipotonijom u kongenitalnoj formi MD1 (Fugier 2011, Udd et Krahe 2012). Izmenjeni splajsing 29. egzona za kalcijumski kanal (CaV1.1) dovodi se u vezu sa mišinom slabošću u i izmenjenim transportom kalcijuma (Tang et al. 2012). Registrovan je i ošte en splajsing za druge mišine proteine, kao što su rijanodinski receptor 1 skeletnog mišinih, ZASP protein Z-diska, kalcijumska ATPaza sarkoplazmatskog/endoplazmatskog retikuluma (SERCA), LIM domen vezuju i protein 3, miomezin i nemišini miozinski teški lanac 14 (Kimura et al. 2005, Mankodi et al. 2005, Lin et al. 2006, Vihola et al. 2010, Koebis et al. 2011, Rinaldi et al. 2012). Pokazano je da je kod bolesnika sa MD1 izmenjen i splajsing za sam MBNL1 protein u smislu većeg prisustva forme koja sadrži egzon 7 (Lin et al. 2006). Aberantan splajsing za druge proteine za sada se ne može povezati sa jasnim korelatima u klinici (Udd et Krahe 2012), a još uvek nema konkretnih dokaza da je ovaj mehanizam odgovoran za simptome poput katarakte i gonadalne disfunkcije (Romeo 2012).

Zanimljivo je da se na modelu transgenog miša sa povećanim brojem CTG ponovaka u DMPK genu uoči stvaranje toksičnih fokusa RNK, posledično promena aktivnosti MBNL1 i/ili CUGBP1 proteina, pojave oštećenog splajsinga i pojedinih, ali ne svih, simptoma i znakova MD1 (Seznec et al. 2000, Mankodi et al. 2000, Lin et al. 2006, Osborne et al. 2009). Nadoknada MBNL1 proteina kod HSA^{LR} miševa sa 250 CTG ponovaka u DMPK genu dovodi do smanjenja

miotonije i koriguje splajsing različitih proteina, ali ne dovodi do poboljšanja histoloških abnormalnosti u miši u kojima se ukazuje na to da miš na degeneracija nije povezana samo sa gubitkom aktivnosti MBNL1 proteina (Kanadia et al. 2006). Interesantno je da kod transgenog modela miša sa pet CTG ponovaka u DMPK genu ne dolazi do pojave fokusa toksin RNK, ali se javlja povećana aktivnost CUGBP1 proteina, umereno oštećenje splajsinga i fenotip sličan MD1 sa pojavom miotonije, miopatije i poremećaja srčanog sprovođenja (Mahadevan et al. 2006). Transgeni animalni model kod kojeg postoji povećana ekspresija CUGBP1 proteina, kao i *knock-out* model kod kojeg ne postoji MBNL1 ili MBNL2 protein, ne dovode do pojave fokusa toksin RNK, ali daju izmenjen splajsing RNK za pojedine proteine i dovode do kliničke slike slične MD1 (Kanadia et al. 2003, Ho et al. 2005, Hao et al. 2008, Du et al. 2010).

Najnovije studije pokazuju da i neki drugi RNK-vezujući proteini, pored MBNL porodice i CUGBP1, mogu imati ulogu u patogenezi MD1 (Mahadevan 2012).

Treba imati na umu da aberantni splajsing nije tipičan samo za miotoničnu distrofiju, već se javlja i u drugim neuromišnim bolestima i pri povredi mišićnog tkiva (Bachinski et al. 2010). Dokazano je, naime, da se embrionalne forme *myocyte enhancer proteina 2A* i *2C* javljaju i kod drugih neuromišnih bolesti, što pokazuje da nisu svi mehanizmi aberantnog splajsinga primarno vezani za mutaciju u DMPK genu, već da mogu biti i kompenzatorni (Orengo et al. 2011).

1.3.1.2. Ostale uloge CUGBP1 i MBNL1 proteina

Bitno je napomenuti da CUGBP1 i MBNL1 nemaju samo ulogu u alternativnom splajsinu, već da učestvuju i u održavanju stabilnosti i transportu RNK, kao i u započinjanju translacije (Udd et Krahe 2012) što može biti deo molekularnih mehanizama odgovornih za nastanak MD1.

CUGBP1 je glavni regulator razgradnje informacione RNK (Lee et Cooper 2010) i ima ulogu u inicijaciji translacije u citoplazmi (Schneider-Gold et Timchenko 2010). Povećana aktivnost CUGBP1 posledično povećava translaciju proteina neophodnih za miogenezu, posebno *myocyte enhancer proteina 2A* i proteina p21 (1A inhibitor ciklin zavisne kinaze) (Timchenko et al. 2001).

1.3.1.3. Uloga ekspresije samog DMPK gena na patogenezu MD1 (*cis* efekat)

Efekat ekspanzije CTG ponovaka na ekspresiju samog DMPK gena označava se kao *cis* efekat (Botta et al. 2008). DMPK je mahom eksprimirana u skeletnom i srčanom mišiću, a u manjoj mjeri i u glatkom mišiću (Lam et al. 2000). Ekspanzija CTG ponovaka utiče na nivo informacione RNK prepisane sa DMPK alela i dovodi do smanjene koncentracije DMPK proteina zbog zadržavanja transkripta u jedru i smanjenog nivoa njegove posttranskripcione obrade (Krahe et al. 1995, Furling et al. 2001). Pokazano je da je nivo zrele iRNK za DMPK u citoplazmi mijenja se povećanim brojem CTG ponovaka smanjen za 20-50 %, dok je nivo u jedru sličan nivou u zdravim mišićima što ukazuje na kompleksne mehanizme uključene u obradu transkripta (Alwazzan et al. 1999).

Animalni *knock-out* model sa haploinsuficijencijom DMPK gena ne daje puni fenotip MD1 (Jansen et al. 1996, Berul et al. 2000). Javljaju se poremećaji homeostaze, kao i blaga miopatija, poremećaji srčanog sprovođenja i smanjena osetljivost na insulin, ali tek kod starijih miševa (Kaliman et al. 2008). Ovaj model jasno govori u prilog tome da DMPK haploinsuficijencija može biti uključena u patogenezu MD1, ali da nije primarni patogenetski mehanizam u ovoj bolesti.

1.3.1.4. Uloga ekspresije susjednih gena na patogenezu MD1

Zanimljivo je otkriveno da mesto CTG ekspanzije u DMPK genu čini 5' kraj susjednog SIX5 gena, koji je ranije označavan i kao DMAHP (*DM associated homeodomain protein*) gen (Lam et al. 2000). U animalnom *knock-out* modelu sa nedostatkom SIX5 gena na jednom alelu javljaju se samo pojedini simptomi i znaci MD1 poput katarakte, smanjenog fertiliteta kod mužjaka i poremećaji srčanog sprovođenja (Sarkar et al. 2000, Wakimoto et al. 2002, Sarkar et al. 2004), što ukazuje da SIX5 haploinsuficijencija učestvuje u nastanku kliničke slike MD1, ali da nije jedini niti osnovni patogenetski mehanizam odgovoran za nastanak bolesti.

DMWD (*dystrophia myotonica-containing WD repeat motif*) gen se nalazi uzvodno od DMPK gena i njegova ekspresija takođe može biti pod uticajem ekspanzije CTG ponovaka (Jansen et al. 1995). Smatra se da bi izmenjena transkripcija sa DMWD gena mogla eventualno biti uključena u razvoj mentalnih i testikularnih simptoma kod bolesnika sa težom formom MD1 (Westerlaken et al. 2003).

1.3.1.5. Ostali molekularni mehanizmi uključeni u patogenezu MD1

Kod bolesnika sa MD1 registruje se smanjenje ili povećanje koncentracije nekoliko mikroRNK (miR) molekula specifičnih za miši što verovatno doprinosi sveukupnom fenotipu (Rau et al. 2011). Smanjena aktivnost miR-1 u srčanom mišiću kod bolesnika sa MD1 dovodi do disregulacije *gap junction* proteina alfa 1 (koneksin 43) i kalcijumskog kanala (Rau et al. 2011).

Toksični RNK molekuli bogati CUG ponovcima formiraju dvolanane ukosnice, koje razgrađuje ribonukleaza DICER1 (Krol et al. 2007). Mali nizovi od sedam CUG ponovaka nastali ovom razgradnjom predstavljaju kratke interferirajuće RNK molekule (siRNK) koji dovode do smanjenja nivoa specifičnih transkriptata koji sadrže komplementarne ponovke (Krol et al. 2007).

Iznenadujuće je otkriveno da informaciona RNK koja sadrži mikrosatelitne nizove može da bude matrica za antisens translaciju, što podrazumeva prevođenje genetičke informacije u smeru suprotnom od okevanog, i to bez prisustva startnog kodona (*repeat-associated non-ATG translation, RAN translation*). Ovaj fenomen je dokazan i kod MD1, i dovodi do nastanka poliglutaminskog peptida u kulturi ćelija, ali i u animalnom modelu i kod bolesnika (Zu et al. 2011). Uticaj ovih peptida na klinički fenotip u MD1 još uvek nije poznat (Zu et al. 2011).

PKR prepoznaje dvolanane nizove CUG ponovaka i aktivira nekoliko ćelijskih odgovora na stres (Huichalaf et al. 2010), uključujući i imuni odgovor i interferonsko signaliziranje koje je povezano sa nastankom katarakte (Rhodes et al. 2012). Aktivacija PKR vodi do inaktivacije eukariotskog faktora inicijacije translacije 2A (eIF2A) što globalno dovodi do inhibicije translacije. U skladu sa tim je nalaz smanjene sinteze proteina *in vivo* u mišićima bolesnika sa MD1, što može biti povezano sa hipotrofijom mišića (Halliday et al. 1985). Potencijalna posledica smanjene translacije jeste gomilanje neiskorišćenih informacionih RNK i neobrađenih proteinskih intermedijera (Udd et al. 2012). Formiraju se PKR-zavisne stres granule u kojima se može deponovati i MBNL1 protein (Onishi et al. 2008). Prolongirana aktivacija PKR i posledična inaktivacija eIF2A vode pojavi stresa u endoplazmatskom retikulumu, koji je potvrđen u MD1, i može rezultovati blokadom inicijacije translacije ili apoptozom što vodi mišićnoj atrofiji i pojavi slabosti (Ikezoe et al. 2007).

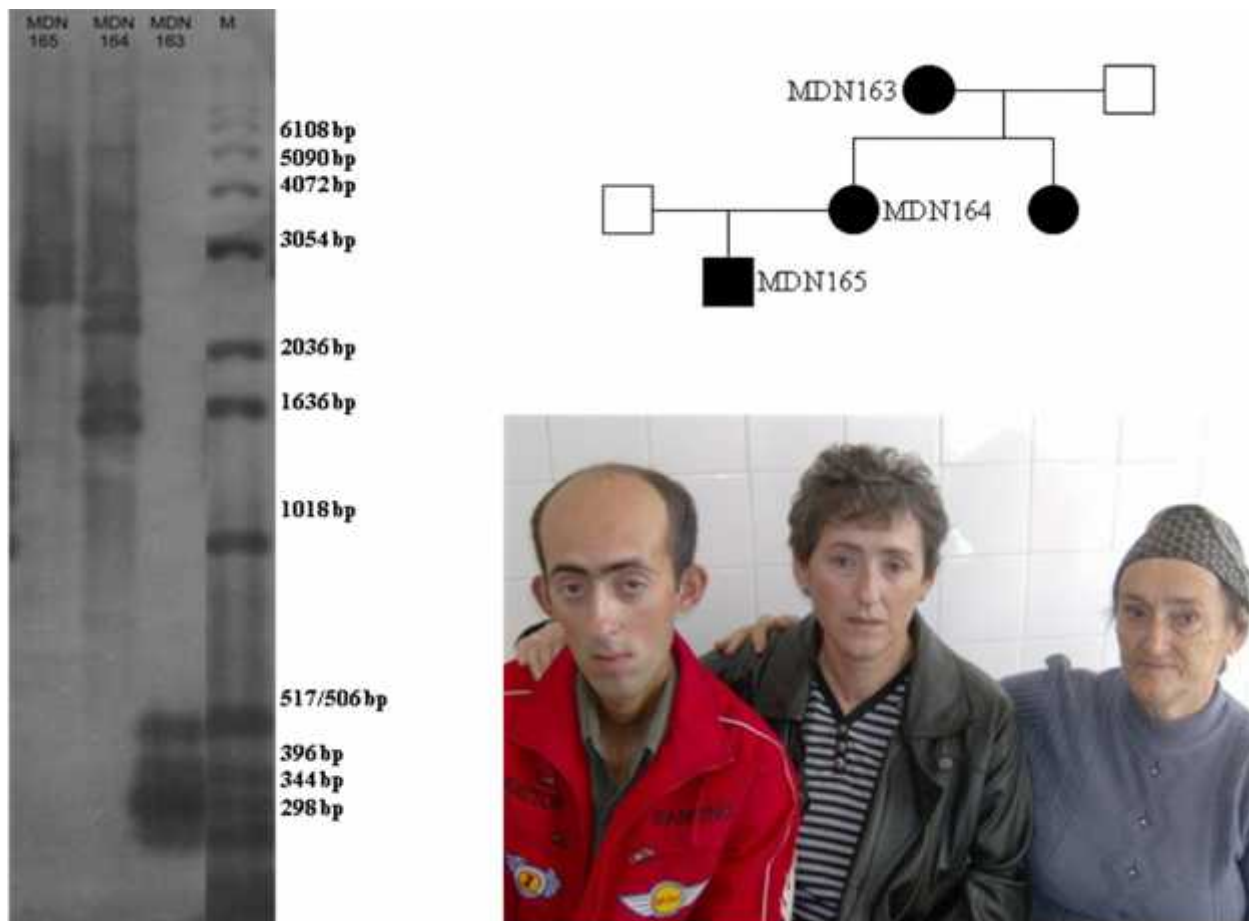
1.3.2. Nestabilnost ekspanziranih CTG ponovaka

Mutacija koja dovodi do MD1 ubraja se u grupu dinamičkih mutacija, jer niz CTG ponovaka u okviru DMPK gena ima stalnu tendenciju da se ekspanduje i kontrahuje. Matematički model baziran na analizi DNK ekstrahirane iz leukocita periferne krvi bolesnika sa MD1 pokazao je da postoji tendencija ka ekspanziji broja CTG ponovaka u vremenu. Ova pojava je rezultant mnogobrojnih ekspanzija i kontrakcija koje se dešavaju veoma često, najverovatnije svakog drugog dana (Higham et al. 2012). Navedena ekspanzija je posledica nedaekvatne reparacije i transkripcije DNK, a ne posledica novih grešaka u replikaciji što objašnjava i činjenicu da se somatska nestabilnost broja ponovaka registruje i u tkivima koja su mitotički neaktivna (Higham et al. 2012).

Klasici ni pojam mitotičke nestabilnosti u svakom slučaju trpi promene, ali bez obzira na precizan molekularni mehanizam, njegova posledica je *somatski mozaicizam*, tj. heterogenost u veličini alela u različitim tipovima ćelija i tkiva (Lavedan et al. 1993, Wong et al. 1995, Martorell et al. 1998). Broj CTG ponovaka je npr. veći u korteksu velikog mozga i u skeletnom mišiću nego u limfocitima periferne krvi (Ashizawa et al. 1993, Botta et al. 2008). Najizraženija heterogenost u veličini alela kod adultne forme MD1 javlja se u predelu sive moždane mase i u limfocitima, nešto je manja u skeletnim mišićima, a najmanje je izražena u cerebelumu (Thornton et al. 1994, Itoh et al. 2010). Smatra se da je somatska nestabilnost genetski uslovljena i da može biti povezana sa specifičnim genskim modifikatorima, koji imaju ulogu i u kancerogenezi i starenju (Morales et al. 2012).

Karakteristika MD1 je da se broj CTG ponovaka po pravilu povećava u svakoj narednoj generaciji što se označava kao *fenomen genetske anticipacije*. Ovaj fenomen je prisutan i kod drugih bolesti trinukleotidnih ponovaka, ali je najizraženiji upravo kod MD1 (Rakocevic-Stojanovic et al. 2005) (Slika 3). Fenomen genetske anticipacije je najverovatnije delom posledica mehanizma nestabilnosti ekspanziranih CTG ponovaka u germinativnim ćelijama (Ashizawa et al. 2011). Sa povećanjem broja ponovaka, bolest se manifestuje u sve ranijem životnom dobu i sve težom kliničkom slikom (Rakocevic-Stojanovic et al. 2005), a ova korelacija je značajnija kod osoba sa manje od 400 ponovaka (Hamshere et al. 1999).

Slika 3. Fenomen anticipacije



Fenomen anticipacije podrazumeva povećanje broja CTG ponovaka u DMPK genu pri prenošenju bolesti na potomstvo, uz sve težu kliničku sliku i ranije javljanje bolesti kod potomaka. MDN163 – žena iz prve generacije sa oko 90 CTG ponovaka na Southern blotu, kao jedini simptom MD1 u sedmoj deceniji ima kataraktu; MDN164 – erka bolesnice MDN163, ima oko 800 CTG ponovaka, simptomi su se javili sa 25 godina života; MDN165 – sin bolesnice MDN164, ima oko 1000 ponovaka i juvenilnu formu MD1 sa početkom u sedmoj godini života i sa redukovanom inteligencijom

1.3.3. Maternalni obrazac nasleđivanja kod kongenitalne forme MD1

MD1 se sa približno podjednako učestalošću nasleđuje od oba roditelja, sa izuzetkom kongenitalne forme bolesti, koja se nasleđuje skoro isključivo po maternalnom obrascu što je odraz polnih razlika u nestabilnosti ponovaka u germinativnim ćelijama (Monckton et al. 1995,

Martorell et al. 2004). Ukoliko žena ima manje od 300 CTG ponovaka, rizik da dete dobije kongenitalni oblik MD1 je 10 % (Cobo et al. 1995). Ukoliko ima više od 300 CTG ponovaka, rizik je znatno veći i iznosi oko 60 % (Cobo et al. 1995, Martorell et al. 2007).

Opisano je svega nekoliko slučajeva kongenitalne forme MD1 nasleđene od oca (Ohya et al. 1994, Nakagawa et al. 1994, Bergoffen et al. 1994, de Die-Smulders et al. 1997, Tanaka et al. 2000, Zeesman et al. 2002, Di Costanzo et al. 2009). Smatra se da spermatozoidi ne mogu da prenesu više od 1000 CTG ponovaka, a uzroci tome su mogući toksični efekat ponovaka i negativna selekcija (Turner et Hilton-Jones 2010).

1.4. Klinička slika MD1

MD1 karakteriše plejotropno zahvatanje tkiva i organa, uključujući i skeletne i glatke mišiće, srce, oko, endokrini, gastrointestinalni, respiratorni i koštano-zglobni sistem, kao i periferni i centralni nervni sistem.

Uzimajući u obzir uzrast osobe na početku bolesti kao i broj CTG ponovaka, MD1 se klasifikuje u 4 forme: kongenitalna MD1, dečja/juvenilna MD1, adultna (klasična) MD1 i kasna adultna (oligosimptomatska) MD1 (Arsenault et al. 2006).

1.4.1.1. Kongenitalna MD1

Kongenitalna MD1 (kMD1) je najteža forma bolesti i nasleđuje se skoro isključivo od obolele majke (Udd et Krahe 2012). Oboleli imaju preko 1000 CTG ponovaka (Udd et Krahe 2012).

Prvi simptomi se javljaju još prenatalno u vidu redukovanih fetalnih pokreta, polihidramniona i različitih deformiteta vidljivih na ultrazvučnom pregledu (Zaki 2007).

Obolela deca imaju izraženu generalizovanu hipotoniju vešna rođenju (*floppy baby*) (Harper 2001, Ashizawa et Sarkar 2011). Naglašena slabost mišića dovodi do karakterističnog izgleda gornje usne u obliku šatora ili obrnutog slova V, a postoji su i deformiteti stopala (Harper 2001, Turner et Hilton-Jones 2010). Deca sa kMD1 obično slabo napreduju zbog otežanog sisanja i gutanja, a veliki broj umire u prvoj godini života zbog slabosti disajne muskulature i respiratorne insuficijencije (Ashizawa et Sarkar 2011). Teška mišićna slabost nije posledica mišićne degeneracije, već razvojnog poremećaja (Udd et Krahe 2012).

Smrtnost dece sa kMD1 dostiže 25 % kod onih kojima je neophodna ventilatorna podrška duža od tri meseca (Campbell et al. 2004). Kod preživelih osoba, javlja se manje ili više izražena mentalna retardacija, a deca sa zakašnjenjem dostižu mentalne i fizičke miljkaze (Harper 2001, Ashizawa et al. 2011). Imaju probleme sa učenjem i čak do dve trećine njih ponavlja razred (Douniol et al. 2012). Regstruje se postepeno poboljšanje mišićnih i mentalnih funkcija do druge ili treće decenije života kada kreće razvoj progresivnih simptoma sličnih aMD1 (Johnson et Heatwole 2012).

Rano se mogu uočiti slabost fleksora prstiju šake i teška dizartriya (Harper 2001). Manifestna miotonija i mišićna degeneracija mogu se uočiti obično tek u drugoj deceniji života (Udd et Krahe 2012), dok se respiratorne i kardiološke komplikacije javljaju u trećoj i četvrtoj dekadi života (Turner et Hilton-Jones 2010). Životni vek iznosi u proseku oko 45 godina ako se izuzmu preminuli u prvoj godini života (Turner et Hilton-Jones 2010).

1.4.1.2. Deja/juvenilna MD1

Deja/juvenilna (jMD1) forma MD1 se manifestuje između prve i dvadesete godine života, a obolelo dete ima između 50 i 1000 CTG ponovaka. Fenotip ovih bolesnika treba posmatrati kao kontinuum između kongenitalne i adultne MD1 (aMD1) (Johnson et Heatwole 2012). Deca koja razviju simptome ranije imaju kliničku sliku sličnu kMD1, dok oni sa kasnijim početkom podsećaju fenotipski na aMD1 (Johnson et Heatwole 2012).

Prvi znaci bolesti nisu karakteristični za mišićnu distrofiju, već se primarno javljaju problemi u školi, uključujući i smanjenu intelektualnu sposobnost i psihosocijalne probleme, poput smanjenog socijalnog fleksibiliteta, hipersenzitivnosti na spoljne faktore i smanjene zainteresovanosti za socijalne kontakte (Angeard et al. 2011, Echenne et al. 2008, Steyaert et al. 1997, Johnson et al. 2012).

Kao i kod kMD1, regstruje se postepeno poboljšanje do druge ili treće decenije života kada kreće razvoj progresivnih simptoma sličnih aMD1 (Johnson et al. 2012). U kasnijem toku jDM1 javljaju se i mišićne slabosti, koje daju sličan stepen fizičke nesposobnosti kao kod teške adultne forme bolesti (Angeard et al. 2011, Echenne et al. 2008). Kod ove dece je uočljiva slabost mišićne muskulature, ali bez šatoraste gornje usne, karakteristične za kMD1. Rano se može uočiti slabost fleksora prstiju šake i teška dizartriya (Harper 2001). Klinički i električni miotonični fenomeni se javljaju posle desete godine života (Harper 2001). Postoje podaci koji

govore u prilog ranog nastanka sr anih poreme aja kod ove dece, te se nakon desete godine života preporu uje redovan godišnji kardiološki skrining (Turner et Hilton-Jones 2010).

1.4.1.3. Adultna MD1

Adultna MD1 (aMD1) je naj eš a forma bolesti (Udd et Krahe 2012). Po inje u periodu izme u dvadesete i etrdesete godine života, a oboleli imaju od 50 do 1000 CTG ponovaka. Prose an životni vek ovih osoba iznosi 48 do 60 godina (Turner et Hilton-Jones 2010).

Tri kardinalna simptoma ove forme bolesti su miši na slabost, miotonija i katarakta (Udd et Krahe 2012). Pored toga, javljaju se i sr ani poreme aji, afekcija centralnog nervnog sistema, gastroenterološki i endokrinološki poreme aji, kao i kožne promene (Udd et Krahe. 2012).

1.4.1.4. Kasna adultna MD1

Oligosimptomatska MD1 (oMD1) se manifestuje u kasnijem životnom dobu, obi no nakon etrdesete godine života. Obolele osobe imaju izme u 50 i 200 CTG ponovaka.

Osobe sa 50-99 CTG ponovaka su u ve ini slu ajeva asimptomatske, a kod 38 % može biti prisutna samo katarakta (Turner et Hilton-Jones 2010). Osobe sa 100-200 CTG ponovaka imaju esto jasnu miotoniju, miši ne slabosti i hipersomniju (Turner et Hilton-Jones 2010). Interesantno je da ponekad i osobe sa manje od 100 ponovaka mogu imati tešku klini ku sliku MD1, dok oni sa 300 do 500 ponovaka mogu biti asimptomatski (Turner et Hilton-Jones 2010).

Osobe sa oMD1 žive u proseku nešto preko 60 godina ili imaju normalan životni vek (Turner et Hilton-Jones 2010).

1.4.2. Miši ne manifestacije

Klju ni miši ni simptomi u MD1 su miotonija i distalna miopatija sa sporo progresivnom slaboš u i hipotrofijom miši a (Harper 2001).

Miotonija predstavlja produženu relaksaciju miši a nakon voljne kontrakcije (aktivna miotoni na reakcija) ili perkusije neurološkim eki em (perkutorna miotoni na reakcija), a može se registrovati i elektromiografskim pregledom (elektri na miotonija) (Slika 4) (Miller 2008). Sa ponovljenom aktivacijom miši a, miotonija u MD1 se smanjuje ili nestaje što nazivamo *fenomenom zagrevanja* (Logigian et al. 2005). Miotonija može ometati svakodnevne aktivnosti poput upotrebe alata, ku nih aparata, otvaranja vrata, rukovanja i sl (Turner et Hilton-Jones

2010). Interesantno je da se kod pojedinih bolesnika uo čava *fenomen zagrevanja* i pri govoru (de Swart et al. 2004). Aktivna miotoni na reakcija naj eš e se izvodi tako što se pacijentu dâ nalog da brzo opruži šake stisnute u pesnicu ili da brzo otvori prethodno vrsto zatvorene o i ili vilicu (Miller 2008). Perkusiona miotonija naj eš e se izvodi perkusijom neurološkim eki em po tenaru, nakon ega sledi produžena adukcija i opozicija palca, uz usporenu relaksaciju (Miller 2008).

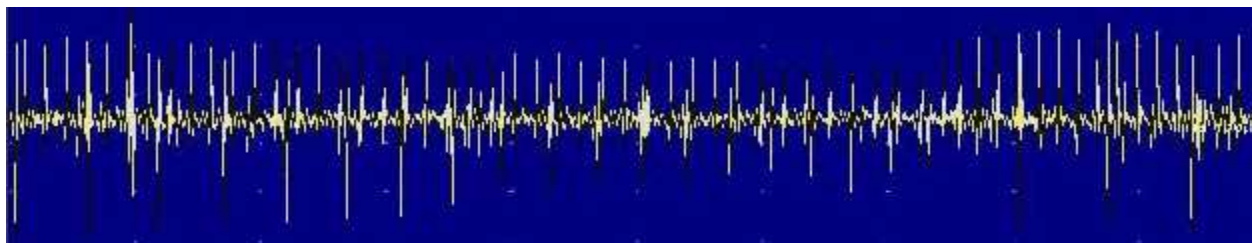
Elektri na miotonija se javlja usled stanja hroni ne depolarizacije elijske membrane i karakteriše se visokofrekventnim repetitivnim potencijalima frekvencije od 20 do 80 Hz (Slika 5) (Miller 2008). Amplituda i frekvencija ovih potencijala naglo raste postižu i svoj maksimum, da bi na kraju prolongirano opadala (krešendo-dekrešendo tok), daju i karakteristi an zvu ni efekat *bombardera u obrušavanju* (Miller 2008). Pojedina ni miotoni ni potencijal ima karakteristike fibrilacije ili pozitivnog oštrog talasa, ali serijsko pražnjenje ovakvih potencijala je jedinstven nalaz na elektromiografiji (Miller 2008). Elektri nu miotoniju provocira sama insercija igle, ali i kontrakcija miši a ili perkusija po miši u tokom ispitivanja (Miller 2008).

Slika 4. Aktivna i perkutorna miotoni na reakcija šake



gornji niz slika – aktivna miotoni na reakcija šake predstavlja otežanu relaksaciju nakon stiska šake; donji niz slika – perkutorna miotoni na reakcija šake predstavlja produženu adukciju i relaksaciju palca sa produženom relaksacijom nakon perkusije neurološkim eki em po tenaru

Slika 5. Elektri na miotonija registrovana kod bolesnika sa MD1 u *m. digitorumu profundusu*



Elektri na miotonija se sastoji od ponavljanih akcionih potencijala miši njih vlakana frekvencije 20-80Hz koji postepeno menjaju amplitudu i frekvenciju. Pojedina ni potencijali su bifazni (pozitivni pa negativni) trajanja manje od 5 ms i podse aju na fibrilacije i/ili pozitivni talasi trajanja 5-20 ms i podse aju na pozitivne oštre talase.

U tipu klinički koji slici MD1 prisutna je hipotrofija mišića lica, vrata i distalne muskulature ekstremiteta (Rakovec i Stojanović 2011).

Slika 6. Miopatski izgled lica, alopecija i labudov vrat kod bolesnika sa MD1



U ovom tipu klinički je prisutna simetrična semiptoza, koja se ne pogoršava zamaranjem. Usled hipotrofije mastikatorne muskulature prisutna je produbljenost temporalnih i bukalnih jama. Slabost mastikatorne muskulature dovodi do nestabilnosti i dislokacija temporo-mandibularnog zgloba (Manzoni et al. 2007). Zbog slabosti i hipotrofije mastikatorne i mimičke muskulature i m. levator palpebrae, prisutan je tzv. *facies myopathica* - mišići lica su opušteni, a mimička ekspresija je redukovana (Slika 6) (Turner et al. 2010). Usled zahvaćenosti mišića faringealne i laringealne muskulature kao i mišića jezika, kod ovih bolesnika je prisutna rinolalija, disfagija i

dizartrija (Rako evi Stojanovi 2011). Hipotrofija i slabost miši a vrata prisutna je od samog po etka bolesti uz uvek izraženiju hipotrofiju i slabost m. sternocleidomastoideusa nego m. trapeziusa što daje karakteristi an izgled *labudovog vrata* (Slika 6) (Rako evi Stojanovi 2011).

U po etku bolesti dominira hipotrofija i slabost distalne muskulature ekstremiteta. Zahva enost, prvo fleksora a potom i ekstenzora šaka i prstiju, ovim bolesnicima zna ajno remeti svakodnevno funkcionisanje i rad rukama (Turner et Hilton-Jones 2010). Na nogama se prvo javlja hipotrofija i slabost dorzifleksora stopala, koja u kasnijem toku bolesti dovodi do pojave *vise ih stopala* sa posledni nim peronealnim hodom. Sa napredovanjem bolesti, hipotrofija zahvata i proksimalne miši e ekstremiteta, te hod ovih bolesnika pored peronealne, poprima i *gegaju u* komponentu (Rako evi Stojanovi 2011).

1.4.3. Oftalmološke manifestacije

Jedan od naj eš ih poreme aja kod obolelih od MD1 je katarakta, koja ponekad može biti jedina manifestacija bolesti, naro ito kod bolesnika sa oligosimptomatskom formom MD1 (Romeo 2012). U po etku bolesti se javljaju presenilna prašinasta polihromatska zamu enja koja su obi no lokalizovana supkapsularno na zadnjem polu so iva (tzv. katarakta nalik na Boži nu jelku, *Christmas tree cataract*) (Garrott et al. 2004, Romeo 2012). Kako bolest progredira, dolazi do stvaranja konfluentnih zamu enja koja polako zahvataju itavo so ivo. U krajnjem stadijumu ne postoji razlika u odnosu na senilnu kataraktu (Romeo 2012). Nakon operacije katarakte mogu se javiti specifi ne komplikacije u smislu kontrakture so iva i rekurentnih opacifikacija na zadnjem polu (Garrot et al. 2004).

Kod bolesnika sa MD1 veoma esto je prisutna semiptoza, a u odre enom procentu i lagofthalmus i smanjeno treptanje što može dovesti do epifore, upornog konjunktivitisa, pa ak i keratitisa (Romeo 2012). Retko se može javiti blefarospazam (Romeo 2012). Opisuju se i diskretni znaci slabosti i miotonije ekstraokularnih miši a sa izuzetno retkim diplopijama, kao i usporene sakade bulbusa (Versino et al. 2002, Osanai et al. 2007). est je nalaz pupilotonije (Rako evi Stojanovi 2011).

Bollinger i sar. nalaze hipermetropiju kod ak 86 % bolesnika sa MD1 i navode da je izraženija kod dece nego kod odraslih (Bollinger et al. 2008). Opisuje se pigmentna degeneracija retine koja retko remeti oštrinu vida, a još re e dovodi do horoidalne neovaskularizacije (Hayasaka et al. 1984, Kim et al. 2009). Jedna od o njih manifestacija MD1 je i snižen

intraokularni pritisak (Garcia Filho et al. 2011) što je verovatno posledica odvajanja cilijarnog tela, a ne izmene u debljini i biomehani kim karakteristikama korneje (Rosa et al. 2011).

1.4.4. Otološke manifestacije

Preвременa senzorneuralna gluvo a blagog do umerenog stepena nalazi se kod preko 60 % bolesnika sa MD1, dok se ošte enje receptorskih elija unutrašnjeg uha sre e kod svih bolesnika (Pisani et al. 2011, Balatsouras et al. 2012). Spekuliše se da ošte enje sluha može biti posledica izmenjenog alternativnog splajsinga za pojedine jonske kanale ili proteine citoskeleta (Balatsouras et al. 2012). Ošte enje auditornih evociranih potencijala opisuje se kod 37 % do 69% bolesnika sa MD1 i može se registrovati i kod bolesnika sa normalnim sluhom što govori u prilog retrokohlearnog ošte enja (Wright et al. 1988, Balatsouras et al. 2012).

Onasai i sar. opisuju ošte enje stapedijalnog refleksa kod bolesnika sa MD1 u smislu produženog kontrakcionog i relaksacionog vremena što se bar delimi no može objasniti miotoni nim fenomenima (Osana et al. 2001).

Vestibularno ošte enje se sre e kod zna ajnog broja bolesnika i ispoljava se u vidu izmenjenog vestibularnog refleksa sa usporenjem sakada bulbusa i re e pojavom spontanog nistagmusa (Balatsouras et al. 2012, Verhagen et al. 1992). Smatra se da su ove promene posledica zahva enosti labirinta (Balatsouras et al. 2012, Verhagen et al. 1992).

1.4.5. Kardiološki poreme aji

Sr ani poreme aji ine više od tre ine svih uzroka smrti kod obolelih od MD1 (de Die-Smulders et al. 1998, Mathieu et al. 1999, Groh et al. 2008, Bhakta et al. 2010, Rakocevic Stojanovic et al. 2013). Stoga je njihovo prou avanje, pra enje i prevencija od velikog zna aja u tretmanu ovih bolesnika.

Naj eš e se javljaju poreme aji sr anog sprovo enja, a potom aritmije (Groh et al. 2008, McNally et Sparano 2011, Rakocevic Stojanovic et al. 2013). Znatno re e se javljaju kardiomiopatija, valvulopatije i ishemijska bolest srca (McNally et Sparano 2011).

U estalost poreme aja sr anog sprovo enja kod bolesnika sa MD1 iznosi 30-75 % (Groh et al. 2008, McNally et Sparano 2011, Rakocevic Stojanovic et al. 2013). Naj eš e se nalazi AV blok prvog stepena, prednji levi hemiblok, blok leve ili desne grane Hisovog snopa i produžen QT interval (Groh et al. 2008, McNally et Sparano 2011, Rakocevic Stojanovic et al. 2013). Ovi

poreme aji mogu da se jave kao prva manifestacija bolesti, ali se ve ina autora slaže da su elektrokardiografske (EKG) promene uglavnom u korelaciji sa težinom bolesti (Rako evi Stojanovi 1997). Poreme aji sr anog sprovo enja mogu progredirati do kompletnog AV bloka i fatalnog ishoda (Groh et al. 2008). Smatra se da su poreme aji sr anog sprovo enja i ritma posledica fokalne subendokardijalne fibroze, masne infiltracije i hipertrofije miocita (Nguyen et al. 1988, Romeo et al. 2012). Patološki Q zupci se mogu javiti kao odraz ovih promena (Rako evi Stojanovi 1997).

Kod bolesnika sa MD1 eš e se javljaju supraventrikularne nego ventrikularne aritmije, ali su ventrikularna tahikardija i fibrilacija mnogo ozbiljnije i mogu ugroziti život bolesnika (Sovari et al. 2007, Groh et al. 2008). Jedan od mehanizama nastanka ventrikularne tahikardije u MD1 je *reentry* fenomen, koji nastaje usled fibrozno-masne degeneracije miokarda i sprovo dnog sistema srca što dovodi do kruženja elektri nog impulsa (McNally et Sparano 2011). Na taj na in se razvija *bundle branch re-entry ventricular tachycardia (BBRVT)* (McNally et Sparano 2011). BBRVT je retka, ali se ak u 75 % bolesnika kod kojih je prisutna, manifestuje u vidu sinkopa ili iznenadne sr ane smrti (McNally et Sparano 2011).

Strukturne promene na srcu uo avaju se kod oko 20 % bolesnika sa MD1 (hipertrofija leve komore, dilatacija leve komore i pretkomore, regionalni poremememe aj motiliteta sr anog miši a), dok je sr ana insuficijencija prisutna kod samo 2 % obolelih (Bhakta et al. 2004). Na po etku bolesti esto se otkriva dijastolna disfunkcija, a kako bolest napreduje, verifikuje se i poreme aj sistolne funkcije komora (McNally et Sparano 2011). Kod obolelih od MD1 retko se može razviti prava kardiomiopatija, naj eš e dilatativna, ali ako je prisutna, mora se ozbiljno ispitivati s obzirom da može biti izvor zna ajnih aritmija (Romeo 2012). U takvim slu ajevima, bilo kakva fibrozna promena u levoj ili desnoj komori zaslužuje vanrednu pažnju (Romeo 2012).

Poreme aj motiliteta sr anog miši a u MD1 može se delom objasniti tzv. miokardnom miotonijom, a delom neishemi nom fibrozom miokarda (McNally et Sparano 2011, Sovari et al. 2007). Miokardna miotonija se može registrovati pomo u TDI (*tissue Doppler imaging*) i predstavlja dijastolnu disfunkciju u vidu produžene relaksacije sr anog miši a, što je ekvivalent onoga što se dešava u skeletnom miši u (McNally et Sparano 2011, Sovari et al. 2007).

Kod obolelih od MD1 uсталost prolapsa mitralne valvule kre e se od 13 % do 40 % u razli itim studijama (Bhakta et al. 2004, Sovari et al. 2007). Od ostalih valvularnih mana opisana je sporadi na pojava trikuspidalne i aortne regurgitacije (Rako evi Stojanovi 1997).

Ne postoji jasna povezanost između u MD1 i koronarne bolesti (Sovari et al. 2007). Na EKG snimku bolesnika sa MD1 mogu se uočiti promene ST segmenta i T talasa koje uglavnom nisu povezane sa ishemijskom bolešću u srca (Pelargonio et al. 2002). Koronarna angiografija ne pokazuje značajniju stenozu koronarnih arterija u odnosu na zdravu populaciju iste životne dobi (Itoh et al. 2000).

Bolesnici sa MD1 obično imaju snižen krvni pritisak (Rakocevic et al. 2007). Oglledi na transgenim miševima su pokazali da patološka ekspresija DMPK gena u mišićima glatkih mišića i krvnih sudova posledično dovodi do smanjenja tonusa zidova arterija što uzrokuje hipotenziju (O'Coilain et al. 2004).

1.4.6. Respiratorne komplikacije

Respiratorne komplikacije u MD1 se javljaju zbog kombinacije perifernih i centralnih poremećaja (Romeo. 2012).

U periferne faktore se ubrajaju teška hipotrofija, slabost i miotonija mišića u grudnog koša, faringealnih mišića i dijafragme, kao i skeletne abnormalnosti, a pretpostavlja se da postoji i uticaj oštećenja perifernih nerava i baroreceptora na disanje (Romeo 2012, Ugalde et al. 2001). Usled slabosti mišića u ždrela i jednjaka i poremećaja akta gutanja, kod bolesnika sa MD1 je česta aspiraciona pneumonija, koja može dovesti i do smrtnog ishoda (Romeo 2012, de Die-Smulders et al. 1998).

Centralni faktori poput disfunkcije moždanog stabla, hipotalamusa i hipofize, mogu dovesti do alveolarne hipoventilacije, hiperkapnije, hipoksemije, *sleep* apneje i prekomerne dnevne pospanosti (Romeo 2012).

1.4.7. Endokrinološki poremećaji

Najčešće i endokrinološki poremećaji u MD1 su insulinska rezistencija i gonadalna disfunkcija, dok se u literaturi inkonzistentno opisuje i zahvaćenost tireoidne i paratireoidne žlezde, hipofize i nadbubrežnih žlezda (Romeo 2012).

Pojedine studije pokazuju da dijabetes melitus nije znatno češće i kod bolesnika sa MD1 nego u opštoj populaciji, ali ima i onih koje nalaze četiri puta povećan rizik obolevanja od

dijabetesa u odnosu na zdrave kontrole (Romeo 2012). Ørngreen i sar. nalaze dijabetes melitus tipa 2 kod oko 5 % svojih bolesnika, dok je njegova uestalost u danskoj opštoj populaciji oko 3 % (Ørngreen et al. 2012). Veoma je esto prisustvo insulinske rezistencije i pozitivan test na oralnu toleranciju glukoze (OGTT), ak i onda kad su vrednosti glikemije naše potpuno uredne (Romeo 2012). Smatra se da je uzrok insulinske rezistencije direktno povezan sa molekularno-genetskom osnovom bolesti, jer je u MD1 dokazan izmenjen splajsing primarnog prepisa za insulinski receptor koji je eksprimiran na miši nim elijama (Savkur et al. 2001, Botta et al. 2008). U jednoj studiji se nalazi povezanost insulinske rezistencije sa prekomernom sekrecijom leptina, hormona koji se sintetiše u masnom tkivu (Rakocevic Stojanovic et al. 2010).

Kod 60-80 % muškaraca obolelih od MD1 dolazi do progresivne testikularne atrofije sa oligospermijom (Antonini et al. 2011). Kod skoro polovine bolesnika se nalazi povišen luteiniziraju i hormon (LH) uz normalan testosteron (kompenzovani hipogonadizam) ili povišen LH uz snižen testosteron (primarni hipogonadizam) (Antonini et al. 2011, Ørngreen et al. 2012) što odgovara intersticijalnoj (androgenoj) gonadalnoj disfunkciji. Tubularna (spermatogena) disfunkcija sa povišenim nivoom folikulostimuliraju eg hormona (FSH) javlja se kod 60 % obolelih muškaraca (Antonini et al. 2011). Impotencija se javlja kod dve tre ine bolesnika i smatra se da nastaje usled hipogonadizma, ali i disfunkcije testikularnih peritubularnih mioidnih elija i glatkih miši nih elija kavernoznog tela, a ne može se isklju iti ni zna aj hemodinamskih promena, poreme aja u centralnom nervnom sistemu, autonomne disfunkcije i nekih biohemijskih mehanizama (Mastrogiacomo et al. 1996, Antonini et al. 2009, Antonini et al. 2011). Prisustvo steriliteta kod muškaraca sa MD1 moglo bi se objasniti redukcijom broja spermatozoida usled testikularne atrofije kao i defektnom kapacitacijom i akrozomalnom reakcijom spermatozoida (Hortas et al. 2000).

Kod žena sa MD1 poreme aji reproduktivne funkcije su manje specifi ni i javljaju se kod 15-20 % bolesnica (43). Nema jasnog konsenzusa o tome da li je fertilitet kod žena sa MD1 smanjen (Argov et de Visser 2009). Obi no se nalazi povišen nivo FSH u serumu (Romeo 2012), dok su nivoi estradiola, progesterona i LH u granicama normale (Rako evi Stojanovi 1997). Vrednosti prolaktina su normalne ili povišene, a vrednosti testosterona smanjene kod tre ine bolesnica (Ørngreen et al. 2012). Kod žena sa MD1 vrlo esto dolazi do poreme aja menstrualnog ciklusa, dismenoreje i prerane menopauze (Marinkovi et al. 1990). Komplikacije povezane sa graviditetom i poro ajem znatno su eš e nego u opštoj populaciji i uklju uju

ektopi nu trudno u, prisustvo hidramniona, placentne previje, spontanij abortusa, nezrelost ploda, prevremeni poro aj, visoku smrtnost novoro en adi, postpartalno krvarenje, a kod oko 10 % bolesnica neophodan je carski rez (Rudnik-Schöneborn et Zerres 2004, Argov et de Visser 2009). Opisuju se slu ajevi pogoršanja miši ne slabosti i miotonije tokom trudno e (Argov et de Visser 2009). Primena magnezijum sulfata kao tokolitika može dovesti do teške slabosti sa respiratornom insuficijencijom (Catanzarite et al. 2008).

Funkcija štitaste žlezde kod bolesnika sa MD1 uglavnom je normalna. Ørngreen nalazi snižen nivo tireoidnog stimulišu eg hormona (TSH) kod 2 bolesnika, a povišen kod 5 bolesnika, dok je samo jedan bolesnik od 97 ispitivanih imao simptomatsku hipotireozu, a dva netoksi nu strumu (Ørngreen et al. 2012). Navedeni poreme aji ne prelaze u estalost u opštoj populaciji (Ørngreen et al. 2012). U dve studije je opisana insuficijencija sekrecije TSH pri stimulaciji tireoidnim osloba aju im hormonom (Steinbeck et Carter 1982, Fukazawa et al. 1990). Od zna aja je injenica da hipofunkcija štitaste žlezde može pogoršati miši nu snagu i miotoni ne fenomene kod MD1 (Johnson et Heatwole 2012). S druge strane, poznato je da hipotireoza *per se* može biti udružena sa miotonijom u okviru Hoffmanovog sindroma.

Kinoshita i sar. nalaze hipokalcemiju sa povišenim nivoom PTH u plazmi bolesnika sa MD1 (Kinoshita et al. 1997), dok se u studiji Ørngreena i sar. primarni hiperparatireoidizam opisuje kod 17,5 % obolelih (povišen PTH sa normokalcijemijom kod 15,5% ili sa hiperkalcijemijom kod 2,1 %) u pore enju sa samo 0,5 % u opštoj populaciji (Ørngreen et al. 2012). Adenomi se smatraju naj eš im uzrokom primarnog hiperparatireoidizma, ali to nije slu aj kod bolesnika sa MD1 te se spekulije o disfunkciji renalnog PTH receptora i pove anoj apsorpciji kalcijuma u crevima kao mogu im uzrocima ovog poreme aja (Ørngreen et al. 2012).

Kod pojedinih pacijenata sa MD1 uo eni su poreme aji na nivou osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg, koji se manifestuju poja anim lu enjem kortikotropnog osloba aju eg hormona (CRH), sa posledni m poja anim lu enjem adrenokortikotropnog hormona (ACTH) i kortizola, a smanjenim nivoom dehidroepiandrosteron sulfata (DHEAS) (Johansson et al. 2000).

Poreme aji pituitarne žlezde nisu jasno dokumentovani kod bolesnika sa MD1 (Romeo 2012). Nema konsenzusa o tome da li postoji poreme aj lu enja hormona rasta (GH), ali se smatra da prekomerna koncentracija ovog hormona može objasniti prisustvo hiperostoze kostiju lobanje u MD1 (Romeo 2012). Skorašnja istraživanja pokazuju da kod 30 % MD1 bolesnika postoji neadekvatna sekrecija GH nakon stimulacije rilizing faktorom ili argininom, ali se još

uvek ne zna klini ki zna aj ovog poreme aja niti njegova veza sa insulinskom rezistencijom (Romeo 2012).

1.4.8. Gastroenterološki poreme aji

Kod 28 % bolesnika sa MD1 gastrointestinalne smetnje se javljaju pre postavljanja dijagnoze miši ne bolesti, a ak etvrtina bolesnika navodi da su najgori simptomi bolesti upravo povezani sa crevnim traktom (Turner et Hilton-Jones 2010). Usled zahva enosti popre no-prugaste i glatke muskulature gastrointestinalnog trakta, nastaju brojne tegobe u vidu disfagije, regurgitacije, piroze, povra anja, ose aja rane sitosti, usporenog pražnjenja želuca, nadutosti, abdominalnog bola, opstipacije, pseudoopstrukcije, dijareje, fekalne inkontinencije, kao i sklonosti ka nastanku bilijarne kalkuloze (Rönblom et al. 1998, Bellini et al. 2006).

U glatkim miši ima bolesnika sa MD1 opisane su promene sli ne onima koje se vi aju u skeletnim miši ima, ali je stepen zahva enosti glatkih miši a ipak manji (Cardani et al. 2008, Romeo 2012).

Disfagija nastaje usled slabosti i miotonije orofaringealne i ezofagealne muskulature, a spekuliše se i o odloženom *okidanju* refleksa gutanja uzrokovanog centralnim poreme ajem (Romeo 2012). Poreme aj gutanja esto dovodi do pojave aspiracione pneumonije, koja može biti fatalna, posebno kod osoba koje ve imaju respiratornu restrikciju (Bellini et al. 2006, Romeo 2012).

Simptomi izmenjene funkcije želuca i duodenuma mogu se objasniti zahva enoš u miši a, ošte enim sprovo enjem nervnih impulsa i poreme ajem sekrecije gastrointestinalnih hormona (Bellini et al. 2006).

Veoma esto se vi aju simptomi *colona irritabile* pra eni obi no blagim bolovima u abdomenu (Romeo 2012). Veliki broj MD1 bolesnika ima opstipaciju, a retko mogu razviti i pseudoopstrukciju i megakolon, koji najverovatnije nastaju usled miotonije ili gubitka glatkih miši nih elija intestinalnog trakta (Turner et Hilton-Jones 2010, Bellini et al. 2006).

Kod polovine bolesnika prisutna je dijareja, koja je povremeno pra ena malapsorpcijom i steatorejom (Bellini et al. 2006). Dijareje najverovatnije nastaju usled preteranog rasta bakterija koje se prekomerno umnožavaju u uslovima smanjene peristaltičke aktivnosti tankog i debelog

creva. U ovoj bolesti dolazi i do malapsorcije žuči soli, što je još jedan od razloga nastanka dijarejalnih smetnji (Rönblom et al. 2007).

Usled elektrofiziološki i histološki potvrđene zahvaćenosti i unutrašnjeg i spoljašnjeg anorektalnog sfinktera, kod čak 66 % obolelih se može javiti povremena fekalna inkontinencija, dok je 10 % bolesnika ima bar jednom nedeljno (Abercrombie et al. 1998, Bellini et al. 2006, Romeo 2012).

Bolesnici sa MD1 su znatno skloniji nastanku bilijarne kalkuloze nego opšta populacija, najverovatnije zbog zahvaćenosti glatkih mišića žučne kesice i posledice hipomotiliteta, ali se ne smeju zanemariti ni potencijalne abnormalnosti u metabolizmu žuči i kiselina (Romeo 2012, Cardani et al. 2008). Porast vrednosti gama glutamil transferaze (GGT) i bilirubina može se donekle objasniti poremećajem na nivou žučnog trakta (Romeo 2012).

1.4.9. Poremećaji urinarnog trakta

Kod MD1 bolesnika se opisuju i smetnje sa mokrenjem (u obliku mokrenje, urgencija mikcije, urinarna inkontinencija, stres inkontinencija). Smatra se da su primarno posledica promena u poprečno-prugastim i glatkim mišićima urinarnog trakta, a ne posledica neurogene autonomne disfunkcije (Olofsson et al. 1990, Gagnon et al. 2010, Romeo 2012).

1.4.10. Poremećaji koštano-zglobnog sistema

Kod obolelih od MD1 se opisuju različiti poremećaji koštano-zglobnog sistema, a najčešće su hiperostoza kostiju lobanje, proširenje paranazalnih šupljina, izmenjena kraniofacijalna morfologija, anomalije *sellae turcicae*, prognacija i *pectus excavatum* (Staley et al. 1992, Miaux et al. 1997, Zanoteli et al. 2002, Manzon et al. 2007, Rakojević Stojanović 2011). Ređe se javljaju deformiteti kralježnice (Themistocleous et al. 2005).

Kod kMD1 se vide artrogripoza, urođena ishemija kuka, deformiteti stopala i druge koštane anomalije (Harper 2001, Turner et Hilton-Jones 2010).

Neki autori koštane poremećaje dovode u vezu sa endokrinološkom disfunkcijom (Rakojević Stojanović 1997, Romeo 2012).

1.4.11. Kožne manifestacije

Kod muškaraca obolelih od MD1 često se javlja frontalna, a posle dužeg trajanja bolesti i frontotemporalna alopecija (Turner et Hilton-Jones 2010). Ovaj znak bolesti znatno je ređi kod žena (Turner et Hilton-Jones 2010). Pretpostavlja se da alopecija može nastati usled testosteronske rezistencije (Rakovec i Stojanović 1997).

Kod MD1 bolesnika se mogu javiti pilomatriksomi, naročito u predelu kože glave, a potom ruku, lica, vrata, trupa i prepona (Geh et al. 1999). Pilomatriksomi su kalcifikovani epitelomi prečnika 0,5 do 6 cm, a vode poreklo od matriksa dlake. U opštoj populaciji oni čine samo 0,12 % svih kutanih tumora, ali su najčešći i benigni površni tumori kod dece (Chan et Tey 2010). Multipli pilomatriksomi se javljaju kod samo 3,5 % bolesnika sa pilomatriksomom, dok se sreću čak kod 89 % bolesnika sa MD1 koji imaju pilomatriksom (Geh et al. 1999, Mueller et al. 2009). Pilomatriksomi ponekad mogu biti prva manifestacija bolesti, ali se mogu javiti i mnogo godina nakon pojave prvih simptoma MD1 (Geh et al. 1999, Johnson et Heatwole 2012).

1.4.12. Kancerogeneza u MD1

U jednoj skorašnjoj studiji baziranoj na analizi podataka iz velikog registra, ustanovljeno je da bolesnici sa MD1 imaju dvostruko veći i relativni rizik za razvoj maligniteta u odnosu na zdravu populaciju (Gadalla et al. 2011). Relativni rizik raste na sedam puta za malignitete endometrijuma, ovarijuma, mozga i kolona (Gadalla et al. 2011). U preglednom radu iz 2009. navodi se da je u literaturi opisano 47 MD1 bolesnika sa različitim tumorima ne uzimajući u obzir pilomatriksome (Mueller et al. 2009). Najčešće opisivani tumori su timom, tumori parotidne, paratireoidne i tireoidne žlezde, multipli bazalni karcinomi kože, a ređe karcinom želuca, insulinom, tumori hipofize (Mueller et al. 2009).

Smatra se da je povećani rizik od tumora kod bolesnika sa MD1 povezan sa ženskim polom (Das et al. 2012). U pojedinim studijama se nalazi povećan broj CTG ponovaka u tumorskom tkivu u odnosu na okolno tkivo, limfocite i mišiće (Mueller et al. 2009). Kod jedne naše bolesnice sa MD1 uočeno je smanjenje broja CTG ponovaka u oligodendrogliomu u odnosu na zdravo moždano tkivo. Ovakav nalaz zahteva dalja ispitivanja značajnih mutacija u DMPK genu za razvoj tumora.

Epidemiološka studija na velikom broju bolesnika nije potvrdila povezanost broja ponovaka sa pojavom maligniteta (Das et al. 2012). Spekuliše se da je kancerogeneza u MD1 posledica povećane ekspresije beta-kenina preko *Wnt* signalnog puta koji se aktivira pomoću CUGBP i MBNL proteina (Mueller et al. 2009).

1.4.13. Rizik od anestezije kod bolesnika sa MD1

Kod MD1 bolesnika treba biti oprezan sa primenom opšte anestezije zbog mogućih komplikacija.

Nikada nije jasno dokazano da primena anestetika vodi pojavi maligne hipertermije u MD1, ali se pouzdano zna da primena depolarizujućih miorelaksanata može dovesti do miotoničkih spazama (Argov et al. 2009).

Preosetljivost na anestetike povećava rizik od respiratorne insuficijencije u MD1 (Argov et al. 2009). Ona može nastati kao posledica depresije ventilacije tokom operativnog zahvata, moguća je aspiracija i pneumonije (Mathieu et al. 1997, Nishi et al. 2004). Pored toga, bolesnici sa MD1 su pod povećanim rizikom od pojave naprasnih aritmija i hipotenzije nakon primene anestetika i opioda (Harper 2001).

1.4.14. Periferna neuropatija

Veliki broj studija pokazuje prisustvo elektrofizioloških poremećaja perifernih nerava kod 14 do 54 % obolelih od MD1 (Rossi et al. 1983, Logulo et al. 1992, Mondelli et al. 1993, Pfeilsticker et al. 2001, Rakocevic Stojanovic et al. 2002, Hermans et al. 2011, Peric et al. 2013). Dok se na elektroneurografskom pregledu nekada nalazi predominantno oštećenje mijelina (Peric et al. 2013, Rossi et al. 1983), a nekada aksona (Logulo et al. 1992, Mondelli et al. 1993, Pfeilsticker et al. 2001, Bae et al. 2008), na svetlosnoj i elektronskoj mikroskopiji po pravilu se registruje aksonalno oštećenje suralnog nerva (Mondelli et al. 1993, Cros et al. 1988, Wang et al. 2000). Smatra se da je oštećenje perifernih nerava nezavisno od progresije mišićne hipotrofije i slabosti (Bae et al. 2008, Peric et al. 2013).

1.4.15. Zahvaćenost centralnog nervnog sistema u MD1

Poremećaji centralnog nervnog sistema se navode još u najranijim opisima MD1 (Curschmann 1912). Oni podrazumevaju neuropsihološke i bihevioralne izmene (Meola et al. Sansone 2007). Sa razvojem molekularne medicine i savremenih neurovizualizacionih tehnika,

omogu eno je bolje sagledavanje uzroka moždanih poremećaja koji su ranije detaljno opisivani kroz kliničku praksu.

1.4.15.1. Molekularna osnova zahvaćenosti centralnog nervnog sistema

Smatra se da je izmenjen alternativni splajsing pojedinih proteina specifičnih za mozak, glavni ali ne i jedini patogenetski mehanizam u nastanku centralnih manifestacija kod bolesnika sa MD1 (de León et Cisneros 2008, Itoh et al. 2010).

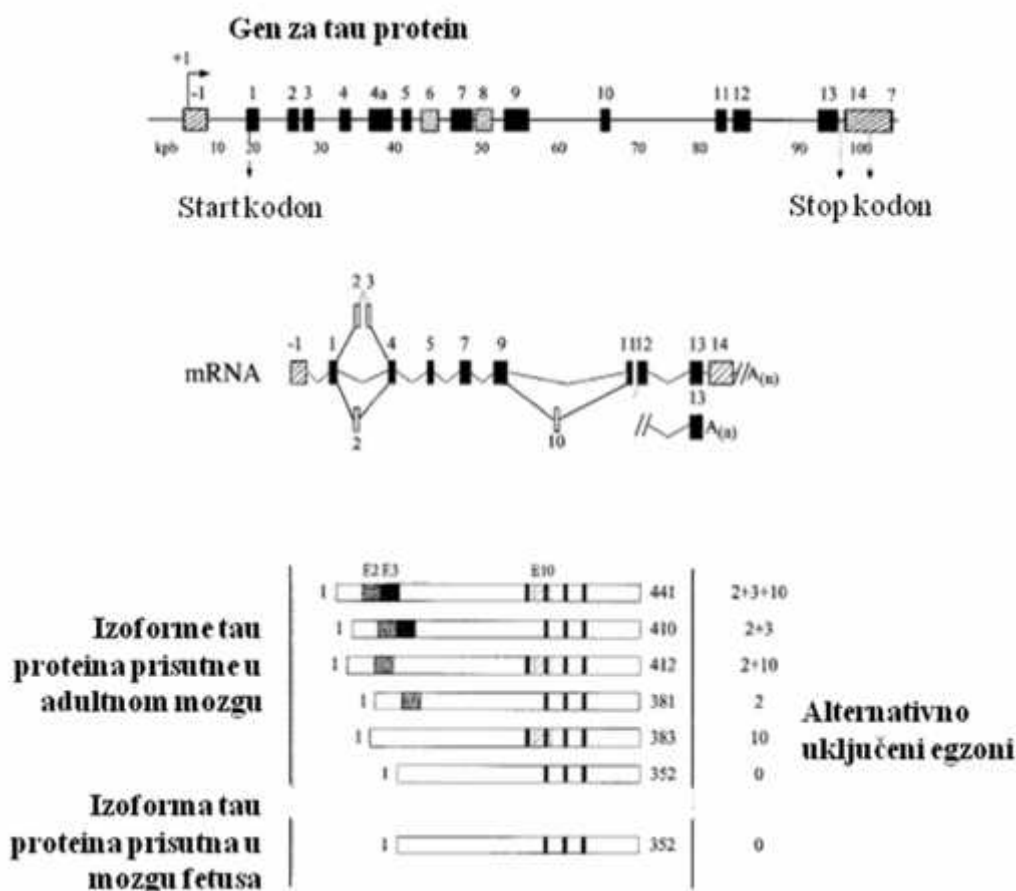
U korteksu, hipokampusu, girusu dentatusu, talamusu, supstanciji nigri, tegmentumu, supkortikalnoj beloj masi i korpusu kalozumu bolesnika sa MD1 pronađeni su nuklearni fokusi toksin RNK sa povećanim brojem CUG ponovaka koji kolokalizuju sa proteinima iz porodice MBNL, što je slično nalazu u miši u (Jiang et al. 2004). Dokazano je da je kod bolesnika sa MD1 posledice izmenjen splajsing za tau protein, NMDA receptor 1 i amiloidni prekursor protein (de León et Cisneros 2008).

Splajsing tau proteina kod bolesnika sa MD1 podrazumeva isključivanje egzona 2, 3 i 10 (Slika 7) i zamenu egzona 6c egzonom 6d što vodi nastanku embrionalne forme proteina sa smanjenim afinitetom vezivanja za membranu ćelije i druge proteine mikrotubula (Vermersch et al. 1996, Sergeant et al. 2001, Muraige et al. 2005, Leroy et al. 2006). Izmenjeni tau protein je hiperfosforilisan i formira neurofibrilarnu klubad u određenim delovima mozga (Sergeant et al. 2001, de León et Cisneros 2008, Sicot et al. 2011). Splajsing NMDA receptora 1 kod bolesnika sa MD1 podrazumeva uključivanje egzona 5 u temporalnom korteksu što može biti u vezi sa oštećenjem pamćenja (Jiang et al. 2004). Izmenjena je i obrada preinformacione RNK za amiloidni prekursor protein (APP) tako da konačni produkt u temporalnom korteksu ne sadrži egzon 7 (Jiang et al. 2004).

Nedavno je pokazano da i neki drugi proteini u određenim regionima mozga mogu podleći izmenjenom alternativnom splajsinu u MD1 i da za ovaj proces nije odgovoran samo MBNL1, već i MBNL2, CUGBP1 i CUGBP2 (Suenaga et al. 2012). U kulturi ćelija je pokazano da na neuritogenezu u MD1 utiče abnormalna ekspresija proteina vezanih za mikrotubule, kalcijumskih kanala i proteina iz familije SLITRK za koje je poznato da učestvuju u grananju neurita (Quintero-Mora et al. 2002, Andrade et al. 2007, Velasquez-Bernardino et al. 2011, Marteyn et al. 2011). Ovi procesi mogu biti odgovorni za razvojne promene u mozgu bolesnika sa kMD1 i jMD1.

Smatra se da na centralne simptome u MD1 mogu uticati i geni susedi DMPK gena, poput DMWD gena i SIX5 gena (Jansen et al. 1995, Genarelli et al. 1999, Westerlaken et al. 2003).

Slika 7. Gen, informaciona RNK i izoforme tau proteina



Gen za tau protein sadrži 16 egzona. U mozgu oveka su normalno isključeni egzoni 4a, 6 i 8. Egzoni 1 i 14 se transkribuju, ali se ne prepisuju u protein. Alternativni splajsing egzona 2, 3 i 10 omogućava formiranje šest izoformi tau proteina. U mozgu fetusa eksprimirana je samo izoforma bez egzona 2, 3 i 10. Ova najkraća izoforma dominira u mozgu bolesnika sa MD1. (prilagođeno prema Sergeant et al. 2001)

1.4.15.2. Patohistološki nalaz na tkivu mozga bolesnika sa MD1

Post mortem patohistološki preparati tkiva mozga bolesnika sa MD1 pokazuju gubitak elija u jedrima moždanog stabla, kao i u korteksu i supkortikalnim jedrima (Ono et al. 1998,

Mizukami et al. 1999). Ono i sar. povezuju gubitak serotoninerki kih neurona u nc. raphe sa prisustvom hipersomnije u MD1, a gubitak neurona u nc. arcuatusu produžene moždine sa pojavom hipoventilacije (Ono et al. 1998, Ono et al. 2001).

Pored toga, prona ene su eozinofilne intranuklearne inkluzije u talamusu, supstanciji nigri i kaudatusu, koje su sastavljene od ubikvitina i proteina vezanih za mikrotubule, ali bez neurofilamenata, tau proteina, tubulina, sinaptofizina, aktina i sl, što razlikuje MD1 od drugih neurodegenerativnih bolesti (Ono et al. 1989, Ono et al. 1997, Maurage et al. 2005, Oyamada et al. 2006). Prisustvo neurofibrilarne klubadi dokazano je u hipokampusu, entorinalnom i temporalnom korteksu, supkortikalnim jedrima, ali i infratentorijalno, uklju uju i i ki menu moždinu bolesnika sa MD1 (Yoshimura et al. 1990, Vermersch et al. 1996, Oyamada et al. 2006). Mizukami i sar. kod jednog bolesnika sa MD1 i znacima parkinsonizma nalaze Levijeva tela u supstanciji nigri i lokusu ceruleusu (Mizukami et al. 1999). Sa druge strane, ni u jednoj studiji do sada nisu prona eni beta amiloidni plakovi (Yoshimura et al. 1990, Vermersch et al. 1996, Oyamada et al. 2006).

1.4.15.3. Neuropsihološki profil bolesnika

Kao što je ranije navedeno, bolesnici sa kMD1 imaju mentalnu retardaciju (Harper 2001, Udd et Krahe 2012). Kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 rezultati na kognitivnim skrining testovima i testovima inteligencije pokazuju niže skorove u pore enju sa zdravim me ovanim kontrolama, ali su još uvek u opsegu ili lako ispod normalnih vrednosti (Colombo et al. 1992, Turnpenny et al. 1994, Steyaert et al. 1997, Harper 2001, Meola et al. 2003, Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2005, Winblad et al. 2006, Meola et Sansone 2007, Zalonis et al. 2010, Douniol et al. 2012). Uo ava se da bolesnici sa aMD1 imaju normalnu kristalnu inteligenciju uz pad fluidne inteligencije što potvr uje da se ova bolest može svrstati u progeroidne sindrome (Winblad et al. 2006).

Jedan od najzna ajnijih nalaza kod bolesnika sa aMD1 jeste prisustvo dizegzekutivnog sindroma koji dovodi do apatije, smanjene inicijative i pove ane inaktivnosti, a uzrokovan je frontalnom disfunkcijom (Meola et al. 2003, Gaul et al. 2006, Winblad et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Zalonis et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Pokazana je jasna progresija egzekutivne disfunkcije kod bolesnika sa MD1 u etvorogodišnjem periodu pra enja (Modoni et al. 2008).

Egzekutivna disfunkcija kod bolesnika sa jMD1 ispoljava se kao autisti no ponašanje, nezainteresovanost i inhibicija (Meola et Sansone 2007).

Bolesnici sa MD1 čak i u najranijim fazama bolesti imaju deficit na vizuokonstrukcionim testovima što može dovesti do problema u svakodnevnom funkcionisanju (Censori et al. 1994, Meola et al. 2003, Modoni et al. 2004, Gaul et al. 2006, Douniol et al. 2009, Zalonis et al. 2010, Douniol et al. 2012). Pojedini autori nalaze i deficit pažnje, aritmetičkih sposobnosti i jezičkih funkcija (Turnpenny et al. 1994, Steyaert et al. 1997, Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2008).

Ovakav neuropsihološki profil se može označiti kao fokalna frontalna i parijetalna demencija (Kuo et al. 2008, Zalonis et al. 2010), dok sa trajanjem bolesti dolazi do oštećenja i verbalnih funkcija i memorije koji su vezani za temporalni režanj po čemu MD1 postaje slična frontotemporalnoj demenciji (Modoni et al. 2004).

Većina studija ne pokazuje korelaciju broja CTG ponovaka sa kognitivnim funkcijama (Meola et al. 2003, Meola et Sansone 2007, Modoni et al. 2008). Uzrok ovome može biti mali broj ispitivanih bolesnika, mali opseg CTG ponovaka u ispitivanim grupama, kao i mitotska nestabilnost CTG ponovaka sa dobro poznatim somatskim mozaicizmom. Pronađeno je, naime, da je broj CTG ponovaka u perifernim limfocitima sličan broju ponovaka u mišiću, jer su ova dva tkiva istog mezodermalnog porekla, dok je broj ponovaka u mozgu znatno veći i značajno varira u pojedinim regionima (Sergeant et al. 2001). Manji broj studija pokazuje jasnu korelaciju broja CTG ponovaka u perifernim limfocitima sa neuropsihološkim testiranjem (Winblad et al. 2006, Sistiaga et al. 2010).

1.4.15.4. Psihijatrijski poremećaji

Pojedini autori pronalaze prisustvo blage depresije i značajne anksioznosti kod oko polovine bolesnika sa MD1 (Antonini et al. 2006, Peric et al. 2010, Winblad et al. 2010). Drugi smatraju da poremećaji raspoloženja u MD1 nisu od velikog značaja, da ne korelišu sa neuropsihološkim testovima, te da nalazi depresije odgovaraju brizi o somatskom zdravlju i da nisu direktna ekspresija bolesti (Bungener et al. 1998, Meola et al. 2003, Kalkman et al. 2007, Zalonis et al. 2010). Sa druge strane, uočava se da bolesnici sa izraženijim promenama u beloj masi imaju manji stepen depresivnosti što ukazuje na to da oštećenje mozga samom bolešću može imati protektivnu ulogu za razvoj depresije (Winblad et al. 2010, Minnerop et al. 2011).

Ovo se donekle može objasniti činjenicom da bolesnici sa MD1 često nemaju uvid u svoj deficit (Meola et Sansone 2007). Kod jMD1 u detinjstvu je prisutan hiperaktivni poremećaj sa deficitom pažnje, koji već kod školske dece prelazi u anksioznost (Meola et Sansone 2007, Douniol et al. 2009, Douniol et al. 2012).

Još u prvim opisima MD1 navode se određene tipične crte ličnosti. Ovi bolesnici se opisuju kao iritabilni, svadljivi, egocentrični, apatični, sumnjičavi, nepoverljivi (Adie 1923). U poslednjih tridesetak godina objavljeno je nekoliko istraživanja u kojima se kod bolesnika sa MD1 opisuje dominacija različitih crta ličnosti, uključujući i izbegavanje, zavisni, depresivni, hipohondrični, opsesivno-kompulsivni, pasivno-agresivni i agresivno-sadistički obrazac ličnosti, a nalaze se i bolesnici sa paranoidnim, shizotipnim i shizoidnim crtama ličnosti (Bird et al. 1983, Palmer et al. 1994, Delaporte 1998, Meola et al. 2003, Sistiaga et al. 2010). Još uvek nije poznato da li su ovi poremećaji posledica samog oštećenja mozga ili posledica prilagođavanja na tešku mišićnu i multisistemsku bolest. Pretpostavlja se da poremećaj ličnosti može dovesti do problema u socijalnom funkcionisanju i svakodnevnom životu bolesnika sa MD1 (Meola et Sansone 2007).

1.4.15.5. Pospanost i zamor

Bolesnici sa MD1 često imaju prekomernu dnevnu pospanost (PDP) koju sami obično negiraju kao tegobu, ali je članovi porodice navode (Rubinsztein et al. 1998, Phillips et al. 1999, Laberge et al. 2004, Minnerop et al. 2011). PDP se može javiti u bilo kom stadijumu bolesti, čak i kao prvi simptom MD1 (Laberge et al. 2004). Uzrok PDP u jDM1 i aDM1 jeste poremećaj noćnog spavanja, u vidu periodičnih pokreta ekstremiteta i čestih apneja, koji nastaje usled oštećenja orofaringealne i respiratorne muskulature, kao i usled oštećenja određenih neuronskih mreža u centralnom nervnom sistemu (Quera Salva et al. 2006, Meola et Sansone 2007, Zalonis et al. 2010, Romigi et al. 2011, Yu et al. 2011). Pojedini istraživači pronalaze snižen nivo hipokretina u likvoru bolesnika sa MD1 prave i paralelu sa narkolepsijom (Martínez-Rodríguez et al. 2003), dok drugi nisu potvrdili ove nalaze niti su pronašli izmenjen splajsing za hipokretinske receptore (Ciafaloni et al. 2008).

Iako se PDP i zamor najverovatnije javljaju kao posledica poremećaja spavanja, ipak su ovo dva odvojena klinička entiteta u MD1 (Laberge et al. 2009). Zamor je nešto češći kod bolesnika sa MD1 nego kod bolesnika sa naslednim neuromišićnim bolestima bez kognitivnog

deficita (Kalkman et al. 2005, Quera Salva et al. 2006). Stepen zamora u MD1 prevazilazi ograni enje usled objektivne miši ne slabosti (Meola et Sansone 2007). Zamor je manje izražen kod bolesnika sa težim promenama u beloju masi, verovatno usled nedostatka uvida u bolest i njene simptome (Minnerop et al. 2011).

1.4.15.6. Neuroradiološki nalazi

Na T1 sekvenci na magnetnoj rezonanciji (MR) se uo ava kortikalna atrofija, koja je najizraženija u frontalnim regionima (Bachmann et al. 1996, Miaux et al. 1997, Kornblum et al. 2004, Kuo et al. 2008). Na T2 sekvenci se prikazuju hiperintenzne lezije bele mase koje su naj eš e difuzne (pojedina ne ili konfluentne) i prisutne su u obe hemisfere, a znatno re e se opserviraju infratentorijalno i u bazalnim ganglijama (Bachmann et al. 1996, Miaux et al. 1997, Fierro et al. 1998, Kornblum et al. 2004, Antonini et al. 2004, Kuo et al. 2008, Kobayakawa et al. 2010, Weber et al. 2010, Romeo et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Promene u beloju masi su najizraženije i naj eš e se vi aju u frontalnom režnju (Minnerop et al. 2011). Pojedini autori razlikuju dva tipa lezija bele mase (Romeo et al. 2010). Jedno su temporo-insularne promene koje su prisutne i kod mladih bolesnika i koje ne korelišu sa neuropsihološkim testiranjem, što ide u prilog neurorazvojnog defektu. Drugo su frontalne, parijetalne i okcipitalne promene koje korelišu sa staroš u bolesnika i neuropsihološkim funkcionisanjem što ide u prilog pretpostavci da je MD1 progeroidna bolest. Uo ena je porodi na agregacija lezija u beloju masi što ukazuje da dodatni genetski faktor ili faktor sredine uti e na pojavu ovih promena u MD1 (Di Costanzo et al. 2008).

U studiji Antoninija i saradnika morfometrija zasnovana na vokselu (*voxel-based morphometry*, VBM) pokazuje redukciju i sive i bele mase mozga (Antonini et al. 2004). Sa druge strane, u nekim istraživanjima nalazi se samo redukcija sive mase (Giorgio et al. 2006), a u pojedinim ak znatno izraženiji gubitak bele mase (Minnerop et al. 2011). Regionalni gubitak sive mase prvenstveno se opisuje u frontalnim i parijetalnim režnjevima, a uo ava se i pad sive mase u bazalnim ganglijama, oba talamusa i oba hipokampusu (Antonini et al. 2004, Weber et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Opisana atrofija sive mase ne koreliše sa hiperintenznim lezijama bele mase na T2 sekvenci i pokazuje ja u povezanost sa starenjem nego u opštoj populaciji, što još jednom potvr uje da je MD1 bolest prevremenog starenja (Antonini et al. 2004). Atrofija sive mase je opisana u regijama odgovornim za kognitivno funkcionisanje i psihijatrijske poreme aje,

ali se korelacija moždane atrofije sa ovim stanjima ne detektuje konzistentno (Weber et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Hipotrofija bele mase je registrovana u predelu celog korpusa kalozuma, oba forniksa, u cingulumu, beloj masi svih režnjeva, u ponsu, srednjim cerebelarnim pedunkulima i beloj masi malog mozga (Minnerop et al. 2011).

Difuzioni tenzorski imidžing (*diffusion tensor imaging*, DTI) pokazuje mikrostrukturne promene u lezijama bele mase, ali i u naizgled normalnoj beloj masi bolesnika sa MD1 (Fukuda et al. 2005). DTI tako e registruje mikrostrukturne promene u korpusu kalozumu, posebno u regijama vezanim za motorni korteks (Ota et al. 2006), kao i smanjenje frakcione anizotropije u asocijacionim, komisuralnim i projekcionim putevima što svrstava MD1 u grupu bolesti sa *moždanom diskonekcijom (brain disconnection disorder)* (Minnerop et al. 2011). Smanjenje prednjeg dela korpusa kalozuma može biti u vezi sa prekomernom dnevnom pospanoš u u MD1 (Hashimoto et al. 1995), dok je povezanost nalaza DTI sa neuropsihološkim testiranjem grani na (Minnerop et al. 2011). Ošte enje kortikospinalnog trakta registrovano na DTI bilo je u korelaciji sa prostim motornim zadacima (Minnerop et al. 2011). DTI nalazi promene u beloj masi i kod bolesnika sa kMD1 i jMD1 (Wozniak et al. 2011).

Funkcionalna MR kod bolesnika sa MD1 pokazuje pove anu aktivaciju u sensorimotornim zonama korteksa, bazalnim ganglijama, talamusu i insuli nakon motornog zadatka (Caramia et al. 2010). Ovo govori o kompenzatornim mehanizmima poput reorganizacije i redistribucije neuronskih mreža kako bi se poboljšala funkcionalnost koja je posledica ultrastrukturnih i neurohemijskih promena nastalih usled ubrzanog starenja u MD1 (Caramia et al. 2010).

MR spektroskopija pokazuje pad nivoa N-acetilaspata (NAA) u srednjem delu okcipitalne sive mase, u temporoparijetalnoj sivoj masi i u frontalnoj beloj masi što govori u prilog smanjene gustine neurona ili smanjenog metabolizma u neuronima (Vielhaber et al. 2006). Pad nivoa kreatina i holina, koji su izraženi u frontalnoj beloj masi, idu u prilog gubitka ili disfunkcije glija elija (Vielhaber et al. 2006). Sa druge strane, u ranijoj studiji Changa i sar. registrovan je normalan nivo NAA i porast kreatina, holina i mioinozitola u temporalnoj i parijetookcipitalnoj kori bolesnika sa MD1 što govori u prilog o uvanosti neurona i pove anom glijalnom sadržaju (Chang et al. 1998). Sli no tome, Akiguchi nalazi smanjen odnos NAA i kreatina, kao i NAA i holina u regiji insule i operkuluma (Akiguchi et al. 1999). Neophodna su dalja istraživanja kako bi se objasnili konfliktni rezultati razli itih studija, ali i da bi se razjasnilo

da li su opservirane metaboličke promene posledica neurorazvojnog, ste enog ili neurodegenerativnog procesa.

Pozitronska emisiona tomografija fluorodeoksiglukozom (FDG-PET) kod bolesnika sa MD1 pokazuje hipoperfuziju prvenstveno u frontalnim i temporalnim kortikalnim regionima, i to više sa leve strane (Weber et al. 2010, Meola et al. 1999). Opservirane promene mogu se povezati sa frontalnim disegzekutivnim sindromom koji je est u MD1 (Romeo et al. 2010). Nejasno je da li promene u perfuziji oslikavaju atrofiju sive mase uo enu na VBM ili su fenomen za sebe.

Jedna SPECT (*single-photon emission computed tomography*) studija pokazuje pad protoka u frontalnoj i temporoparijetalnoj asocijativnoj regiji (Chang et al. 1993), dok druga studija ukazuje na blagu hipoperfuziju supratentorijalno levo, prevashodno kortikalno, kod oko 90% obolelih (Romeo et al. 2010).

1.4.15.7. Analiza biomarkera neurodegeneracije u likvoru bolesnika sa MD1

Ispitivanje biomarkera neurodegeneracije u likvoru bolesnika sa MD1 pokazuje pove ane vrednosti tau proteina uz normalne vrednosti fosforilisanog tau i snižene vrednosti beta amiloida 42 (Winblad et al. 2008). Ovakav nalaz se razlikuje od nalaza u Alchajmerovoj bolesti, ali je sli an promenama koje se vi aju u drugim neurodegenerativnim bolestima. Jasna korelacija nivoa biomarkera sa neuropsihološkim, psihijatrijskim i radiološkim nalazima nije utvr ena u dosadašnjim studijama (Winblad et al. 2008, Winblad et al. 2010).

1.5. Dijagnostika MD1

Dijagnoza MD1 se uglavnom postavlja nakon više godina od pojave prvih smetnji, pre svega zbog sporo progresivnog toka bolesti, kao i zbog lošeg uvida bolesnika u sopstveno zdravstveno stanje (Harper 2001). Dijagnoza se postavlja na osnovu tipične kliničke slike i elektromiografskog nalaza (EMG) uz molekularno-genetsku potvrdu dijagnoze kod samog bolesnika ili njegovog ro aka prvog stepena (Prior et al. 2009).

1.5.1. Osnovne dijagnostičke procedure

Kona na dijagnoza MD1 se postavlja molekularno-genetskom analizom, a izbor optimalne metode u mnogome zavisi od broja ponovaka. U na elu, ekspanzija sa manje od 100

ponovaka se može dokazati i klasičnom PCR metodom (sa izvesnim modifikacijama). Za detekciju veće ekspanzije metoda izbora je *Southern blot*. Suština ove metode je hibridizacija obeležene genske probe sa ispitivanom DNK, koja može biti genomska DNK ili produkt PCR reakcije. Iako je *Southern blot* metoda tehnički zametna, ona jedina omogućava određivanje preciznog broja CTG ponovaka (Turner et Hilton-Jones 2010, Udd et Krahe 2012). Pored toga, ova metoda ima mali procenat lažno negativnih nalaza u slučajevima ekstremne somatske heterogenosti (Udd et Krahe 2012). U novije vreme razvijena je metoda *triplet-primed* PCR, koja omogućava brzu dijagnostiku prisustva DM1 ekspanzije, ali bez detalja o mutiranom alelu.

Pre genetske ere, kombinovani nalaz miotonije i miopatije na EMG uz tipičnu kliničku sliku, bio je patognomoničan za dijagnozu miotonične distrofije (Harper 2001). Električna miotonija se prikazuje kao multiplo visokofrekventno pražnjenje u relaksiranom mišiću, varijabilne amplitude i frekvencije u okviru jednog pražnjenja (Romeo 2012). Zvučni efekat miotoničnog pražnjenja označava se kao *zvuk bombardera u obrušavanju* (Turner et Hilton-Jones 2010). Iako je difuzno zastupljena, električna miotonija je najizraženija u malim mišićima šake i anterolateralnoj regiji nogu (Romeo 2012). U kMD1 električna miotonija može biti potpuno odsutna ili prisutna samo u pojedinim mišićima ili se ispoljava u vidu brzih pražnjenja pojedinačnih vlakna (Logigian et al. 2007, Turner et Hilton-Jones 2010). Kod mladih odraslih sa MD1 miopatski nalaz može izostati uz prisutan nalaz miotonije što komplikuje diferencijalnu dijagnozu prema kongenitalnim miotonijama (Udd et Krahe 2012).

Nivo enzima kreatin kinaze (CK) obično je blago ili umereno povišen i retko prelazi 1000 IU/L (Udd et Krahe 2012, Romeo 2012). Od laboratorijskih analiza često se iz nepoznatih razloga mogu uočiti povišene vrednosti gama-glutamilttransferaze i hipogamagobulinemija (Udd et Krahe 2012, Heatwole et al. 2011).

1.5.2. Dopunske dijagnostičke procedure

Mišićna biopsija nije neophodna za postavljanje dijagnoze MD1 (Johnson et Heatwole 2012, Turner et Hilton-Jones 2010). Patohistološki nalaz u uzorku mišića je tipičan, ali ne i patognomoničan za MD1 i izraženiji je u distalnim nego u proksimalnim mišićima (Romeo 2012). Nalaz uključuje izrazito povećan broj centralnih i/ili unutrašnjih jedara, prstenasta vlakna, polidimenzionalizam vlakana, sarkoplazmatske mase i opšte miopatske promene (Harper 2001, Romeo 2012).

Centralna i unutrašnja jedra mogu se naći na samom početku bolesti, a njihova uestalost koreliše sa dužinom trajanja bolesti i kliničkom zahvaćenošću u mišićima (Romeo 2012). Na longitudinalnom preseku mišića mogu se uočiti lanci koje čine do 20 jedara (Romeo 2012). Smatra se da su centralno postavljena jedra u mišićima bolesnika sa MD1 uglavnom rezultat sekundarne migracije jedara (Romeo 2012). Pored navedenog, opisuje se i heterogenost nukleusa – dok su neka jedra piknotična, druga su bleđa i uvećana (Romeo 2012).

Prstenasta vlakna (*ringed fibers*) se mogu u manjem broju naći kod različitih mišićnih distrofija, kao i u normalnom mišiću, dok su kod MD1 česta i sreću se čak kod 70 % ovih bolesnika (Romeo 2012). Njihovo prisustvo je češće kod dužeg trajanja bolesti (Romeo 2012). Prstenasta vlakna morfološki predstavljaju miofibrile orijentisane pod uglom od 90° u odnosu na mišićno vlakno (Turner et Hilton-Jones 2010).

U uzorku mišića bolesnika sa MD1 postoji jasna diskrepanca u veličini vlakana, koja se javlja usled izražene hipotrofije vlakana tipa 1 i mestimične hipertrofije vlakana tipa 2 (Romeo 2012). Ovaj nalaz se smatra visoko specifičnim za MD1 (Romeo 2012).

Sarkoplazmatske mase se najčešće sreću u blizini prstenastih vlakana i sastavljene su isključivo od dezorganizovanog intermiofibrilarnog materijala (Romeo 2012).

Pored napred navedenog, na svetlosnoj mikroskopiji su vidljivi opšti znaci distrofijske lezije, kao što je proliferacija vezivnog tkiva (Romeo 2012). U uznapredovalom stadijumu bolesti mogu se naći angulirana vlakna sa znacima degeneracije i regeneracije u mišiću (nekroza, bazofilna vlakna, fagocitoza, fibroza, lobulirana i tzv. *moth-eaten* mišićna vlakna).

Klinički vidljivu mišićnu hipotrofiju i slabost prati masna degeneracija mišića vidljiva na pregledu magnetnom rezonancijom (MR) i kompjuterizovanom tomografijom (Udd et Krahe 2012). Prema Uddu i Kraheu (2012), u MD1 inicijalne promene su vidljive u m. soleusu i medijalnoj glavi m. gastrocnemiusa. Mišići i potkolenica obično budu potpuno zahvaćeni masnom infiltracijom pre nego što se uočavaju promene u natkolenicama (Udd et Krahe 2012).

1.5.3. Diferencijalna dijagnoza MD1

Diferencijalno-dijagnostički uvek treba razmišljati o MD2. Ako je negativan rezultat molekularno-genetske analize u DMPK genu, radi se genetska analiza na mutaciju u ZNF9 genu, jer 1-2 % bolesnika sa kliničkom slikom karakterističnom za MD1 može imati mutaciju tipičnu za MD2 (Turner et Hilton-Jones 2010).

Opisani su i slu ajevi bolesnika sa miopatijom i miotonijom i negativnom mutacijom za obe bolesti (Turner et Hilton-Jones 2010). Le Ber i saradnici su opisali porodicu sa proksimalnom miopatijom, miotonijom, kataraktom i frontotemporalnom demencijom smatraju i da se radi o miotoni noj distrofiji tipa 3 (Le Ber et al. 2004), ali je kasnije pokazano da se zapravo radilo o neobi noj prezentaciji *inclusion body* miopatije sa Padžetovom boleš u i frontotemporalnom demencijom uzrokovanoj mutacijom u proteinu koji sadži valozin (*valosin containing protein*) (Udd et al. 2006).

U obzir treba uzeti i druge nasledne bolesti povezane sa miotonijom, tzv. nedistrofi ne miotonije, uklju uju i kongenitalnu miotoniju sa mutacijom u genu za hlorni kanal, kao i kongenitalnu paramiotoniju i hiperkalijemijsku periodičnu paralizu sa mutacijom u genu za natrijumski kanal (Turner et Hilton-Jones 2010). Schwartz-Jumpelov sindrom (hondrodistrofi na miotonija) je retka bolest koju karakteriše teška miotonija, nizak rast, miši ne hipertrofije, difuzna bolest kostiju i kontrakture u zglobovima, a uzrokovana je mutacijom u genu za perlekan, protein bazalne membrane (Nicole et al. 2003). Posebno je interesantno da je Pompeova bolest sa adultnim po etkom jedino oboljenje kod kog se ne registruje klini ka, a registruje elektri na miotonija (Miller et al. 2008).

Što se ti e ste enih bolesti, poznato je da hipotireoza može biti udružena sa miotoni nim fenomenima što se ozna va kao Hoffmanov sindrom (Scarpalezos et al. 1973). Dijagnostiku dodatno komplikuje i injenica da hipotireoza može dati i drugi kardinalni elektrofiziološki znak miotoni ne distofije - miopatiju. Pojedini lekovi poput klofibrata, hlorokvina i kolhicina mogu dati elektri nu miotoniju (Miller et al. 2008).

Diferencijalno-dijagnosti ki u obzir dolaze i ste ene i nasledne bolesti sa fenomenom neuromiotonije poput Isaacovog sindroma i posebnog oblika hereditarne neuropatije sa mutacijom u HINT1 genu (Miller et al. 2008, Zimo et al. 2012). Neuromiotona pražnjenja se razlikuju od miotonih - imaju frekvenciju 100-300 Hz, nemaju obrazac krešendo-dekrešendo kao kod MD1, ve mogu imati nagli pad amplitude, može ih provocirati perkusija po nervu, a inhibiše ih blokada perifernog nerva anestetikom (Miller et al. 2008).

1.5.4. Prenatalna dijagnostika i genetsko savetovanje

Uzimaju i u obzir autozomno-dominantni na in nasle ivanja i veoma izražen fenomen anticipacije, prenatalna dijagnostika MD1 je od izuzetnog zna aja. Uglavnom se sprovodi

molekularno-genetska dijagnostika bazirana na biopsiji horionskih upica u prvom trimestru trudnoće (Martorell et al. 2007). Ukoliko se detektuje mutacija u DMPK genu, trudnica se upoznaje sa rezultatom i daju joj se informacije na osnovu kojih samostalno donosi odluku o ishodu trudnoće (Martorell et al. 2007).

Od 1995. godine se u svetu sprovodi i preimplantaciona dijagnostika, kod koje se nakon fertilizacije *in vitro* (IVF) vrši biopsija jedne blastomere i njena genetska analiza. Ovo omogućava da se izabere zdrav embrion, koji se implantira u uterus (Sermon et al. 1997). Preimplantaciona genetika je bezbedna metoda kod bolesnika sa MD1 i smatra se uspešnom, jer se kod polovine parova nakon dva pokušaja IVF rodi najmanje jedna beba (De Rademaeker et al. 2009).

Pri neurološkom pregledu kod skoro petine asimptomatskih članova porodice se otkrivaju kliničke abnormalnosti, dok se kod oko 10% onih koji se i nakon detaljnog kliničkog pregleda smatraju asimptomatskim, otkriva mutacija u DMPK genu (Brunner et al. 1991, Fokstuen et al. 2001). Presimptomatsko genetsko testiranje kod bolesnika sa MD1 je diskutabilno jer postoji velika varijabilnost u kliničkoj slici i godinama početka bolesti te je prognoza ponekad neizvesna (Fokstuen et al. 2001). Presimptomatsko testiranje pored molekularne analize mora da obuhvati i genetsko savetovanje, uključujući i uticaj dijagnoze na reprodukciju, značaj za potomke i druge rođake, uticaj na dalje privatne i poslovne obaveze, strategiju prihvatanja rezultata i stepen socijalne podrške (Fokstuen et al. 2001). Naime nosioci mutacije sa manje od 100 ponovaka mogu biti potpuno asimptomatski, ali postoji značajan rizik da bolest prenesu na potomstvo (Fokstuen et al. 2001). Presimptomatsko testiranje zdrave dece se ne preporučuje dok osoba ne postane dovoljno zrela da samostalno razume razloge i posledice testiranja i da dâ informisani pristanak, za šta se uzrast od 16 godina smatra adekvatnim (Fokstuen et al. 2001).

1.6. Terapijski pristup u MD1

U iščekivanju efikasne i bezbedne genske terapije, tretman bolesnika sa MD1 za sada se svodi na simptomatsku terapiju i skrining kritičnih simptoma. Dejstvom na pojedine simptome postiže se poboljšanje kvaliteta života i produženje životnog veka obolelog (Peric et al. 2013). Pored toga, neophodno je savetovanje o progresiji bolesti i genetsko savetovanje (Johnson et Heatwole 2012).

1.6.1. Simptomatska terapija i klinički skrining

Miotonija retko značajno utiče na aktivnosti svakodnevnog života, ali može ometati korišćenje aparata i instrumenata, rukovanje sa drugim ljudima, govor, gutanje, te je zato ponekad treba lečiti (Udd et Krahe 2012). U lečenju izraženije miotonije koriste se stabilizatori elijske membrane, a lek izbora je meksiletin u dozi tri puta 150 mg ili 3 puta 200 mg dnevno (Logigian et al. 2010). Efikasnost meksiletina dokazana je u dvostruko slepoj, placebo kontrolisanoj studiji (Logigian et al. 2010). Iako je u istoj studiji pokazano da meksiletin ne produžava značajno QTc interval, PR interval niti trajanje QRS kompleksa (Logigian et al. 2010), neophodno je redovno kardiološko praćenje ovih bolesnika s obzirom da se radi o leku iz klase antiaritmika (Foff et Mahadevan 2011). Pokušavano je i lečenje miotonije fenitoinom, karbamazepinom, tricikličkim antidepressivima, nifedipinom, flekainidom, acetazolamidom, prednizonom i taurinom (Logigian et al. 2010, Trip et al. 2006). Male pojedinačne studije su pokazale da bi taurin, imipramin i klomipramin mogli imati povoljno dejstvo na miotoniju (Turner et Hilton-Jones 2012). Međutim, usled nedostatka kvalitetnih randomizovanih studija na velikom uzorku bolesnika, nije mogla biti sprovedena meta analiza (Trip et al. 2006), te se ne može sigurno u govoriti o njihovoj efikasnosti.

Za poboljšanje mišićne snage mogu se primenjivati različiti lekovi i fizičke vežbe. Iako je efikasnost diskutabilna, dok je u određenoj fazi bolesti od velikog značaja propisivanje različitih ortopedskih pomagala.

Prema Cochrane-ovom preglednom radu, primena kreatin monohidrata u dozi od 5 do 10 g dnevno u periodu od dva do šest meseci znatno poboljšava mišićnu snagu i funkcionalnost kod bolesnika sa mišićnim distrofijama, i to bez značajnih neželjenih efekata (Kley et 2011). Nažalost, dve studije na bolesnicima sa MD1 su pokazale konfliktne rezultate. U jednoj studiji se nalazi povećanje maksimalne voljne kontrakcije za 8.4 % (Walter et al. 2002), a u drugoj blaga redukcija od 3.1 % (Tarnopolsky et al. 2004) tako da konačna meta analiza ne pokazuje ni pozitivan ni negativan efekat (Kley et al. 2011). S obzirom da je u obe studije uključeno samo 68 bolesnika u kratkom periodu praćenja od 8 do 12 nedelja, neophodno je ispitivanje primene kreatina u velikoj dvostruko slepoj, randomizovanoj studiji da bi se dala konačna preporuka o njegovoj upotrebi u MD1.

Mekasermin rinfabat (iPLEX), koji je kombinacija rekombinantnog IGF1 (*insulin like growth factor 1*) i njegovog vezujućeg proteina (BP-3), u upotrebi je od decembra 2005. godine

u Sjedinjenim Američkim Državama za lečenje poremećaja rasta kod dece sa teškim oblikom IGF1 deficijencije (Turner et Hilton-Jones 2012). Pojedine studije na kulturi mišija su ukazale da ipLEX može popraviti insulinsku rezistenciju i funkciju mioblasta (Furling et al. 1999). Primenom ovog preparata kod bolesnika sa MD1 primećeno je porast mišije mase, sniženje nivoa triglicerida, povećanje nivoa HDL holesterola i testosterona u serumu, ali bez efekta na mišiju snagu (Heatwole et al. 2011).

U MD1 se opisuje nizak nivo dehidroepiandrosterona (DHEA) (Carter et Steinbeck 1985, Nakazora et Kurihara 2005). Pilot studija je pokazala da primena DHEA može poboljšati miotoniju, mišiju snagu i srčane poremećaje kod bolesnika sa MD1 (Sugino et al. 1998). Skoro je sprovedena multicentrična, randomizovana, dvostruko slepa studija na 75 pokretnih bolesnika sa MD1 koja je pokazala da ni supstituciona doza DHEA od 100 mg dnevno ni farmakološka doza od 400 mg dnevno nemaju bolji efekat na mišiju snagu od placeba nakon dvanaestonedeljnog tretmana (Penisson-Besnier et al. 2008).

Cohrane-ov pregledni rad pokazuje da vežbe snage i aerobik kod bolesnika sa mišijim bolestima ne deluju štetno, te da mogu blago poboljšati mišiju snagu kod bolesnika sa facioskapulohumeralnom mišijom distrofijom (Voet et al. 2010). Smatra se da se vežbanjem može prevenirati pojava dodatne hipotrofije mišija koja nastaje *ex inactivitate*. Pokazano je da aerobik blagog intenziteta može pomoći bolesnicima sa MD1 da se osećaju bolje i da imaju bolju iskorišćenost kiseonika (Ørngreen et al. 2005), ali da vežbe snage nemaju ni pozitivnog ni negativnog uticaja na bolest (Lindeman et al. 1995). Sa druge strane, jedna studija je pokazala da je ekstremno vežbanje pogubno za obolelog od mišije distrofije, ali su neophodna dodatna ispitivanja na ovom polju (Kilmer et al. 1994).

Nošenje dubokih cipela, kao i propisivanje ortoza za stopala može biti od koristi kod pacijenata sa peronealnim hodom i *visu im stopalima* (Johnson et Heatwole 2012). Kod uznapredovalih stadijuma bolesti potrebno je korišćenje šetalice, a kasnije i invalidskih kolica (Johnson et Heatwole 2012). Ponekad je potreban hirurški tretman retrahovanih tetiva i teških deformiteta kičme, posebno kod dece sa teškom respiratornom insuficijencijom (Romeo 2012).

Radna terapija može poboljšati funkciju šake, ali je njen najveći značaj u adaptaciji životnog prostora bolesnikovim potrebama (Turner et Hilton-Jones 2010). Isto je koristan tretman logopeda (Turner et Hilton-Jones 2010).

Kod svih bolesnika sa MD1 se savetuje pregled o nog so iva jednom godišnje, a kod simptomatskih bolesnika i eš e (Johnson et Heatwole 2012). Le enje zrele katarakte podrazumeva operativnu zamenu so iva, ali treba imati na umu i mogu u rekurentnu kataraktu, kao i kontrakturu so iva, koja nastaje usled fibrozne metaplazije epitelnih elija prednje kapsule (Garrott et al. 2004).

Bolesnici sa slaboš u mimi ne muskulature koja dovodi do ošte enje korneje mogu imati koristi od primene kapi i masti za o i tokom spavanja (Johnson et Heatwole 2012).

Hirurška intervencija podizanja kapaka savetuje se kod bolesnika sa teškom ptozom koja dodovi do funkcionalnih smetnji vida (Romeo 2012).

Kod bolesnika sa simptomatskim ošte enjem sluha, neophodan je pregled audiometrijom i ordiniranje slušnog aparata kada je to potrebno (Johnson et Heatwole 2012).

S obzirom da su poreme aji sr anog ritma glavni uzrok mortaliteta u MD1, njihovo pra enje i le enje je od velikog zna aja (Mathieu et al. 1999, Groh et al. 2008, Rakocevic et al. 2013). Savetuje se EKG pregled jednom godišnje, a po potrebi i 24- asovni EKG holter monitoring (Turner et Hilton-Jones 2010). Nizak je prag i za primenu elektrofiziološkog ispitivanja kod ovih bolesnika (Turner et Hilton-Jones 2010). Intrakardijalna elektrofiziološka analiza sprovodnog sistema srca (hisografija) razmatra se kod bolesnika koji imaju presinkope, povremene gubitke svesti, vrtoglavice i palpitacije kao i kod onih koji imaju pozitivnu porodi nu anamnezu za naprasnu smrt (McNally et al. 2011). Hisografija može biti od velikog zna aja u ranom otkrivanju poreme aja sr anog sprovo enja, ak i kod pacijenata sa normalnim EKG nalazom (Rako evi Stojanovi 1997).

esto sr ani poreme aji kod MD1 bolesnika progrediraju mnogo brže nego miši ni (Sovari et al. 2007). Veruje se da iznenadna sr ana smrt nastaje kao posledica nepredvidive progresije AV bloka, te se ugradnja trajnog pejsmejкера preporu uje kod bolesnika koji imaju HV (*Hiss-ventricular*) interval duži od 100 ms ili AV blok bilo kog stepena bez obzira na prisustvo ili odsustvo simptoma (Epstein et al. 2008). Kardioverter defibrilator koristi se kao terapija izbora kod bolesnika sa ventrikularnim tahiaritmijama (Sovari et al. 2007). Pojava *bundle branch reentry* tahikardije (BBRT) se uglavnom efikasno le i radiofrekventnom ablacijom desne grane Hisovog snopa, pri emu nema potrebe za ugradnjom kardioverter defibrilatora (ICD) (Sovari et al. 2007). Kod pojave atrijalnih aritmija treba razmotriti uvo enje

antikoagulantne terapije, ali uz oprez, jer slabost skeletne muskulature kod ovih bolesnika dovodi do estih padova (McNally et al. 2011).

Neki autori predlažu ehokardiografski pregled jednom godišnje kod svih bolesnika, dok drugi navode da je on neophodan samo kod bolesnika sa sr anim simptomima i kod onih koji imaju poreme aje sr anog sprovo enja ili aritmije (Sovari et al. 2007, McNally et al. 2011). U retkim situacijama kada postoji dilatativna kardiomiopatija, ona se mora detaljno ispitivati s obzirom da može biti izvor zna ajnih aritmija poput atrijskog flatera ili fibrilacije, ektopi nog ritma, produžene atrijske ili ventrikularne tahikardije (Romeo 2012). U takvim slu ajevima, bilo kakva fibrozna promena u levoj ili desnoj komori zaslužuje vanrednu pažnju (Romeo 2012). Terapijski pristup u le enju kardiomiopatije kod MD1 uklju uje primenu ACE inhibitora, blokatora angiotenzinskih receptora i beta blokatora (McNally et al. 2011).

Od velikog zna aja je pra enje disajne funkcije u supinaciji kako bi se otkrili rani znaci respiratorne insuficijencije (Johnson et Heatwole 2012). Respiratorne infekcije treba agresivno le iti antibioticima, a savetuje se i primena vakcina (Gagnon et al. 2010). U nekim situacijama potrebna je neinvazivna ventilacija, ali je bolesnici generalno loše tolerišu (Turner et Hilton-Jones 2010).

Kod bolesnika sa insulinskom rezistencijom, glukoznom intolerancijom i dijabetesom, treba savetovati fizi ku aktivnost i odgovaraju u ishranu (Romeo 2012). Hiperglikemije se uspešno rešavaju metforminskim preparatima s obzirom da oni dovode do pove anog preuzimanja glukoze u miši no tkivo (Kouki et al. 2005). Kod bolesnika sa neregulisanim dijabetesom, savetuje se primena insulinskih preparata (Romeo 2012).

U terapiji hiperlipidemije preporu uje se izbegavanje statina, jer mogu dovesti do rabdomiolize, bolova i slabosti u miši ima što dodatno komplikuje osnovnu bolest (Bird et al. 1999).

Gonadalna disfunkcija se le i supstitucionom enzimskom terapijom kad je to potrebno (Udd et Krahe 2012). Pre razmatranja terapije erektilne disfunkcije, neophodno je proveriti nivo testosterona u serumu i pokušati sa supstitucijom ako je testosteron nizak (Udd et Krahe 2012). Kao druga opcija, može se pokušati sa sildenafilom (Gagnon et al. 2010).

Kod bolesnika sa neadekvatnim lu enjem GH nakon stimulacije, primenjivana je supstituciona terapija humanim hormonom rasta, ali su studije ostale bez jasnih zaklju aka (Moxley 1994, Vlachopapadopoulou et al. 1995).

Neophodno je striktno pra enje gastrointestinalnih smetnji u cilju spre avanja najtežih komplikacija poput aspiracije i akutne pseudoopstrukcije kolona (Harper 2001).

Problemi sa gutanjem mogu se rešiti promenom konzistencije hrane i dodavanjem suplemenata u ishrani, kao i primenom tzv. *bezbednih tehnika gutanja* (Motlagh et al. 2005). Bolesnici sa teškom disfagijom i estim aspiracijama mogu se razmatrati kao kandidati za plasiranje perkutane gastrostome (Johnson et Heatwole 2012).

Gastroezofagealni refluks se može tretirati izbegavanjem no nih obroka, podizanjem uzglavlja i lekovima koji se ina e primenjuju za ovu indikaciju (Johnson et Heatwole 2012). Eritromicin može poboljšati usporeno pražnjenje želuca kompenzuju i smanjeni nivo motilina u MD1 (Rönblom et al. 2002).

Savetuje se uzimanje manjih nemasnih obroka kako bi se smanjile tegobe poput zatvora, dijareje, abdominalnog bola i nadutosti (Johnson et Heatwole 2012). Holestiramin je preparat koji poboljšava abdominalne bolove, dijareju i fekalnu inkontinenciju, verovatno mehanizmom smanjivanja osmolarnosti i spre avanjem apsorpcije žu nih soli u terminalnom ileumu (Turner et Hilton-Jones 2010). Norfloksacin smanjuje preterani rast bakterijske flore u intestinalnom traktu i može se primeniti kad holestiramin nema efekta (Rönblom et al. 1996). Bolesnici sa upornim bolom u trbuhu mogu imati koristi od primene terapije za suzbijanje miotonije (Johnson et Heatwole 2012).

Iako se maligna transformacija pilomatriksoma dešava izuzetno retko, savetuje se hirurško uklanjanje ovih kožnih promena iz estetskih razloga, zbog patohistološke diferencijalne dijagnoze prema težim kožnim bolestima, kao i zbog eventualne pojave karcinoma (Chan et al. 2010).

Prilikom primene anestezije, generalno se savetuje izbegavanje antiholinesteraznih lekova, depolarišu ih miorelaksanata i inhalacionih anestetika (Sinclair et al. 2009, www.myotonic.org).

Bolesnika pri svakom pregledu treba testirati na prisustvo dnevne pospanosti i zamora, a one koji imaju ove poreme aje treba uputiti na polisomnografiju (Johnson et Heatwole 2012). Hipersomnija bi se mogla tretirati psihostimulativnim lekovima poput modafinila koji se u dozi od 200 do 400 mg na dan pokazao kao dobra opcija za le enje pospanosti u MD1 u nekoliko studija (Damian et al. 2001, MacDonald et al. 2002, Talbot et al. 2003, Wintzen et al. 2007, Hilton-Jones et al. 2012). Teoretski rizik od sr anih i psihijatrijskih neželjenih efekata pri ovoj

terapiji nije potvrđeno ni kod bolesnika sa MD1 ni kod bolesnika sa narkolepsijom, a kao najčešći neželjeni efekti navode se glavobolja i gastrointestinalne smetnje (Talbot et al. 2003, Turner et Hilton-Jones 2012). Cochrane-ov pregled pokazuje da je sadašnji nivo znanja nedovoljan da se dâ konačna preporuka o upotrebi psihostimulanasa kod bolesnika sa MD1 (Annane et al. 2006).

1.6.2. Genska terapija

Istraživanja vezana za efikasnost i bezbednost genske terapije kod MD1 su do sada vršena samo u kulturi ćelija i na eksperimentalnim modelima.

Potencijalna ciljna mesta dejstva genske terapije su sama mutirana DNK, toksini na RNK, RNK vezuju i proteini, kao i primarni prepisi RNK koji daju različite proteinske produkte (Slika 8) (Foff et al. 2011). Najveći i terapijski benefit bi se postigao ako bi se delovalo na nivou ekspanziranih ponovaka na samoj DNK, ali je to tehnički teško izvodljivo i za sada ostaje u okvirima teoretskih mogućnosti (Mulders et al. 2010). Sa druge strane, tehnički je najjednostavnije izvesti terapijsko dejstvo na pojedinačne produkte aberantnog splajsinga, ali bi se time delovalo samo na pojedine simptome ovog multisistemskog oboljenja (Foff et al. 2011).

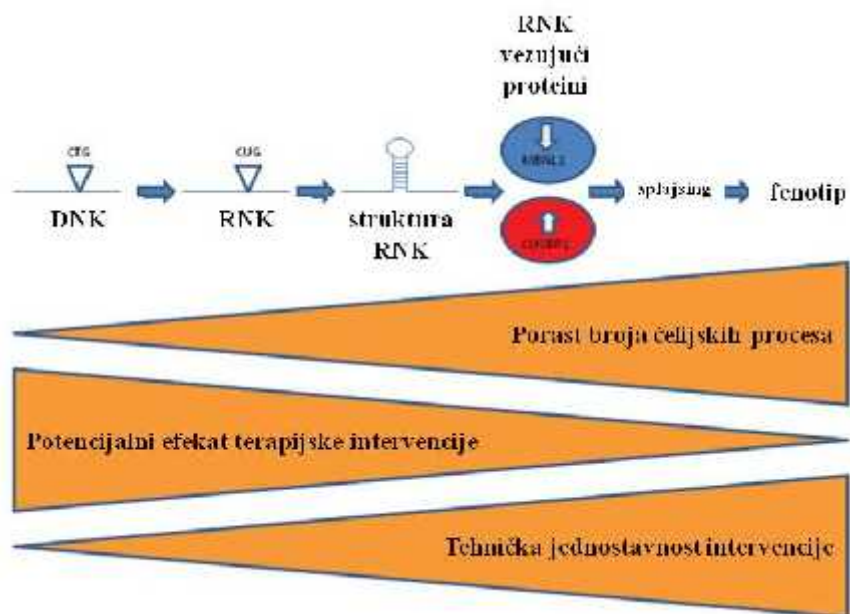
Kao što je već napomenuto, targetovanje samog CTG niza u DMPK genu predstavljalo bi optimalnu terapiju u MD1, ali se za sada ovaj pristup uglavnom svodi na teorijski. Kao potencijalni ciljevi navode se mehanizmi reparacije DNK, putevi metilacije DNK i replikaciona mašinerija (Foff et al. 2011). Pored toga, nekoliko istraživanja pokazuje da mali molekuli koji se ciljano vezuju za CTG ponovke u DNK mogu biti dobri terapeutici u budućnosti (Gomes-Pereira et al. 2006).

Znatno bolji rezultati su postignuti delovanjem na nascentnu toksinu na RNK pomoću ribozima i antisens oligonukleotida (AON) (Foff et al. 2011).

Ribozimi su RNK molekuli koji imaju karakteristike enzima; najčešće imaju terciarnu strukturu (Foff et al. 2011). U jednom eksperimentu vezanom za potencijalni tretman MD1 mutacije, primenom ribozima u kulturi ćelija omogućena je zamena endogenog niza od 12 CTG ponovaka nizom od pet CTG ponovaka sadržanih u ribozimu (Phylactou 2004). Druga grupa autora je u kulturi mioblasta primenjivala ribozime specifično usmerene na mutirani RNK transkript, i nakon tretmana je postignuta parcijalna restauracija normalnog splajsinga insulinskog receptora (Langlois et al. 2003). Nažalost, primena ribozima smanjuje količinu i patološkog i normalnog DMPK transkripta (Langlois et al. 2003).

AON (antisens oligonukleotidi) predstavljaju kratke jednolanane nizove nukleinskih kiselina koji se vezuju za komplementarnu *sense* informacionu RNK (Foff et al. 2011). U terapijskim pokušajima leenja MD1 koriste se dve forme AON - jedna stabilizovana pomoću 2'-O-metil-fosforotiotata (MOE AON) i druga stabilizovana pomoću fosfordiamidata (morfolino ili PMO AON), imese povećavastabilnost i specifično preuzimanje RNK molekula u tkiva (Johnson et Heatwole 2012). U kulturi ćelijai u eksperimentalnom modelu, pokazano je da AON mogu da se vezuju za ciljnu sekvencu RNK. Oni deluju ili tako što razgrađuju DMPK RNK ili onemogućavaju vezivanje RNK vezujućih proteina za RNK - imese smanjuje količina DMPK transkripta, smanjuje broj toksičnih fokusa RNK i poboljšavaju pojedini defekti u splicingu (Furling et al. 2003, Mulders et al. 2009, Wheeler et al. 2009). Nedostaci ove terapije su smanjenje nivoa transkripta normalnog alela DMPK gena, kao i problemi administracije (Foff et al. 2011). Smatra se da primena AON putem adenovirusnih vektora omogućava kontinuiranu produkciju ovih molekula i produženi terapijski efekat (Foff et al. 2011).

Slika 8. Konceptualni pristup genskoj terapiji u MD1



Patogenetski mehanizam MD1 - intervencija na nivou mutirane DNK bila bi od najveće koristi, ali je tehnički najteže izvodljiva. prilagođeno prema Foff et al. 2011.

Pojedina istraživanja su se bazirala na činjenici da toksini na RNK formiraju dvostranu strukturu oblika ukosnice te da se ona može degradirati pomoću siRNK (*small interfering RNA*) molekula (Langlois et al. 2003, Langlois et al. 2005, Johnson et al. 2012). Molekuli siRNK se mogu dizajnirati tako da budu usmereni prema toksinim RNK sekvencama sa kojima formiraju dvostrani kompleks koji aktivira RNK-indukovane *silencing* komplekse i vodi degradaciji (Soifer et al. 2007). Cilj ovog terapijskog pristupa je uklanjanje toksinih struktura RNK (Soifer et al. 2007). Pokazano je da siRNK molekuli uneti u MD1 mioblaste putem lentivirusa smanjuju nivo mutantne RNK, ali se, nažalost, na ovaj način smanjuje i nivo normalne RNK prepisane sa DMPK gena (Langlois et al. 2005). Pored toga, za ovaj terapijski pristup neophodne su dalje inovacije, pre svega u smislu vezivanja za ta određene sekvence i u smislu sistemske primene u živom organizmu (Foff et al. 2011). Nedavno je pronađen molekul D-aminokiselinskog peptida (ABP1), koji ima sposobnost vezivanja i razgradnje strukture ukosnice sa smanjenjem toksinog efekta RNK u kulturi ćelija i eksperimentalnom modelu (García-López et al. 2011).

Jedan od pristupa u genskoj terapiji MD1 jeste i razgradnja veze između toksinog RNK i RNK vezujućih proteina sa posledičnim oslobađanjem funkcionalnog MBNL proteina (Foff et al. 2011). Primena peptidnog nosača sa kanamicinom A ima osobinu da se visoko specifično vezuje za ciljane sekvence, ali njegova primena u živom organizmu još uvek nije pokušavana (Arambula et al. 2009). Pokušano je i sa primenom pentamidina, leka koji se koristi u lečenju infekcije uzrokovane gljivicom *Pneumocystis carinii* (Warf et al. 2009). U kulturi ćelija i na modelu miša je utvrđeno da ovaj lek delimično normalizuje alternativni splicing zavisan od MBNL1 proteina (Warf et al. 2009). Međutim, s obzirom na to da lek ima uzak terapijski prozor, doze koje bi dovele do efekta raskidanja veze patološke RNK i MBNL1 proteina su toksinone za živi organizam (Warf et al. 2009). Istraživači smatraju da bi modifikacija pentamidina, kojom bi se zadržala njegova bitna funkcija, a smanjila toksinost, dala povoljne rezultate (Foff et al. 2011). U razgradnji veze toksinog RNK i RNK vezujućih proteina pokušano je i sa primenom morfolino AON CAG25 i dobijeni su sjajni rezultati (Foff et al. 2011). Morfolino CAG25 ne samo da blokira formiranje novih kompleksa sastavljenih od toksinog RNK i MBNL1 proteina, već i razgrađuje ranije formirane komplekse što u modelu miša dovodi do gotovo potpune normalizacije alternativnog splicinga (Wheeler et al. 2007).

Pokušavano je i sa vraćanjem nivoa RNK vezuju ih proteina u opseg vrednosti koji se viđa i kod zdravih ljudi. Kanadia i sar. su administracijom adenovirusnog vektora koji eksprimira MBNL1 protein doveli do poboljšanja splajsinga hlornog kanala i smanjenja miotonije, bez promene patohistološkog nalaza u miši u glodara (Kanadia et al. 2006). Primena inhibitora protein kinaze C u eksperimentalnom modelu miša sprečila je povećanje nivoa stabilnog CUGBP1 i posledično popravila srčanu funkciju i kontraktilnost i redukovala mortalitet obolelih životinja (Ward et al. 2010).

Smatra se i da targetiranje specifičnih proteinskih produkata alternativnog splajsinga može biti potencijalno korisno, ali se ovim terapijskim pristupom udaljava od samog uzroka bolesti (Johnson et Heatwole 2012, Foff et al. 2011). Primena morfolino AON usmerenih ka egzonu 7a hlornog kanala metodom *skippinga* egzona može da poboljša splajsing, poveća ekspresiju mišićnog hlornog kanala i posledično smanji električnu miotoniju na dva mišićna modela (Wheeler et al. 2007). Iako ovaj pristup deluje obećavajuće, bilo bi neophodno da se deluje na veliki broj proteina za koje je oštećen splajsing kako bi se u potpunosti izmenio tok bolesti (Johnson et Heatwole 2012). Ipak, terapijsko targetiranje proteina koji daju najteže simptome bolesti poput poremećaja srčanog sprovođenja, imalo bi smisla (Foff et al. 2011).

Iako su svi gore navedeni rezultati obećavajući, još nisu sprovedene kliničke studije sa primenom genske terapije kod obolelih od MD1. Neophodne su dalje inovacije, pre svega u smislu selektivnosti terapeutika i smanjenja njihove toksičnosti, kao i u smislu njihove sistemske administracije u živom organizmu (Johnson et Heatwole 2012).

1.7. Prognoza kod bolesnika sa MD1

Smrtnost dece sa kMD1 dostiže 25 % kod onih kojima je neophodna ventilatorna podrška duže od tri meseca (Campbell et al. 2004), dok je prosečan životni vek kod bolesnika sa kMD1 koji prežive prvu godinu života oko 45 godina (Cobo et al. 1995, Turner et Hilton-Jones 2010). Nema podataka o prognozi jMD1 (Turner et Hilton-Jones 2010). Prosečan životni vek bolesnika sa aMD1 je skraćen u odnosu na opštu populaciju i iznosi između 48 i 60 godina (de Die-Smulders et al. 1998, Mathieu et al. 1999, Turner et Hilton-Jones 2010). Bolesnici sa oMD1 u proseku žive duže od 60 godina dostižu i životni vek opšte populacije (Turner et Hilton-Jones 2010).

Kod bolesnika sa MD1 stopa smrtnosti je povećana sedam puta u odnosu na opštu populaciju istog pola i starosti (Mathieu et al. 1999). Kao glavni uzrok smrti navode se respiratorna insuficijencija i kardiološki poremećaji (Mathieu et al. 1999, de Die-Smulders et al. 1998, Groh et al. 2008). Regstruje se kraće preživljavanje kod bolesnika sa većim brojem CTG ponovaka (Groh et al. 2008). De Die-Smulders i sar. navode da je čak 50 % bolesnika sa adultnom formom MD1 delimično ili potpuno vezano za kolica neposredno pre smrti (de Die-Smulders et al. 1998).

Prosečno preživljavanje bolesnika sa MD1 na teritoriji grada Beograda u periodu od 1983. do 2002. godine iznosilo je 52 godine za muškarce i 60 godina za žene (57 godina za oba pola) (Mladenovic et al. 2006). Stopa mortaliteta bolesnika sa MD1 u poređenju sa opštom populacijom bila je uvek više od 5 puta, a nepovoljni prognostički faktori su bili raniji početak bolesti i muški pol. Glavni uzrok smrti je bila pneumonija (kod 27% bolesnika) i poremećaji srčanog sprovođenja i ritma (kod 20 % obolelih).

Prema novijoj studiji koja je retrospektivno uključila sve pacijente naše klinike koji su bili hospitalizovani u periodu od 1990. do 2009. godine, prosečno preživljavanje iznosilo je 56 godina, a najčešći uzroci smrti su bili naprasna smrt (42%) i respiratorna insuficijencija (29%) (Rakocevic Stojanovic et al. 2013).

2. CILJEVI

1. Određivanje neuropsihološkog profila, uestalosti depresivnosti i anksioznosti, uestalosti i tipa poremećaja ličnosti, kao i prisustva prekomerne dnevne pospanosti i zamora kod bolesnika sa MD1.

2. Ispitivanje morfoloških specifičnosti mozga bolesnika sa MD1 pomoću MR, uključujući i analizu hiperintenzivnih lezija bele mase na T2 sekvenci, analizu regionalne atrofije sive mase pomoću VBM, kao i analizu mikrostrukture puteva bele mase pomoću DTI.

3. Ispitivanje strukturnih promena supstancije nigre, drugih supkortikalnih jedara, *nc. raphe* i treće moždane komore pomoću parenhimskog ultrazvuka mozga.

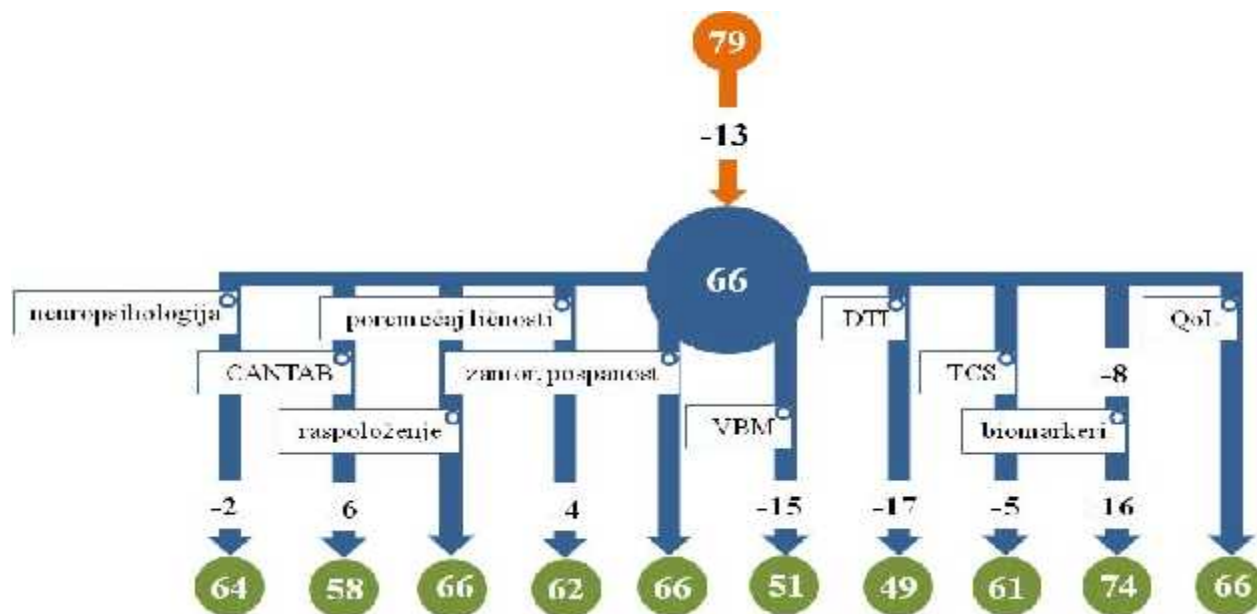
4. Određivanje nivoa tau proteina, hiperfosforilisanog tau proteina i beta amiloida 42 u likvoru bolesnika sa MD1.

5. Ispitivanje uticaja poremećaja centralnog nervnog sistema na kvalitet života bolesnika sa MD1.

3. MATERIJAL I METODE

Svim punoletnim bolesnicima sa juvenilnom i adultnom formom MD1, koji su ambulantno pregledani na Klinici za neurologiju Kliničkog centra Srbije u periodu od 1. januara do 31. oktobra 2011. godine, predloženo je da učestvuju u ovom istraživanju. Svakom bolesniku je detaljno objašnjeno u kojim ispitivanjima bi učestvovao, kao i da bi bila neophodna hospitalizacija u stacionaru ili dnevnoj bolnici Klinike u trajanju od oko dve sedmice. Od ukupno 79 bolesnika koji su pregledani u ovom periodu, njih 13 je odbilo da učestvuje u studiji: pet bolesnika nije bilo zainteresovano, četiri bolesnika nisu mogla da odsustvuju sa posla ili fakulteta, a po jedan bolesnik nije mogao da bude uključen u studiju zbog prisustva druge bolesti, trudnoće, odsluženja zatvorske kazne ili zbog nemogućnosti dobijanja uputa od strane socijalnog osiguranja (Slika 9). Bolesnici koji nisu učestvovali u istraživanju nisu se razlikovali po polu, starosti, godinama na početku bolesti, trajanju, niti težini bolesti u odnosu na bolesnike koji su uključeni u studiju.

Slika 9. Broj bolesnika sa MD1 koji su učestvovali u pojedinim segmentima ispitivanja



CANTAB - Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery, VBM – morfometrija zasnovana na vokselu, DTI – difuzioni tenzorski imidžing, TCS – transkranijalna sonografija moždanog parenhima, QoL – kvalitet života; detaljniji podaci nalaze se u tekstu

Eksperimentalnu grupu konačno je činilo 66 bolesnika iz 47 porodica, koji su hospitalizovani u stacionaru ili dnevnoj bolnici Klinike u periodu od 1. novembra 2011. do 31. maja 2012. godine. Svi ispitanici su potpisali informisani pristanak o učesničkom u studiji. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Kod svih ispitivanih bolesnika dijagnoza miotonične distrofije tipa 1 postavljena je na osnovu tipične kliničke slike i elektromiografskog nalaza, a potvrđena je molekularno-genetskom analizom ekspanzije CTG ponovaka u DMPK genu (The International Myotonic Dystrophy Consortium (IDMC) 2000, Kamsteeg et al. 2012). Većina samopostavljena, iz studije su isključeni bolesnici sa kongenitalnom i oligosimptomatskom MD1, kao i bolesnici mlađi od 18 godina.

3.1. Molekularno-genetska dijagnostika

Kao biološki materijal korišćena je periferna krv uzorkovana od svih ispitivanih bolesnika tokom hospitalizacije na Klinici za neurologiju. Uzimano je po 5 ml krvi, a kao antikoagulant korišćen natrijum-citrat u koncentraciji 0,38 % (w/v). Uzorci su do finalne analize čuvani na -20°C. DNK je izolovana iz krvi neposredno pred molekularno-genetsku analizu. Za određivanje veličine ekspanzije korišćena je metoda *Southern blot*.

3.1.1. Izolovanje genomske DNK iz limfocita periferne krvi

Genomska DNK je izolovana upotrebom *QIAamp DNA mini kiti* (*QIAGEN*, Nemačka) po uputstvu proizvođača. *QIAamp DNA mini kit* je namenjen za brzu izolaciju ukupne DNK (genomska, viralna, mitohondrijalna) iz pune krvi, plazme, seruma, taloga leukocita, kostne srži, drugih telesnih tečnosti, kultivisanih ćelija, tkiva i forenzičkih uzoraka. Nakon izolacije, dobijena DNK je dovoljno kvalitetna da se može koristiti za PCR i *Southern blot* metodu. Ako se kao početni materijal koristi puna krv, očekivani prinos iz 200 µl krvi je oko 6 µg ukupne DNK.

Pri izolaciji DNK iz pune krvi, prvo su lizirani limfociti puferom za lizu u prisustvu proteinaze K. Lizat je zatim centrifugiranjem propušten kroz *Mini spin* kolonice pri čemu se DNK vezala za silikonsku membranu kolonice, a ostale komponente ćelija prošle su kroz nju. Zatim je odgovarajućim puferima vršeno dodatno ispiranje DNK od proteina i drugih agenasa koji bi potencijalno mogli da inhibišu PCR reakciju. Prečišćena DNK je na kraju eluirana sa

membrane u odgovarajućem puferu ili redestilovanoj vodi. Kvalitet i količina izolovane DNK su određivani spektrofotometrijom, koja se zasniva na merenju količine svetlosti koju neka supstanca apsorbuje na određenoj talasnoj dužini. Količina apsorbovane svetlosti odgovara koncentraciji ispitivane supstance. Nukleinske kiseline apsorbuju na 260 nm i koncentracija DNK je računata prema odgovarajućoj formuli. Isto važi i za uzorka DNK na spektrofotometru je određivana pomoću apsorbanca izmerene na talasnim dužinama od 230, 280 i 340 nm. Na 230 nm apsorbuju fenolati anjon, tiocijanat i peptidi, na 280 nm apsorbuju fenol i proteini, dok apsorbanca na 330 nm i više ukazuje na prisustvo čestica u rastvoru koje rasejavaju svetlost u vidljivom spektru (npr. soli). U našem istraživanju merenja su vršena na spektrofotometru *BioPhotometer Plus* (Eppendorf, Nemačka) u plastičnim kivetama *Uvette* (Eppendorf, Nemačka).

3.1.2. Southern blot produkata dobijenih metodom long-range small-pool PCR

Long-range small-pool PCR (LR-SP-PCR) podrazumeva PCR amplifikaciju sekvenci obično većih od 5 kb (*long range*) iz malih alikvota (*small pool*), koji sadrže svega 3 pg do 1,2 ng DNK koja je digerirana odgovarajućim enzimima (Gomes-Pereira et al. 2004). Dobijeni produkti se razdvajaju elektroforezom na agaroznom gelu i detektuju *Southern blot* hibridizacijom u uslovima koji omogućavaju identifikaciju produkta koji nastaje umnožavanjem samo jednog DNK molekula. Ova metoda omogućava detaljnu kvantifikaciju stepena heterogenosti veličina alela u datom uzorku, uključujući i detekciju kako istih varijanti, tako i alela prisutnih u malom broju ćelija.

Početni korak u molekularno-genetskoj analizi u našem istraživanju, predstavljala je digestija genomske DNK restrikcijom enzimom EcoR1, koji se na DNK se na DNK na restrikcijom mestima uzvodno i nizvodno od (CTG)_n ponovaka u DMPK genu. Ovaj korak je neophodan kako bi se u prvim ciklusima LR-SP-PCR obezbedila kompletna denaturacija malog broja molekula genomske DNK, što je omogućilo MD_F i MD_R prajmerima da se efikasno vežu za sve svoje ciljane sekvence prisutne u uzorku. Efikasnost enzimske digestije i kvantitet DNK određivan je poređenjem digeriranih uzoraka sa digeriranom genomskom DNK poznate koncentracije od 2,5 ng/μl (*K562 DNK*, *Promega*, *SAD*) posle elektroforeze na 2 % (w/v) agaroznom gelu, izlaganjem gela UV svetlu na transiluminatoru (*HVD Life Sciences UV Transilluminator*).

Od restrikciono digerirane genomske DNK pripremljena je serija razblaženja DNK sa koncentracijama u opsegu od 6 pg/ μ l do 3 ng/ μ l. LR-SP-PCR je izvo en u tankozidnim mikrotubama od 0,2 ml u volumenu od 12,5 μ l na opremi *GeneAmp PCR System 9700 (Life Technologies, SAD)*. Sam PCR se sastojao od faza inicijalne denaturacije, ciklusa umnožavanja DNK i finalne ekstenzije. Nakon ove faze vršena je elektroforeza LR-SP-PCR produkata na agaroznom gelu koncentracije 1,2 % (w/v) u kadici dužine 20 cm tokom 16-18 sati. Pored uzoraka, na gel je nalivan i DNK standard za veli inu koji je obeležen na 3' kraju digoksinin-ddUTP-om (*DIG-ddUTP; DNA Molecular Weight Marker X (0,07-12,2 kbp), Roche Applied Science, Nema ka*) i neobeleženi DNK standard za veli inu (*50bp DNA Ladder Mix, O'Gene Ruler, Fermentas, Nema ka*)

DNK fragmenti su nakon razdvajanja na gelu denaturisani, u cilju pripreme za hibridizaciju sa probom. Pokazalo se da se jednolan ana DNK kasnije ja e vezuje za membranu tokom transfera, a na ovaj na in se i uklanja rezidualna DNK. Gel je potom ispiran i neutralisan. Slede i korak je predstavljao *Southern blotting*, tj. prenošenje DNK fragmenata sa gela na najlonsku membranu. Pri tome je koriš ena metoda reverznog kapilarnog transfera (Slika 10).

Slika 10. Reverzni kapilarni transfer



Metodom reverznog kapilarnog transfera omogu ava se Southern blotting, tj. prenošenje DNK fragmenata sa gela na membranu

Nakon uspešnog transfera, membrana je izlagana UV svetlu talasne dužine 254 nm sa obe strane u trajanju od pet minuta kako bi se DNK kovalentno vezala za membranu. Nakon toga, membrana je isprana i postavljena u prehibridizacioni rastvor, koji sadrži i blokiraju i reagens ime je postignuto blokiranje nespecifi nih mesta za vezivanje DNK na membrani. Potom je

vršena hibridizacija sa denaturisanom (CAG)₁₂ probom (sadrži triplete komplementarne tripletu CTG), koja je prethodno na 3' kraju obeležena sa digoksigeninom (DIG-ddUTP). Hibridizacioni rastvor je sadržao i blokiranje i reagens, koji onemogućavaju vezivanje probe za membranu i druge molekule DNK. Nakon hibridizacije vršeno je ispiranje membrane kako bi se otklonila nevezana proba i nespecifično vezana proba.

Detekcija (CAG)₁₂ probe vršena je metodom hemiluminiscencije. Membrana je prelivena 2 % (w/v) rastvorom za blokiranje kako bi se blokirala nespecifična mesta za vezivanje antitela na membrani, a potom rastvorom antitela na DIG-ddUTP konjugovanih sa alkalnom fosfatazom (*anti-DIG-AP, Roche Applied Science, Nemačka*). Membrana je ispirana kako bi se uklonilo nevezano antitelo, a potom je primenjivan pufer za detekciju, te odgovarajući i hemiluminiscentni supstrat za alkalnu fosfatazu, *CDP-star (Roche Applied Science, Nemačka)*. Nakon toga je u mračnoj komori vršena ekspozicija rendgenskog filma u trajanju od 30 minuta kako bi se pojavile trake koje odgovaraju ekspanziranom CTG ponovcima. Film je potom razvijen, ispiran, fiksiran i ponovo ispiran. Dobijeni filmovi su fotografisani digitalnim fotoaparatom. Veličina ekspanzije CTG ponovaka određivana je u programu *TotalLab 1.1* demo verzija, poređenjem traka dobijenih kod bolesnika u odnosu na standardni *ladder* M10 koji sadrži trake poznate veličine. Konačno izračunavanje veličine CTG ekspanzije u PCR produktima bilo je bazirano na činjenici da je veličina trake u baznim parovima jednaka 112 baznih parova + 3 x (CTG)_n.

Za svakog bolesnika računat je broj ponovaka u najmanjem i najvećem alelu, kao i srednji broj ponovaka u svim prikazanim alelima. Bolesnici su prema broju CTG ponovaka svrstani u 4 grupe: grupa E1 sa 100 do 500 ponovaka, E2 sa 500 do 1000 ponovaka, E3 sa 1000 do 1500 ponovaka i E4 preko 1500 ponovaka (Tsiftidis et al. 1992).

3.2. Analiza sociodemografskih i kliničkih karakteristika bolesnika

Nakon strukturisanog razgovora sa ispitanikom i članovima njegove uže porodice ili negovateljem, lekar je za svakog bolesnika popunjavao opšti upitnik. Na ovaj način dobijeni su sociodemografski podaci o bolesniku: pol, starost, obrazovanje, podaci o ponavljanim razredima, zanimanju bolesnika, njegovom bračnom statusu i potomstvu. Pored toga, intervjuom su dobijeni značajni podaci o samoj bolesti: uzrast na početku MD1, prvi simptom bolesti, trajanje bolesti do momenta ispitivanja i porodična anamneza na MD1.

Ukoliko je u razgovoru sa bolesnikom i članovima njegove porodice ustanovljeno da se prvi simptomi bolesti javljaju nakon prve, a pre dvadesete godine života, onda je ovakav ispitanik svrstavan u grupu bolesnika sa jMD1. Sa druge strane, bolesnici sa pojavom prvih smetnji izme u dvadesete i etrdesete godine života svrstani su u grupu bolesnika sa aMD1. Iz studije su unapred isklju eni bolesnici sa kMD1, koji su imali simptome bolesti ve na ro enju, kao i bolesnici sa oMD1 kod kojih je bolest po ela posle etrdesete godine života.

Svi bolesnici su pregledani od strane neurologa i na osnovu stepena miši ne slabosti svrstani u jednu od pet kategorija prema Skali za procenu miši ne slabosti (MIRS, *Muscular Impairment Rating Scale*). MIRS je opšte prihva ena gradaciona skala, koja stepenuje miši ne tegobe u MD1 u skladu sa karakteristi nom progresijom slabosti od distalne ka proksimalnoj muskulaturi (Mathieu et al. 2001). MIRS služi za brzu, jednostavnu i objektivnu procenu zahva enosti miši a u MD1 (Mathieu et al. 2001). U I stadijumu bolesti prema MIRS, klini ki se ne zapaža slabost miši a, a dijagnoza MD1 se postavlja na osnovu EMG nalaza i DNK analize. U II stadijumu bolesti registruje se miotonija, slabost miši a lica, vilice, nepca i *mm. sternocleidomastoidea*, ali ne i slabost distalne muskulature, izuzev ponekad prisutne blage slabosti fleksora prstiju šaka. U III stadijumu prisutna je distalna slabost miši a sa izolovanom slaboš u *m. tricepsa brachii* od proksimalnih miši a. U IV stadijumu bolesti, pored distalne, prisutna je i blaga do umerena slabost proksimalne muskulature. U V stadijumu snaga proksimalne muskulature je zna ajno redukovana (ocena 3 ili manje od ukupno 5 prema *Medical Research Council* skali za procenu miši ne snage (Medical Research Council 1976), a bolesnik je u ovom stadijumu obi no vezan za invalidska kolica.

Kod svih bolesnika analizirani su nivoi CK i LDH u serumu. Referentne vrednosti naše laboratorije za CK su do 135 U/l za žene i do 170 U/l za muškarce, dok su referentne vrednosti za LDH do 618 U/l.

3.3. Analiza potencijalnih faktora rizika za nastanak centralnih poreme aja u MD1

U studiji su kod svih bolesnika analizirani razli iti faktori rizika, koji potencijalno mogu dati strukturne i funkcionalne promene u centralnom nervnom sistemu.

Bolesnici su ispitivani o upotrebi duvana, dužini puša kog staža i broju cigareta koje dnevno popuše. Tako e je analizirana i eventualna zloupotreba alkohola.

Svi bolesnici su detaljno pregledani kardiološki. Izra unavan je indeks telesne mase (BMI, *body mass index*) kao količina telesne mase i kvadrata visine izraženo u kg/m^2 . Prema klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije (SZO), normalna vrednost BMI kreće se u rasponu između 18,5 i $25,0 \text{ kg/m}^2$, osobe sa vrednostima ispod $18,5 \text{ kg/m}^2$ smatraju se neuhranjenim, dok osobe sa BMI 25-30 kg/m^2 imaju prekomernu telesnu masu, a oni sa BMI preko 30 kg/m^2 označavaju se kao patološki gojazni (World Health Organization 2004). Merenje krvnog pritiska aparatom sa živinim manometrom i za patološke su smatrane vrednosti sistolnog krvnog pritiska iznad 140 mmHg i vrednosti dijastolnog krvnog pritiska iznad 90 mmHg, što odgovara definiciji hipertenzije prema kriterijumima SZO za metabolički sindrom (World Health Organization et International Society of Hypertension 1999). Detaljno elektrokardiografsko ispitivanje sprovedeno je pomoću EKG aparata sa 12 standardnih odvoda. Svim bolesnicima je načinjen ehokardiografski pregled primenom standardne M mod, dvodimenzionalne i dopler tehnike aparatom *ProSound Alpha 10* proizvođača Aloka, Japan. Prema American Heart Association, vrednost ejijske frakcije leve komore (EF LK) između 55 % i 70 % smatrana je normalnom (www.heart.org).

Ispitanici su pregledani i od strane pulmologa. Uzimana je detaljna autoanamneza i heteroanamneza o pojavi hrkanja. Pored toga, svim bolesnicima je urađeno ispitivanje disajne funkcije. Normalnim su smatrane vrednosti FVC veće od 90 % u odnosu na očekivane, blago sniženje FVC podrazumevalo je vrednosti između 70 i 90 %, umereno sniženje vrednosti 50 do 70 %, dok je za teško sniženje FVC uzimana vrednost manja od 50 %.

Test na oralnu toleranciju glukoze (OGTT, *oral glucose tolerance test*) analiziran je kod svih bolesnika, pri čemu je merena glikemija metodom spektrofotometrije dva sata nakon ingestije 75 grama glukoze (World Health Organization et International Diabetes Federation 1999). Vrednosti glikemije manje od 7,8 mmol/l smatrane su normalnim, vrednosti između 7,8 i 11,1 mmol/l ukazivale su na glukoznu intoleranciju, a vrednosti preko 11,1 mmol/l su bile dovoljne za postavljanje dijagnoze dijabetesa. Pored toga, merene su vrednosti glikemije i insulina naštete na osnovu čega je izra unavana vrednost HOMA (*Homeostatis model assessment*) indeksa insulinske rezistencije prema formuli: $\text{glikemija (mmol/l)} \times \text{insulin (mU/l)} / 22.5$ (Matthews et al. 1985). Vrednost HOMA indeksa veća od 2,6 smatrana je znakom insulinske rezistencije (Ascaso et al. 2003). Nivo triglicerida u serumu određen je spektrofotometrijski, a referentne vrednosti naše laboratorije su manje od 1,7 mmol/l. Nivoi ukupnog holesterola, LDL

(*low density lipoprotein*) i HDL (*high density lipoprotein*) holesterola određivani su spektrofotometrijski, a referentne vrednosti naše laboratorije su do 5,2 mmol/l za ukupan holesterol, do 3,4 mmol/l za LDL i više od 1,00 mmol/l za HDL.

Tireoidni status određivan je metodom karbonilmetaloimunoeseja (CMIA). Referentne vrednosti naše laboratorije su 0,89-2,44 nmol/l za T3 (trijodtironin), 2,63-5,7 pmol/l za FT3 (slobodni trijodtironin), 62,7-150,8 nmol/l za T4 (tiroksin), 9,0-19,1 pmol/l za FT4 (slobodni tiroksin) i 0,35-4,94 mU/l za TSH (tireoidni stimulišu i hormon).

Nivo vitamina B12 u serumu određivan je metodom elektrohemiluminiscentnog imunoeseja (ECLIA), a nivo homocisteina u serumu metodom te ne hromatografije visokih performansi sa fluorescentnom detekcijom (HPLC-FL). Referentne vrednosti za B12 su 189-883 pg/ml, a za homocistein manje od 15 µmol/l. Nivo gvožđa u serumu određivan je spektrofotometrijski, a referentne vrednosti naše laboratorije su 8,8-32,4 µmol/L za muškarce i 6,6-30,4 µmol/L za žene.

Kod svih bolesnika su određivani prošireni faktori koagulacije. Metodom spektrofotometrije analiziran je nivo proteina C (referentna vrednost 70-140 % od normale), antitrombina III (referentno 79-112 % od normale) i inhibitora aktivatora plazminogena (referentno 2-7 U/ml). Metodom koagulometrije meren je nivo proteina S (referentno 70-120 % od normale), faktora VIII (referentno 70-150 % od normalne), IX (referentno 70-120 % od normale) i X (referentno 70-120 % od normale), kao i APCR (*activated protein C ratio*) (referentno preko 1.8) i zgrušavanje krvi zavisno od aktivnosti proteina C (PCAT) (referentno 0-60 s).

Analizirani su i određeni imunoserološki parametri. Antinuklearna IgG antitela (ANA) i antineutrofilna citoplazmatska IgG antitela (ANCA) određivana su metodom indirektno imunofluorescencije (IIF). VDRL (*veneral disease research laboratory test*) je određivan metodom aglutinacije. Nivo antikardiolipinskih antitela meren je metodom ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) sa referentnim vrednostima manjim od 10 U/ml za IgG antitela i manjim od 7 U/ml za IgM antitela.

Kod svih bolesnika je od strane eksperta u inženjerskom ultrasonografski pregled magistralnih krvnih sudova vrata i velikih krvnih sudova mozga aparatom *ProSound Alpha 10* proizvođača *Aloka*, Japan. Na ekstrakranijalnom pregledu magistralnih arterija vrata merene su maksimalna sistolna i krajnja dijastolna brzina protoka, određivana je veličina intimo-medijalnog kompleksa i

registrovano postojanje strukturnih abnormalnosti krvnih sudova vrata, uključujući i plakove. Na transkranijalnom dopler pregledu analizirane su srednje brzine protoka nad arterijama Willisovog poligona i indeksi pulsabilnosti. Ovi pregledi su korišteni da bismo isključili ili potvrdili moguće vaskularne uzroke promena opserviranih na nalazima MR mozga.

3.4. Neuropsihološko testiranje

U istraživanju je korištena opsežna baterija klasičnih neuropsiholoških testova, kao i obiman set kompjuterskih testova iz kliničkog modaliteta Kemberške automatizovane baterije neuropsiholoških testova, verzija 3 (*Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery, CANTAB*) (www.cantab.com, Sahakian et Owen 1992). Prednost klasičnih testova jeste bogato iskustvo neuropsihologa u radu sa njima, kao i njihova široka primena na različitim populacijama ispitanika, uključujući i bolesnike sa MD1. Sa druge strane, posebna snaga CANTAB baterije jeste činjenica da ona uključuje veliki broj testova koji nisu odabrani na osnovu kliničkog iskustva, već su nastali kao adaptacija testova primenjivanih na animalnim modelima sa destrukcijom pojedinih moždanih regija, prvenstveno frontalnih i temporalnih lobusa (www.cantab.com, Lowe et Rabbitt 1998). Pored toga, kompjuterska primena neuropsiholoških testova omogućuje uniformisani pristup svakom ispitaniku, standardizovanu povratnu informaciju, kao i precizno beleženje tačnih odgovora i vremena potrebnog za njihovo postizanje (www.cantab.com).

Klasični i kompjuterski testovi su kod naših bolesnika primenjivani od strane utreniranog ispitivača u prijatnom i mirnom okruženju u dva uzastopna dana u jutarnjim časovima nakon doručka. Kod polovine ispitanika klasično testiranje je prethodilo kompjuterskom, a kod druge polovine je bilo obrnuto.

3.4.1. Klasično neuropsihološko testiranje

Dva ispitanika su odbila da učestvuju u klasičnom neuropsihološkom testiranju tako da je konačna grupa bila sastavljena od 64 bolesnika sa MD1, koji su prvo ispitani o dominantnosti ruke. Klasično neuropsihološko testiranje je u proseku trajalo dva sata, ali je svaki ispitanik imao mogućnost da u određenom trenutku od ispitivača zatraži pauzu od pola sata. Kod bolesnika su primenjivani testovi za kognitivni skrining, procenu opšteg intelektualnog nivoa, pažnje, pamćenja, aritmetičkih, vizuospacijalnih, egzekutivnih i jezičkih funkcija (Tabela 1).

Tabela 1. Klasi ni neuropsihološki testovi primenjivani za ispitivanje pojedinih funkcija

Kognitivni skrining
<p>Mini Mental State Examination (MMSE) Montreal Cognitive Assessment (MoCA) Addenbrooke's Cognitive Examination (ACE-R)</p>
Opšti intelektualni nivo
<p>Ravenove standardne progresivne matrice (RSPM) Wechslerov individualni test inteligencije (VITI) – Sli nosti</p>
Pažnja
<p>Trail Making Test A (TMT-A) Wechslerov individualni test inteligencije (VITI) – Brojevi Wechslerov individualni test inteligencije (VITI) – Šifra</p>
Aritmetičke sposobnosti
<p>Wechslerov individualni test inteligencije (VITI) – Aritmetika</p>
Vizuospacijalne i vizuokonstruktorne sposobnosti
<p>Hooperov test vizuelne organizacije (HVOT) Rey-Osterriethova složena figura (ROCF) - kopiranje Wechslerov individualni test inteligencije (VITI) – Kocka mozaik</p>
Pamćenje
<p>Reyov test verbalnog ućenja (RAVLT) Rey-Osterriethova složena figura (ROCF) - prisećenje</p>
Egzekutivne funkcije
<p>Trail Making Test B (TMT-B) Testom kontrolisanih usmenih asocijacija reči (SKL) Test kategorijalne fluentnosti (KF) Wisconsinski test sortiranja karata (WCST)</p>
Jezičke funkcije
<p>Bostonski test imenovanja (BNT)</p>

Za testove su koriš ene norme detaljno navedene u daljem tekstu, koje su dobijene na velikom uzorku zdravih osoba i koje se godinama unazad uspešno primenjuju i na našoj populaciji.

3.4.1.1. Primenjivani testovi

Za kognitivni skrining su primenjivani slede i testovi: *Mini Mental State Examination* (MMSE) (Folstein et al. 1975), *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA) (Nasreddine et al. 2005) i revidirana verzija Addenbrookeovog testa (*Addenbrooke's Cognitive Examination, ACE-R*) (Mioshi et al. 2006). MMSE je prvobitno osmišljen kao test za procenu težine demencije, ali se zbog svoje jednostavnosti i kratko e koristi kao omiljeno sredstvo procene intelektualnih sposobnosti u neurologiji i psihijatriji. Skor manji od 24 od ukupno 30 ukazuje na prisustvo kognitivnog pada (Pavlovi et al. 2003). MOCA je test primarno validiran za procenu blagog kognitivnog poreme aja. U našoj studiji je smatrano da je skor manji od 26 patološki, jer je ranije pokazano da grani na vrednost od 26 od ukupno 30 poena ima senzitivnost od 90 % i specifi nost od 87 % u postavljanju dijagnoze blagog kognitivnog poreme aja (Nasreddine et al. 2005). ACE-R je validan skrining test za procenu demencije, senzitivan i na ranu kognitivnu disfunkciju. U našem istraživanju vrednost manja od 82 od ukupno 100 poena smatrana je za patološku, jer je pokazano da ova grani na vrednost ukazuje na demenciju sa senzitivnoš u od 84 % i specifi noš u od 100 % (Mioshi et al. 2006). Za pojedina ne skorove (pažnja i orijentacija, pam enje, fluentnost, jezik, vizuospacijalno) koriš ene su norme zavisne od starosti (Mioshi et al. 2006).

Za procenu opšteg intelektualnog nivoa koriš ene su Ravenove standardne progresivne matrice (RSPM) (Raven 1960) i test *Sli nosti* iz Wechslerovog individualnog testa inteligencije (VITI), koji predstavlja standardizovanu srpsku verziju Wechslerove revidirane skale inteligencije za odrasle (*Wechsler Adult Intelligence Scale – Revised, WAIS-R*) (Wechsler 1981, Pavlovi 2003). RSPM je test koncipiran da procenjuje opštu intelektualnu sposobnost bez uticaja kultuloloških faktora i smatra se naj istijom, ali ne i idealnom merom opšteg faktora inteligencije (faktor G po Spearmanu). Prednost RSPM je da ne zahteva verbalizaciju, angažovanje motorike ili složene vizuospacijalne analize. Mada se za ovaj test ne daje vremensko ograni enje, kod svakog ispitanika je primenjivan najmanje 40 minuta, a najduže sat vremena. Dobijeni skorovi su konvertovani u percentile u odnosu na starost bolesnika i

patološkim je smatran skor ispod 25. percentila (Burke 1985). *Sli nosti* iz VITI baterije su test kategorijalnog mišljenja i dobar pokazatelj opšte mentalne sposobnosti. Test je osetljiv na lezije leve hemisfere i bilateralne frontalne lezije. Dobijeni sirovi skorovi su prevedeni u skalirane skorove, a patološkim nalazom je smatran skalirani skor manji od šest (Pavlovi 2003).

Za ispitivanje pažnje u studiju su koriš eni Trail Making Test A (TMT-A) (Reitan et Wolfson 1993) i testovi *Brojevi* i *Šifra* iz VITI baterije (Pavlovi 2003, Wechsler 1981). TMT-A procenjuje uglavnom pažnju, odnosno koncentraciju, ali i vizuelno opažanje, vizuospacijalnu procenu i vizuomotorne sposobnosti. Skor na TMT-A predstavlja vreme u sekundama za koje se kompletira zadatak. Za patološki nalaz smatrano je vreme koje za jednu standardnu devijaciju prevazilazi srednju vrednost norme za odre enu starost (Spreen et Strauss 1991). Testom *Brojevi* meri se verbalna pažnja i neposredno verbalno upam ivanje te je on osetljiviji na ošte enje leve hemisfere, nego desne ili na difuznu leziju. Test *Šifra* spada u testove pažnje, ali je za njegovo rešavanje neophodna i manuelna spretnost, oština vida i vizuomotorna koordinacija. Iako se smatra da ovaj test nema veliki lokalizacioni zna aj, prilikom njegovog rešavanja se uo ava povišen metabolizam glukoze u zadnjim delovima mozga, više sa desne strane. Dobijeni sirovi skorovi na testovima iz VITI baterije prevedeni su u skalirane skorove, a patološkim nalazom je smatran skalirani skor manji od šest (Pavlovi 2003).

Aritmetičke sposobnosti su ispitivane testom *Aritmetika* iz baterije VITI (Wechsler 1981, Pavlovi 2003). Ovaj suptest meri konceptualno mišljenje, ali na njega uti u i neposredno upam ivanje, koncentracija i pra enje. Pri rešavanju ovih zadataka, zapaža se aktivacija u levoj hemisferi, a u manjoj meri i desno frontalno. Dobijeni sirovi skorovi su prevedeni u skalirane skorove, a patološkim nalazom je smatran skalirani skor manji od šest (Pavlovi 2003).

Vizuospacijalne funkcije ispitivane su Hooperovim testom vizuelne organizacije (HVOT) (Hooper 1958), kopiranjem Rey-Osterriethove složene figure (ROCF) (Rey 1941, Osterrieth 1944) i testom *Kocka mozaik* iz VITI testa (Wechsler 1981, Pavlovi 2003). HVOT je test vizuelne organizacije slika ise enih na delove i pogodan je za razlikovanje vizuospacijalne od vizuomotorne komponente. Primena testa traje 10 do 15 minuta i on nema lokalizacionu vrednost. Kao patološki rezultat uzet je skor manji od 20 od ukupno 30 poena (Hooper 1958). Kopiranje ROCF je test za procenu vizuokonstrukcionih sposobnosti u dve dimenzije i njegova primena traje oko deset minuta. Zadata figura je nepravilna i ne može lako verbalno da se kodira ime se smanjuje uticaj leve hemisfere. I pored toga, u kopiranju ROCF uklju eni su i desni i

levi frontalni i parijetookcipitalni regioni, a lokalizacija lezije se najpre može utvrditi analizom kvalitativnih grešaka. Kvantitativnom patološkom vrednošću je smatran skor koji je bio za jednu standardnu devijaciju manji u odnosu na normu za uzrast (Spreeen et Strauss 1991). Test *Kocka mozaik* je test konstrukcionih i vizuospacijalnih sposobnosti. Pri ovom testu najviše se aktiviraju zadnje parijetalne oblasti, naročito sa desne strane (Chase et al. 1984), ali je značajan i levi parijetalni, oba temporalna i frontalna režnja. Dobijeni sirovi skorovi su prevedeni u skalirane skorove, a patološkim nalazom je smatran skalirani skor manji od šest (Pavlovi 2003).

Za ispitivanje verbalnog pamćenja koristi se Reyov test verbalnog pamćenja (RAVLT) (Rey 1964), a za procenu neverbalnog pamćenja crtanje po sećanju ROCF trideset minuta nakon kopiranja (Rey 1941, Osterrieth 1944). RAVLT je u našem istraživanju korišćen za ispitivanje neposrednog upamćivanja određenim ukupnog skora svih pet ponavljanja liste reči, kao i za ispitivanje rekognicije. RAVLT je osetljiv na oštećenja leve (dominantne) hemisfere. Pri tome, kod bolesnika sa temporalnom lezijom uočava se pad na svim skorovima, dok je kod bolesnika sa frontalnom lezijom, prepoznavanje otežavano u odnosu na spontano prisećanje. Normativne vrednosti za RAVLT zavise od pola i starosti ispitanika i patološkim rezultatom smatran je skor koji je bio jednu standardnu devijaciju ispod norme (Geffen et al. 1990, Pavlovi 2003). Crtanje po sećanju ROCF je test za procenu prostornog pamćenja. Kao i pri kopiranju figure, u prisećanju su uključene obe hemisfere. U našem istraživanju korišćene su normativne vrednosti zavisne od starosti i skor koji je bio za jednu standardnu devijaciju ispod norme, smatran je patološkim (Spreeen et Strauss 1991).

Egzekutivne funkcije su ispitivane primenom Trail Making Testa B (TMT-B) (Reitan et Wolfson 1993), testom kontrolisanih usmenih asocijacija reči (SKL) (Lezak et al. 1983), testom kategorijalne fluentnosti (KF) (Goodglass et Kaplan 1983) i Wisconsinskim testom sortiranja karata (WCST) (Heaton et al. 1981). TMT-B pored funkcija koje procenjuje TMT-A, ima ulogu i u proceni kompleksnog konceptualnog pamćenja koje spada u egzekutivne funkcije. Skor na TMT-B predstavlja vreme u sekundama za koje se kompletira zadatak. Za patološki nalaz smatrano je vreme koje je od norme veće za jednu standardnu devijaciju za određenu starost (Spreeen et Strauss 1991). SKL test meri fonemsku fluentnost, tj. produkciju pojedinačnih reči na zadato slovo (u srpskom jeziku S, K i L) u toku jednog minuta, kao i verbalno divergentno mišljenje. Test je prvenstveno osetljiv na disfunkciju leve velikomoždane hemisfere. Kao grani na vrednost u našem govornom području uzima se 21 poen (Pavlovi 2003). Korišćen je i

test KF, koji podrazumeva nabranje životinja u toku jednog minuta, a preuzet je iz Bostonskog testa za ispitivanje afazija (BDAE). Ovim testom se meri kategorijalna fluentnost, odnosno verbalno divergentno mišljenje. Za patološku vrednost smatran je broj reči za jednu standardnu devijaciju manji u odnosu na normu za starost (Pavlović 2003). WCST je odličan test za ispitivanje na ina na koji se rešavaju problemi, za otkrivanje perseverativnosti i mentalne rigidnosti (sposobnosti promene i održavanja seta). Za potrebe našeg istraživanja analiziran je broj postignutih kategorija, tj. nizova od deset tačaka njih odgovora, kao i broj perseverativnih odgovora i broj neuspešnih pokušaja održavanja seta. WCST smatra se uglavnom merom funkcije frontalnih režnjeva, ali nema usaglašenih stavova o uticaju strane lezije na postignute na ovom testu. Patološkim je smatran broj kategorija manji za jednu standardnu devijaciju, kao i broj perseverativnih odgovora i neuspešnih pokušaja održavanja seta veći za jednu standardnu devijaciju u odnosu na normu (Spreeen et Strauss 1991).

Za ispitivanje jezičkih funkcija korišćen je Bostonski test imenovanja (BNT) (Kaplan et al. 1978). Ovaj test je dobar za otkrivanje anomalije, ali zavisi i od osetljivosti vizuelne percepcije. Kod osoba sa lezijom desnog frontalnog režnja, može da se javi fragmentarno opažanje. Za patološku vrednost na BNT smatran je skor manji za jednu standardnu devijaciju u odnosu na normu za starost (Goodglass et Kaplan 1983).

3.4.2. CANTAB

Ukupno osam ispitanika odbilo je da bude testirano kompjuterskom baterijom neuropsiholoških testova tako da je konačna grupa bila sastavljena od 58 bolesnika sa MD1. Pri ovom testiranju ispitanici su koristili *touch screen* računara, a u određenim zadacima i posebnu tastaturu sa tasterima. Za sve vreme testiranja bio je prisutan obučeni ispitivač, koji je davao verbalne instrukcije ispitaniku. Testiranje je u proseku trajalo oko dva sata, ali je svaki ispitanik imao mogućnost da u određenom trenutku od ispitivača zatraži pauzu od pola sata.

Kod bolesnika je prvo napravljen motorni skrining, a potom su primenjivani testovi za procenu pažnje, vizuelnog pamćenja i egzekutivnih funkcija (www.cantab.com) (Tabela 2).

Za testove su korišćene norme prema polu i uzrastu, dobijene na velikom uzorku zdravih osoba, koje obezbeđuje sam CANTAB. Rezultati za svakog bolesnika su upoređeni sa rezultatima više od 30 ispitanika uparenih po polu i uzrastu (www.cantab.com). Iako se radi o normama dobijenim na preko 2000 kontrolnih ispitanika iz britanske populacije, pokazano je da

CANTAB testovi ne zavise od jezika i kulturoloških razlika te su ove norme primenjivane i na našem uzorku ispitanika (Maruff et al. 1998). Pod patološkim vrednostima smatrani su rezultati koji su bili za jednu standardnu devijaciju ispod ili iznad norme.

Tabela 2. Kompjuterski neuropsihološki testovi (CANTAB) primenjivani u studiji

Motorni skrining
Motor Screening Test (MOT)
Pažnja
Match to Sample Visual Search (MTS)
Vizuelno pam enje
Delayed Matching to Sample (DMS)
Paired Associates Learning (PAL)
Pattern Recognition Memory (PRM)
Spatial Recognition Memory (SRM)
Egzekutivne funkcije
Intra/Extradimensional Set Shift (IED)
Stockings of Cambridge (SOC)
Spatial Span (SSP)
Spatial Working Memory (SWM)

3.4.2.1. Primenjivani testovi

Na početku ispitivanja primenjivan je *Motor Screening Test* (MOT), kako bi se ispitanik opustio i upoznao sa *touch screen* raunarom, ali i da bi se isključili poremećaji vida, pokreta i razumevanja, koji mogu imati uticaja na postignuće na ostalim testovima iz baterije.

U našem istraživanju, kao test za ispitivanje pažnje korišćen je *Match to Sample Visual Search* (MTS). Radi se o testu uparivanja vizuelnih stimulusa, koji meri odnos brzine i preciznosti. Kao rezultat testa, korišćen je procenat tačnih odgovora u 48 zadataka.

Za ispitivanje vizuelne memorije primenjivani su sledeći testovi: *Delayed Matching to Sample* (DMS), *Paired Associates Learning* (PAL), *Pattern Recognition Memory* (PRM) i *Spatial Recognition Memory* (SRM). DMS je test simultanog i odloženog sparivanja figure sa

datim uzorkom i primarno je senzitivna na oštećenje medijalnog dela temporalnog režnja, a u manjoj meri i frontalnih režnjeva. Kao rezultat testa u našem istraživanju je korišćen procenat ta no prepoznatih figura u zadacima sa tri distraktora 0, 4 i 12 s od uklanjanja uzorka sa ekrana („odloženi zadatak“), kao i procenat ta no prepoznatih figura u zadacima sa tri distraktora u prisustvu uzorka („simultani zadatak“). Pored toga meren je i parametar pod nazivom *prob error given error*, koji je mera verovatnoće da ispitanik napravi grešku ako je u prethodnom zadatku pogrešio. Ovaj parametar je baziran na teoriji detekcije signala (*signal detection theory*), koja podrazumeva da bolesnici sa unipolarnom depresijom imaju sklonost da greše i u novom zadatku ako su prethodni zadatak rešili neispravno (Elliott et al. 1996). PAL procenjuje epizodično, vizuelno pamćenje i učenje, a senzitivna je prvenstveno na disfunkciju medijalnog temporalnog režnja. Kao rezultat na ovom testu u našoj studiji je korišćen ukupan broj grešaka prilagođen prema svakom nivou koji nije primenjivan zbog greške na prethodnom nivou, kao i prilagođeni broj grešaka na nivou sa 6 figura. PRM je test prepoznavanja vizuelnog obrasca u uslovima prinudnog izbora i senzitivna je na disfunkciju medijalnog temporalnog režnja, a relativno nesenzitivna na disfunkciju frontalnog režnja. U studiji je analiziran procenat ta nih odgovora, koji se pokazao kao dobra sveobuhvatna mera na testu vizuelnog kratkotrajnog prisecanja (Swainson et al. 2001). SRM je test prostornog prepoznavanja u uslovima prinudnog izbora i pre svega je senzitivna na disfunkciju frontalnog režnja, a relativno nesenzitivna na oštećenje temporalnog režnja. Kao mera postignutosti na ovom testu korišćen je procenat ta nih odgovora.

Za ispitivanje egzekutivnih funkcija primenivano je nekoliko testova: *Intra/Extradimensional Set Shift (IED)*, *Stockings of Cambridge (SOC)*, *Spatial Span (SSP)* i *Spatial Working Memory (SWM)*. IED je test učenja pravila i menjanja pravila, koji ispituje vizuelnu diskriminaciju, formiranje seta, održavanje, menjanje i fleksibilnost pažnje, a primarno je senzitivna na promene u fronto-strijatnim delovima. Kao rezultat ovog testa korišćen je broj kompletiranih nivoa od ukupno devet i broj grešaka prilagođen broju kompletiranih nivoa s obzirom da ispitanici koji su završili test na nižem nivou, imaju manju mogućnost da naprave grešku. SOC je test prostornog planiranja i prostorne radne memorije, a mera je funkcije frontalnog režnja. Kao rezultat na SOC testu korišćeno je srednje vreme za inicijalno mišljenje u zadatku sa pet poteza, koje predstavlja razliku u vremenu potrebnom da se odabere prva kuglica u testu u kom ispitanik rešava zadatak i testu u kom ispitanik samo ponavlja pokrete ruku unara. Pored toga, analizirano je i srednje vreme za naknadno mišljenje, koje se dobija kao razlika u

vremenu od izbora prve kuglice do postizanja rešenja izme u testa u kom ispitanik izvršava zadatak i testa u kom ispitanik samo ponavlja pokrete ra unara, podeljeno sa brojem poteza. Tako e je odre ivan i broj zadataka rešenih u minimalnom broju poteza što se smatra sažetom merom sveukupne ta nosti planiranja u SOC testu (Robbins et al. 1998). SSP je kompjuterizovana verzija Korzijeovog testa kocki, koja služi za ispitivanje kapaciteta radne memorije, a mera je funkcije frontalnog režnja. U studiji je kao glavni rezultat testa posmatrana najduža uspešno rešena sekvenca, što se smatra senzitivnom merom uticaja hroni nog zamora na kogniciju (Joyce et al. 1996). SWM procenjuje sposobnost ispitanika da zadrži prostornu informaciju i njom manipuliše u radnoj memoriji, ali se testom ispituje i strategija zaklju ivanja. SWM je test senzitivan na disfunkciju frontalnog režnja. Za merenje postignu a na ovom testu koriš en je podatak koliko puta ispitanik ponovo dodiruje kutiju u kojoj je ve pronašao žeton u zadacima sa etiri i više žetona. Smatra se da je ovaj broj osetljiv parametar u bolestima poput poreme aja hiperaktivnosti i deficita pažnje (ADHD) (Kempton et al. 1999). Pored toga, odre ivana je i strategija rešavanja problema u SWM testu. Dobra strategija podrazumeva da ispitanik pri traženju svakog žetona, uvek kre e od iste kutije. Program meri broj pretraga zapo etih sa novom kutijom u zadacima sa šest i osam kutija, tako da manji skor podrazumeva bolju strategiju. Strategija rešavanja SWM zadatka je senzitivna mera kognitivne disfunkcije u bolestima poput hroni nog zamora (Joyce et al. 2006).

3.5. Psihijatrijsko ispitivanje

Prisustvo depresivnosti i anksioznosi kod svih bolesnika ispitivano je pomo u Hamiltonove skale za procenu depresije sa 21 pitanjem (HamD) (Hamilton 1960), odnosno Hamiltonove skale za procenu anksioznosti (HamA) (Hamilton 1959). Strukturisani intervju vodio je utrenirani lekar. Skor na HamD skali ve i od 17 smatran je zna ajnim pokazateljem depresivnosti, a skor na HamA skali ve i od 18 smatran je zna ajnim pokazateljem anksioznosti.

Dva bolesnika su odbila da popune test za ispitivanje poreme aja li nosti, jedan nije razumeo pitanja, a jedan ispitanik nije prošao na validacionoj skali tako da se kona na, analizirana grupa sastojala od 62 bolesnika sa MD1. Poreme aji li nosti kod naših bolesnika su ispitivani pomo u prve verzije Milonovog multiaksijalnog klini kog upitnika (MMCI) (Millon 1983). Iako postoje novije verzije, odlu ili smo se za izvornu formu upitnika, zbog velikog iskustva naših neuropsihologa u radu sa baš ovom verzijom, kao i zbog injenice da je ova

verzija primenjivana u razli itim populacijama širom sveta. Upitnik se sastoji od 175 pitanja na koja ispitanik može da odgovori zaokruživanjem opcije *da* ili *ne*. MCMI definiše jedanaest tipova li nosti: antisocijalni (As), izbegavaju i (Av), zavisni (De), histrioni ni (Hi), narcisoidni (Na), agresivni (Ag), kompulsivni (Co), negativisti ki (Ne), shizotipi ni (Sc), grani ni (Bo) i paranoidni (Pa). Pored toga, formira se i devet skala klini kih simptoma, uklju uju i anksioznost (An), somatizaciju (So), hipondrijazu (Hy), distimiju (Dy), zloupotrebu alkohola (Al), psihoti no mišljenje (Th), psihoti nu depresiju (Dp) i psihoti ne deluzije (DI). MMCI sadrži i jednu skalu za validaciju. Dobijeni sirovi skorovi se prevode u skalirane skorove, koji uzimaju u obzir prevalenciju pojedinih karakteristika li nosti u opštoj populaciji. Prema Millonu, skalirani skor ve i od 75 predstavlja zna ajno prisustvo odre ene crte li nosti, dok se skor preko 85 smatra klini ki zna ajnim (Sistiaga et al. 2010), tako da je u našem istraživanju koriš en stroži kriterijum. Svaki ispitanik je pre popunjavanja upitnika bio detaljno ispitan o svojoj svakodnevnoj funkcionalnosti.

3.6. Pospanost, zamor i sindrom nemirnih nogu

Stepen prekomerne dnevne pospanosti (PDP) ispitivan je pomo u dve skale: *Epworth Sleepiness Scale* (ESS) (Johns 1991) i *Daytime Sleepiness Scale* (DSS) (Lagerberg et al. 2005). ESS se najviše primenjuje kod bolesnika sa opstruktivnom *sleep* apnejom, narkolepsijom i idiopatskom hipersomnijom. U našoj studiji zna ajnim indikatorom pospanosti smatran je skor na ESS ve i od 10. DSS je skala specifi no razvijena za merenje stepena PDP kod bolesnika sa MD1. Pitanja obuhva ena ovom skalom definisana su tako da daju informacije o klini kim karakteristikama pospanosti baš kod ovih bolesnika. Skor ve i od šest na ovoj skali smatra se zna ajnim.

Prisustvo zamora ispitivano je pomo u Kruppove skale za težinu zamora (FSS) (Krupp et al. 1989). Smatra da je FSS posebno pogodan za ispitivanje uticaja zamora uzrokovanog hroni nom onesposobljavaju om boleš u kakva je i MD1. Skor jednak ili ve i od 36 ukazuje na prisustvo zna ajnog zamora.

Pacijenti su tako e ispitivani o prisustvu dijagnosti kih kriterijuma za postavljanje dijagnoze *sindroma nemirnih nogu* (Allen et al. 2003).

3.7. Pregled mozga pomo u MR

Od 66 bolesnika sa MD1, dvoje je odbilo da im se obavi pregled na MR, dok je jedna bolesnica imala implantiran pejsmejker. Nakon pregleda u injenih snimaka, isklju eno je još 12 bolesnika zbog prisustva artefakata i tehni ke neispravnosti tako da je kona nu eksperimentalnu grupu analiziranu na VBM inio 51 bolesnik. Iz DTI analize isklju ena su još dva bolesnika iz tehni kih razloga. Kontrolna grupa bila je sastavljena od 34 zdrava ispitanika uparena po polu i starosti sa bolesnicima.

3.7.1. Tehni ki parametri MR

Kod svih bolesnika i zdravih kontrola pregled mozga je obavljen na aparatu ja ine 1,5 T (*Philips Medical Systems, Achieva*). Primenjene su slede e sekvence MR:

1. Dual-eho (DE) spin-eho (SE) sa slede im parametrima: vreme repeticije (TR) 3125 ms, vreme eha (TE) 20/100 ms, dužina eho voza 6, broj aksijalnih preseka 44, debljina preseka 3 mm, veli ina matrice 256×256, polje snimanja (FOV) 240 mm²;

2. Trodimenzionalna (3D) T1-TFE (*transient field echo*) sekvenca sa smerom faze anteriorno-posteriorno i slede im parametrima: TR 7,34 ms, TE 3,398 ms, *flip angle* (FA) 8°, veli ina matrice 256×256×180, FOV 256×256×180 mm;

3. *Pulsed gradient SE single shot echo-planar* sekvenca sa slede im parametrima: TR 6713 ms, TE 86 ms, FA 90°, veli ina matrice 112×112, FOV 224 mm², broj susednih aksijalnih preseka 50, debljina preseka 2,6 mm; koriš eni su difuziono-kodirani gradijenti primenjeni u 65 nekolinearnih pravaca (b faktor 1000 s/mm², sedam preseka).

3.7.2. Analiza snimaka dobijenih MR

Analiza svih snimaka (*post-processing*) ra ena je na Nau nom institutu „*San Raffaele*“ u Milanu, od strane jednog iskusnog analiti ara, koji nije imao podatke o tome da li ispitanik pripada kontrolnoj ili eksperimentalnoj grupi niti kakve su njegove klini ke i kognitivne karakteristike.

3.7.2.1. Određivanje opterećenja hiperintenznim lezijama bele mase

Ukoliko su bile prisutne, hiperintenzne lezije bele mase (HLBM) detektovane su na DE sekvenci. Ukupno opterećenje HLBM mereno je pomoću verzije 5.0 softverskog paketa *Jim* (*Xinapse Systems*, Northants, Velika Britanija, www.xinapse.com).

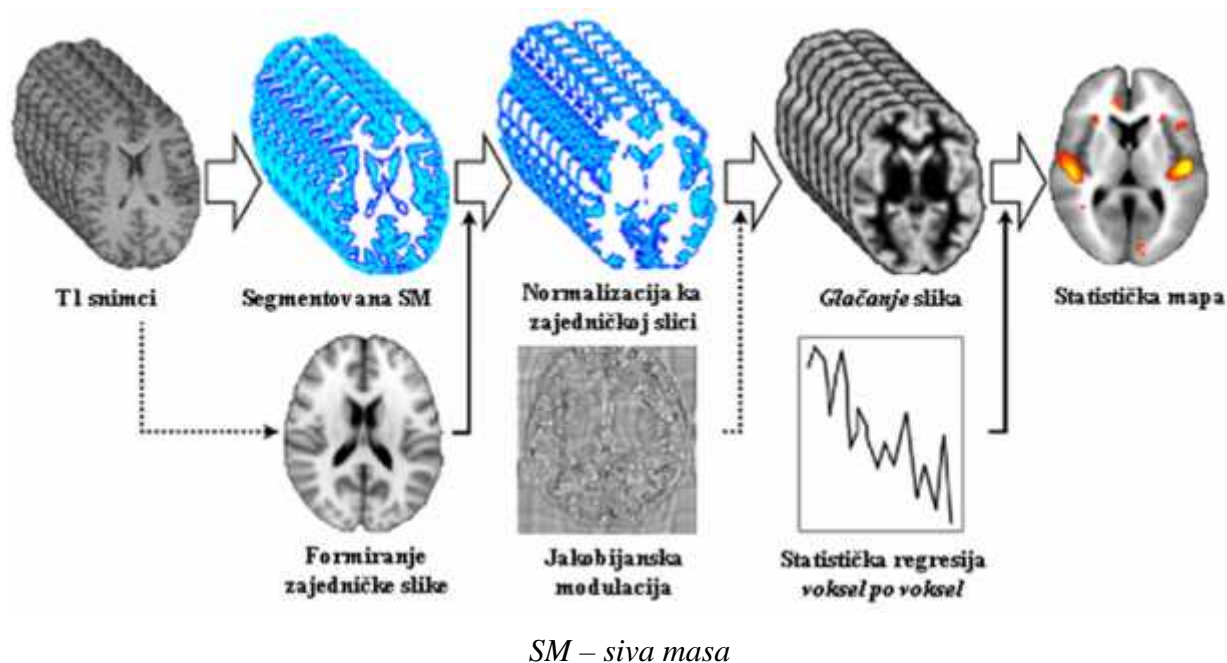
3.7.2.2. Morfometrija zasnovana na vokselu (VBM)

Morfometrijska analiza zasnovana na vokselu (VBM) omogućava poređenje zapremine sive i bele mase mozga između dve grupe ispitanika na osnovu broja vokseli koji se detektuje u ovim regijama. VBM je u našoj studiji sprovedena pomoću *SPM8* softvera (*Statistical Parametric Mapping*, Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, Velika Britanija) i difeomorfne anatomske registracije korišćenjem Liejeve eksponencijalne algebre (*Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie algebra*, DARTEL) čime se poboljšava lokalizacija i pojačava senzitivnost analize (Ashburner 2007). Kao osnovni izvor informacija za ovu metodu korišćeni su snimci dobijeni na T1 sekvenci. Ovaj postupak je kompleksan i obuhvatao je nekoliko faza (Slika 11).

U prvoj fazi, pojedinačni snimci dobijeni na T1 sekvenci segmentirani su pomoću standardnog segmentacionog modela (Ashburner et Friston 2005) čime su dobijene mape verovatnoće za sivu masu (SM), belu masu (BM) i cerebrospinalnu tečnost (CST), uz odvajanje tkiva skalpa, lobanje i duralnih venskih sinusa. Slike su potom importovane u DARTEL i striktno poravnate, a dobijena zajednička slika je segmentovana na SM, BM i CST korišćenjem parametara iz prethodnog koraka. Slike su potom prilagođene izotropnom vokselu veličine 1,5 mm. Segmenti SM su potom simultano registrovani pomoću brzog difeomorfskog algoritma za registraciju slika (Ashburner 2007). Striktno poravnati segmenti su zatim iskrivljeni kako bi se uklopili u zajednički DARTEL prostor. Proces normalizacije zajedničkih slici je vršen u cilju minimiziranja inter-individualnih strukturnih varijacija između ispitanicima. Dobijene slike potom su modulirane pomoću Jakobijanske determinante, kako bismo eliminisali prostorne transformacije zapremine određenih delova mozga, koje se dešavaju u procesu normalizacije. Slike su potom normalizovane prema obrascu preporučenom od strane *Montreal Neurological Institute* (MNI) metodom afine transformacije procenjene iz DARTEL uzorka SM i *a priori* mape verovatnoće za SM bez prilagođavanja izotropnom vokselu (brainmap.wisc.edu/normalizeDARTELtoMNI, McLaren et al. 2010). Pre statističke obrade, slike su

izgla ane pomo u Gausovskog filtera sa FWHM (*full-width half-maximum*) od 8 mm, ime se dobija usrednjena vrednost slike uskla ena sa izotropnim jezgrom. Svaki vokal na ovoj slici reprezentuje lokalnu „koncentraciju“ tkiva (vrednosti se kre u od 0 do 1). Ovaj postupak se koristi da bi se osigurala definitivna klasifikacija voksela u odgovaraju i region mozga (SM, BM i CST). Neizgla ane slike modulisane SM, BM i CST koriš ene su za izra unavanje ukupne intrakranijalne zapremine.

Slika 11. Postupci pri morfometriji zasnovanoj na vokselu (VBM)



3.7.2.3. Difuzioni tenzorski imidžing (DTI)

Snimci dobijeni na difuzionoj sekvenci korigovani su pomo u ranije opisanog algoritma (Rohde et al. 2004, white.stanford.edu/newlm/index.php/DTI_Preprocessing#dti) kako bi se eliminisale distorzije usled vrtložnih struja i pokreta glave. Ovaj korak podrazumeva je šest parametara za korekciju trodimenzionalnih pokreta krutog tela i 8 parametara za ograni eno nelinearno uvrtnje, baziranih na modelu o ekivanih distorzija usled vrtložnih struja. Slike su potom transformisane u MNI prostor. Šest akvizicija sa razli itom orijentacijom difuzionog gradijenta je spojeno u jednu sliku.

Difuzioni tenzor procenjivan je voksel po voksel koriš enjem softvera *DTIfit toolbox*, koji je deo *FMRIB Diffusion Toolbox* u sklopu FSLv4.1.7 (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/). Na ovaj

na in dobijena je mapa srednje difuzivnosti (*mean diffusivity*, MD) i frakcione anizotropije (*fractional anisotropy*, FA). Tako e su ra unate i mape aksijalne difuzivnosti (axD) i radijalne difuzivnosti (radD) (Basser et al. 1996). Za DTI analizu na više ispitanika primenjivana je verzija 1.2 softvera *Tract-based spatial statistics* (TBSS) (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/tbss/index.html).

Zapremine FA bile su podešene prema standardizovanom prostoru. Kao ciljani standardizovani prostor izabrana je slika FMRIB58 FA. Potom je koriš ena nelinearna transformacija kojom je FA svakog ispitanika mapirana na ciljanu sliku pomo u FNIRT. Slika je potom afino transformisana u standardni prostor MNI 152. Ista transformacija je koriš ena za prenos mape FA svakog ispitanika na mapu standardizovanog prostora. Usrednjena slika FA je kreirana poravnanjem slika svih subjekata ime je formiran *skelet* FA koji reprezentuje puteve BM u celoj grupi ispitanika (Smith et al. 2006). Kao prag pri formiranju *skeleta* FA, koriš ena je vrednost FA od 0,2 kako bi se izbegli vokseli sa niskim FA vrednostima, za koje se smatra da uklju uju SM ili CST. Pojedina ni podaci o MD, FA, axD, radD projektovani su na zajedni ke skelete. Za identifikaciju puteva BM koriš ena su dva atlasa iz softvera FSL (fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/data/atlas-descriptions.html): *Johns Hopkins University WM tractography atlas* i *ICBM-DTI WM labels atlas*.

3.8. Transkranijalna sonografija parenhima mozga

Transkranijalna sonografija (TCS) moždanog parenhima u injena je kod svih 66 bolesnika, ali je njih pet imalo netransparentan temporalni prozor te je ukupno 61 bolesnik uklju en u kona nu statisti ku analizu. Pored toga, pregledano je i 55 zdravih ispitanika uparenih po polu i starosti sa bolesnicima, kod kojih je isklju eno prisustvo neuroloških, psihijatrijskih i somatskih bolesti.

TCS pregled je obavljen kroz preaurikularni akusti ki koštani prozor, koriš enjem ultrazvu nog sistema opremljenog kolor kodiranom faznom rešetkom sa transdjuserom od 2,5 MHz (*ProSound Alpha 10, Aloka, Japan*). Ispitivanje je sproveo jedan utrenirani ekspert, dok je drugi ekspert pregledao sve snimke. Ustanovljena pouzdanost izme u dva ispitiva a (*inter-rater reliability*) bila je odli na, a u malom broju situacija gde je postojalo neslaganje, još jednom su pregledani snimci i donet je zajedni ki zaklju ak. Pri pregledu su koriš eni standardni ultrazvu ni parametri, uklju uju i dubinu prodora od 16 cm i dinami ki opseg 50-55 dB (Berg et al. 2008). Svetlina, kontrast i vremensko poja anje podešeni su tako da se dobije najjasnija slika.

Prema standardnim preporukama, nalaz hipoehogenosti *nc. raphe* proglašen je kod onih bolesnika koji su imali prekid ehogene linije ovog jedra ili ukoliko jedro nije bilo vidljivo kada se posmatra sa obe strane (Berg et al. 2008). Merenje ehogene veli ine *substantiae nigrae* (SN) sprovedeno je automatski, na aksijalnim skenovima, nakon ru nog opcertavanja spoljnog obima ehogene zone. Prema prethodno objavljenim kriterijumima iz literature i naše laboratorije (Berg et al. 2008, Mijajlovic et al. 2008), ehogena veli ina pojedina ne SN 0.19 cm^2 smatrana je normalnom, a veli ina $>0.19 \text{ cm}^2$ hiperehogenom. Hipoehogenost SN proglašena je kod ispitanika kod kojih je suma ehogenih zona obe SN bila ispod jedne standardne devijacije od srednje vrednosti za normalnu populaciju, tj. ako je bila manja od $0,21 \text{ cm}^2$ (Godau et al. 2007). Pod hiperehogenoš u *nc. rubera* smatrano je pove anje ehogene zone ovog jedra ili ako je jedro bilo ehogenije od bazalne cisterne (Berg et al. 2008). Hiperehogenost *nc. lentiformisa* ozna avana je kad je ovo jedro bilo intenzivnije od okolne bele mase (Berg et al. 2008). Širina tre e komore merena je u standardnoj dijencefali koj aksijalnoj ravni tako što je odre ivan minimalni transverzalni pre nik na aksijalnom skenu i smatrana je abnormalnom ako je bila $>7\text{mm}$ (Huber 2010).

3.9. Odre ivanje nivoa biomarkera neurodegeneracije u likvoru

Od 66 bolesnika, njih 8 je odbilo da im se u ini lumbalna punkcija radi uzimanja likvora za analizu biomarkera. Me utim, grupa je dopunjena sa 16 bolesnika, koji su punktirani u periodu od decembra 2007. godine do aprila 2012. godine i kod kojih je primenjena ista baterija klasi nih neuropsiholoških testova, tako da se kona na analizirana grupa sastojala od 74 ispitanika. Kontrolnu grupu je inilo 26 ispitanika koji su hospitalizovani na Institutu za ortopedsku hirurgiju i traumatologiju Klini kog centra Srbije zbog manje ortopedske intervencije u spinalnoj anesteziji. Kod svih kontrola je isklju eno prisustvo psihijatrijske, neurološke, maligne ili sistemske bolesti.

Od bolesnika i kontrola uzeto je po 3 ml likvora lumbalnom punkcijom u sede em položaju u intervertebralnom prostoru L3/L4 ili L4/L5. Ova intervencija je obavljena izme u 10 i 12 asova pre podne. Kod kontrola je to bilo pre nego što je apliciran anestetik. Uzorci likvora su sakupljeni u polipropilenske epruvete kako bi se izbegla apsorpcija beta amiloida na zid epruvete (Schoonenboom et al. 2005). Najkasnije dva sata od uzimanja, uzorci likvora su centrifugirani tokom deset minuta na 4°C , a potom je supernatant uvan na -80°C do dalje analize.

Nivo ukupnog tau proteina, koji podrazumeva i normalni i fosforilisani tau, određivan je korišćenjem metode sendvič ELISA (kit *Innotest hTAU-Ag* proizvođača *Innogenetics*, Gent, Belgija) (Vandermeeren et al. 1993). Određivanje nivoa tau proteina fosforilisiranog na treoninu 181 takođe je vršeno metodom sendvič ELISA kitom *Innotest Phospho-Tau (181P)* istog proizvođača (Vanmechelen 2000). Nivo beta amiloida 42 meren je istom metodom kitom *Innotest b-amyloid (1–42)* proizvođača *Innogenetics* (Vanderstichele 1988). Istraživači koji su određivali nivoe biomarkera u likvoru nisu imali podatke o tome da li ispitanik pripada eksperimentalnoj ili kontrolnoj grupi.

3.10. Ispitivanje kvaliteta života

Za ispitivanje kvaliteta života u našoj grupi od 66 bolesnika sa MD1 korišćen je generički upitnik i upitnik specifičan za bolest.

Kao generički upitnik za procenu kvaliteta života bolesnici su popunjavali srpsku verziju Mere zdravlja kratke forme - SF-36 (www.qualitymetric.com). Ovaj upitnik se pokazao kao veoma senzitivna za procenu kvaliteta života, odnosno težine globalnog uticaja bolesti na obolelu osobu. SF-36 pokriva osam domena zdravlja, po četiri za fizički i mentalni status, koji se odnose na procenu stepena dnevnih aktivnosti, emotivnog stanja, bola, zamora, socijalne participacije i samopercepcije sopstvenog zdravlja. Supskale ovog upitnika su fizičko funkcionisanje (PF), fizičko funkcionisanje i obavljanje dužnosti (RP), telesni bol (BP), opšte zdravlje (GH), vitalnost (VT), socijalno funkcionisanje (SF), emocionalno funkcionisanje i obavljanje dužnosti (RE) i mentalno zdravlje (MH). Rezultati testa rangiraju se od 0 poena (najlošije moguće zdravlje) do 100 poena (najbolje moguće zdravlje). Navedeni supskorovi su objedinjeni u dva glavna skora: fizički kompozitni skor (PCS) i mentalni kompozitni skor (MCS). Vrlo niske vrednosti fizičkog kompozitnog skora ukazuju na značajnu funkcionalnu onesposobljenost uz zamorljivost, kao i na postojanje telesnog bola. Niske vrednosti mentalnog kompozitnog skora odražavaju prisustvo psiholoških poremećaja, ali i izraženu socijalnu onesposobljenost uzrokovanu emocionalnim problemima. Konačno, moguće je izračunati i ukupni SF-36 skor koji objedinjuje svih osam navedenih domena zdravlja.

Kao upitnik specifičan za bolest korišćen je Individualizovani neuromišićni upitnik za procenu kvaliteta života (*Individualized Neuromuscular Quality of Life questionnaire*, INQoL) (Vincent et al. 2007), koji je transkulturalno adaptiran, preveden i validiran za upotrebu na

srpskom jeziku kod bolesnika sa MD1 (Peric et al. 2010). INQoL sadrži 45 pitanja grupisanih u deset sekcija. etiri sekcije mere uticaj uobi ajenih simptoma miši ne bolesti (slabost, *ko enje* miši a, bol i zamor). Pet sekcija meri uticaj miši ne bolesti na odre ene oblasti života poput aktivnosti, nezavisnosti, odnosa sa drugim ljudima, emocija i telesne slike. Poslednja sekcija se odnosi na le enje bolesti. Kona ni skor svake od devet sekcija je predstavljen kao procenat maksimalnog štetnog efekta tako da ve i skor predstavlja lošiji kvalitet života. Na specifi an na in se ra unaju dva skora iz sekcije koja se odnosi na le enje bolesti, i to efekat primenjivanog tretmana i o ekivani efekat tretmana. Ova dva skora se dobijaju kao razlika pozitivnih i neželjenih efekata terapije. Ukupni INQoL skor se dobija iz pet sekcija koje mere uticaj miši ne bolesti na odre ene oblasti života. Dakle, INQoL sadrži 45 pitanja, 10 sekcija, 11 skorova i jedan totalni skor.

3.11. Statisti ka obrada podataka

Statisti ka obrada podataka je vršena u programu SPSS verzija 16.0 (*SPSS Inc*, ikago, Illinois, SAD).

Sve ispitivane varijable su prvo analizirane pomo u Kolmogorov-Smirnov testa da bi se utvrdilo da li se distribuišu po normalnoj raspodeli. Od parametara deskriptivne statistike koriš eni su proporcija, srednja vrednost i standardna devijacija (SD).

Za pore enje nominalnih i ordinalnih varijabli izme u dve ili tri grupe ispitanika koriš en je χ^2 test ili Fisherov test ta ne verovatno e u zavisnosti od dimenzija tablice kontigencije i broja o ekivanih slu ajeva u tablici. Zna ajnost razlike kontinuiranih neparametarskih varijabli izme u dve grupe ispitanika je ispitivana pomo u Mann-Whitneyevog U testa, a razlika kontinuiranih parametarskih varijabli pomo u Studentovog t testa. Za pore enje tri grupe ispitanika koriš ena je parametarska ANOVA sa *post hoc* analizom (Bonferronijeva korekcija) ili neparametarska ANOVA (Kruskal-Wallis), u zavisnosti od toga da li su podaci bili distribuisani po normalnoj raspodeli.

Korelacije dvaju varijabli su ispitivane Spearmanovim koeficijentom korelacije ranga. Prediktivni zna aj nezavisnih varijabli na jednu zavisnu varijablu je odre ivan linearnom regresionom analizom (metod enter).

Razlike u zapremini sive mase mozga dobijene metodom VBM kod razli itih grupa ispitanika, analizirane su pomo u softvera SPM8 koriš enjem analize kovarijanse uz

prilagođavanje za starost i ukupnu intrakranijalnu zapreminu. Za poređene rezultate dobijenih pomoću DTI korišćen je softver za interferenciju zasnovan na permutaciji koji služi za neparametarsku pragovnu statističku analizu, a deo je FMRIB softverske biblioteke (FSL) (Nichols et al. 2002). Broj permutacija je podešen na 5000 (Nichols et al. 2002). DTI vrednosti na skeletu bele mase poređene su među u dvema grupama pomoću t testa zasnovanog na permutaciji uz korekciju za starost ispitanika. Za analizu povezanosti kliničkih i kognitivnih varijabli sa atrofijom sive mase i promenama bele mase, korišćen je regresioni model iz SPM8 (korigovan za starost i ukupnu intrakranijalnu zapreminu) i FSL (korigovan za starost). Da bi se smanjio broj poređenja, axD i radD nisu uključene u korelacionu analizu.

Nivo značajnosti za sve statističke analize bio je 0,05 za statistički značajnu razliku i 0,01 za visoko statistički značajnu razliku. Za analizu podataka dobijenih pomoću MR, izvršena je korekcija statističke značajnosti za višestruka poređena pomoću metode *family-wise error*.

4. REZULTATI

4.1. Sociodemografske i kliničke karakteristike ispitivanih bolesnika

U istraživanju je učestvovalo 66 bolesnika (22 sa jMD1 i 44 sa aMD1), starosti 19 do 64 godine. Njihovi detaljni sociodemografski podaci prikazani su u Tabeli 3. Bolesnici sa aMD1 su bili stariji ($46,2 \pm 8,6$ prema $33,2 \pm 8,2$; $p < 0,01$), već su bili u braku (61,4 % prema 27,3 %; $p < 0,05$) i već su imali potomstvo (70,0 % prema 27,3 %; $p < 0,01$) nego bolesnici sa jMD1. Ispitanici sa jMD1 i aMD1 se nisu razlikovali ni po jednom drugom sociodemografskom parametru.

Tabela 3. Osnovni sociodemografski podaci ispitivanih bolesnika

Ispitivane karakteristike	jMD1 + aMD1 (n=66)	jMD1 (n=22)	aMD1 (n=44)
Pol (% muškaraca)	50,0	63,6	43,2
Starost ($\bar{x} \pm SD$, godine) **	$41,9 \pm 10,5$	$33,2 \pm 8,2$	$46,2 \pm 8,6$
Obrazovanje ($\bar{x} \pm SD$, godine)	$10,6 \pm 2,0$	$10,5 \pm 1,9$	$10,7 \pm 2,1$
Ponavljani razred (% bolesnika)	30,3	36,4	27,3
Zanimanje (% bolesnika)			
fizički posao	30,3	22,7	34,1
intelektualni posao	21,2	22,7	20,5
nezaposlen/-a	18,2	27,3	13,6
penzioner/-ka	30,3	27,3	31,8
Bračni status (% bolesnika) #			
oženjen/udata	50,0	27,3	61,4
neoženjen/neudata	33,3	59,1	20,5
razveden/-a	15,2	13,6	15,9
udovac/udovica	1,5	0,0	2,3
Deca (% bolesnika) ##			
jedno dete	30,3	27,3	31,8
dvoje dece	25,8	0,0	38,6

\bar{x} - srednja vrednost, SD – standardna devijacija; ** $p < 0,01$ kada se porede grupe jMD1 i aMD1 (Studentov t-test), # $p < 0,05$ i ## $p < 0,01$ kada se porede grupe jMD1 i aMD1 (χ^2 test)

Kliničke karakteristike bolesnika su prikazane u Tabeli 4. Kao što je i očekivano, bolest je značajno ranije počinjala kod bolesnika sa jMD1 u poređenju sa aMD1 ($p < 0,01$).

Najčešća tegoba koju su bolesnici uočili ili na samom početku bolesti bilo je kožna osip (48,5 %), a potom slabost nogu (22,7 %) (Tabela 5).

Grupe bolesnika sa jMD1 i aMD1 su bile dobro uparene po dužini trajanja bolesti ($21,1 \pm 9,4$ prema $18,4 \pm 8,2$; $p > 0,05$) (Tabela 4). Vrednosti CK u serumu su bile povišene kod 66,7 % obolelih (77,3 % bolesnika sa jMD1 i 61,4 % bolesnika sa aMD1; $p > 0,05$). Serumska LDH bila je povišena kod 16,7 % obolelih, i to kod 13,6 % bolesnika sa jMD1 i 18,2 % bolesnika sa aMD1 ($p > 0,05$).

Tabela 4. Osnovni klinički nalazi kod ispitivanih bolesnika

Ispitivane karakteristike	jMD1 + aMD1 (n=66)	jMD1 (n=22)	aMD1 (n=44)
Starost na početku bolesti ($\bar{x} \pm SD$, godine) **	22,6 \pm 9,6	12,1 \pm 4,7	27,8 \pm 6,7
Trajanje bolesti ($\bar{x} \pm SD$, godine)	19,3 \pm 8,6	21,1 \pm 9,4	18,4 \pm 8,2
Pozitivna porodnična anamneza (% bolesnika)	92,4	90,9	93,2
CK ($\bar{x} \pm SD$, U/l)	227,9 \pm 176,5	258,0 \pm 187,5	212,8 \pm 171,0
LDH ($\bar{x} \pm SD$, U/l)	499,3 \pm 114,8	494,6 \pm 91,2	501,5 \pm 125,7

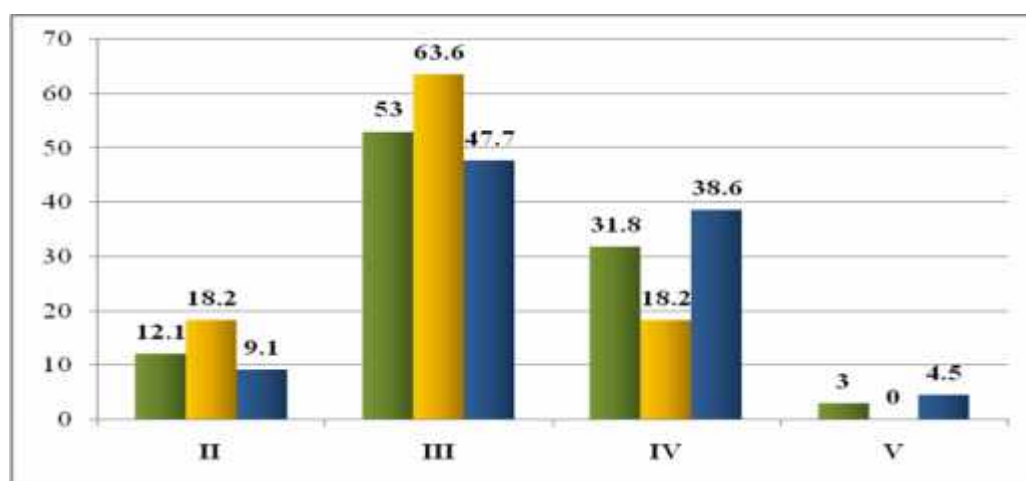
\bar{x} - srednja vrednost, SD – standardna devijacija, CK – kreatin kinaza, LDH – laktat dehidrogenaza; ** $p < 0,01$ kada se porede grupe jMD1 i aMD1 (Mann-Whitneyev U-test)

Bolesnici sa jMD1 i aMD1 se nisu razlikovali po težini mišićnog oštećenja određivanog pomoću MIRS u trenutku ispitivanja (Grafikon 1).

Tabela 5. Prve tegobe povezane sa MD1 kod ispitivanih bolesnika

Prve smetnje (%)	jMD1 + aMD1 (n=66)	jMD1 (n=22)	aMD1 (n=44)
Miotonija			
šaka	48,5	50,0	47,7
vilice	6,1	4,5	6,8
nogu	3,0	0,0	4,5
Slabost			
nogu	22,7	13,6	27,3
šaka	4,5	9,1	2,3
miši a lica	3,0	4,5	2,3
pri govoru	3,0	9,1	0,0
Bolovi			
u le ima	3,0	4,5	2,3
u nogama	1,5	0,0	2,3
Ostalo			
katarakta	1,5	0,0	2,3
kalkuloza žu ne kesice	1,5	0,0	2,3
asimptomatski pri dijagnostici	1,5	4,5	0,0

Grafikon 1. Stepen miši ne slabosti kod bolesnika sa MD1 u trenutku ispitivanja (n=66)

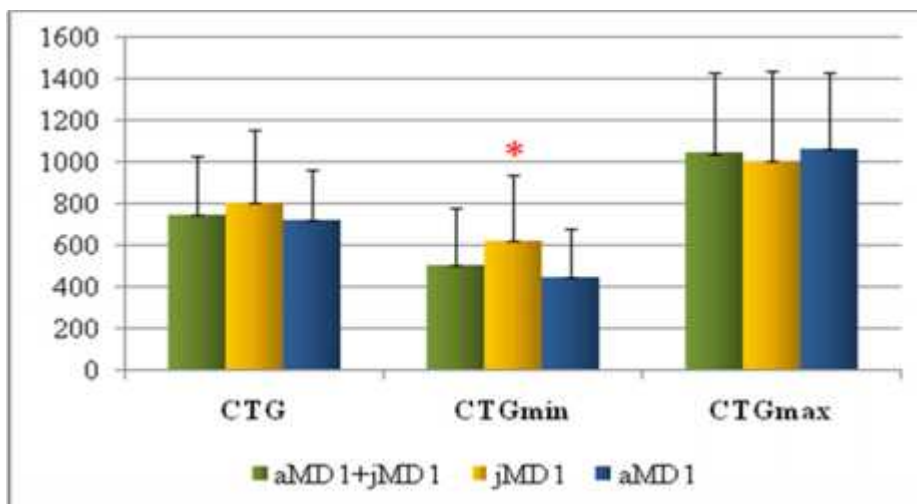


na x-osi su prikazane forme bolesti prema MIRS, na y-osi je procenat obolelih; svi bolesnici su dati zelenom, bolesnici sa jMD1 žutom, a bolesnici sa aMD1 plavom bojom

4.2. Rezultati molekularno-genetske analize

Prose an broj CTG ponovaka na prikazanim alelima DMPK gena kod svih ispitivanih bolesnika iznosio je $751,9 \pm 280,6$ i nije se razlikovao kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($807,7 \pm 347,9$ prema $724,0 \pm 239,8$; $p > 0,05$) (Grafikon 2). Broj ponovaka u najmanjem alelu bio je $508,8 \pm 274,0$. Bolesnici sa jMD1 su imali ve i broj ponovaka u najmanjem alelu u odnosu na bolesnike sa aMD1 ($625,2 \pm 317,2$ u pore enju sa $450,6 \pm 232,2$; $p < 0,05$). Prose an broj ponovaka u najve em alelu iznosio je $1044,6 \pm 388,9$ i nije bilo razlike u broju ponovaka kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($1006,1 \pm 433,4$ i $1063,9 \pm 368,5$; $p > 0,05$).

Grafikon 2. Broj CTG ponovaka u svim prikazanim alelima, najmanjem i najve em alelu DMPK gena kod bolesnika sa MD1 (n=66)



*CTG – prose an broj CTG ponovaka na svim alelima DMPK gena; CTGmin – prose an broj ponovaka u najmanjem alelu; CTGmax – prose an broj ponovaka u najve em alelu; rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija; * $p < 0,05$ (Mann-Whitneyev U test)*

U Tabeli 6 prikazana je distribucija bolesnika prema veli ini ekspanzije CTG ponovaka. Raspodela bolesnika prema prose nom broju ponovaka u svim alelima i u najve em alelu, nije se razlikovala kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p > 0,05$). Kada se uzme u obzir prose an broj ponovaka u najmanjem alelu, 63,6 % bolesnika sa jMD1 bilo je u kategoriji E2 i E3, dok je 68,2 % bolesnika sa aMD1 bilo u kategoriji E1 ($p < 0,05$).

Tabela 6. Distribucija bolesnika prema veličini ekspanzije CTG ponovaka

	E1 (100-500)	E2 (500-1000)	E3 (1000-1500)	E4 (>1500)
CTG (%)				
jMD1+aMD1	19,7	68,2	9,1	3,0
jMD1	22,7	59,1	9,1	9,1
aMD1	18,2	72,7	9,1	0,0
CTG_{min}* (%)				
jMD1+aMD1	57,6	36,4	6,1	0,0
jMD1	36,4	50,0	13,6	0,0
aMD1	68,2	29,5	2,3	0,0
CTG_{max} (%)				
jMD1+aMD1	9,1	34,8	40,9	15,2
jMD1	13,6	36,4	31,8	18,2
aMD1	6,8	34,1	45,5	13,6

*CTG – prosečan broj CTG ponovaka na svim alelima DMPK gena; CTG_{min} – prosečan broj ponovaka u najmanjem alelu; CTG_{max} – prosečan broj ponovaka u najvećem alelu; rezultati su prikazani kao procenat svih bolesnika (jMD1+aMD1), bolesnika sa juvenilnom (jMD1) i adultnom formom miotonične distrofije tipa 1 (aMD1), koji pripadaju određenoj kategoriji broja ponovaka; * $p < 0,05$ (χ^2 test) kada se porede grupe bolesnika sa jMD1 i aMD1*

4.3. Faktori rizika

U našoj studiji 40,9 % ispitanika je imalo pušački staž od $11,9 \pm 12,7$ godina. Bolesnici su prosečno pušili $5,4 \pm 5,7$ cigareta dnevno. Nije bilo bolesnika koji su zloupotrebljavali alkoholna pića. Zastupljenost ovih faktora rizika se nije razlikovala u grupama bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p > 0,05$).

Osnovni metabolički parametri ispitivanih bolesnika prikazani su u Tabeli 7. Bolesnici sa jMD1 su se razlikovali u odnosu na bolesnike sa aMD1 samo u vrednostima sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska ($p < 0,05$).

Tabela 7. Osnovni metaboli ki parametri kod bolesnika sa MD1

Ispitivani parametri	jMD1 + aMD1 (n=66)	jMD1 (n=22)	aMD1 (n=44)
BMI ($\bar{x} \pm SD$, kg/m ²)	23,1 ± 4,5	22,3 ± 4,8	23,4 ± 4,3
Sistolna tenzija ($\bar{x} \pm SD$, mmHg) *	113,7 ± 12,5	109,3 ± 11,5	115,9 ± 12,6
Dijastolna tenzija ($\bar{x} \pm SD$, mmHg) *	73,7 ± 8,9	70,3 ± 7,3	75,3 ± 9,2
EF leve komore ($\bar{x} \pm SD$, %)	62,2 ± 5,2	62,2 ± 4,3	62,2 ± 5,7
FVC ($\bar{x} \pm SD$, %)	84,0 ± 20,7	84,3 ± 22,0	83,8 ± 20,3
Glikemija našte ($\bar{x} \pm SD$, mmol/l)	4,9 ± 0,9	4,9 ± 1,3	4,9 ± 0,5
Insulin našte ($\bar{x} \pm SD$, mU/l)	14,2 ± 10,9	17,5 ± 16,4	12,9 ± 7,4
HOMA indeks IR ($\bar{x} \pm SD$)	3,1 ± 2,4	3,6 ± 3,7	2,8 ± 1,6
OGTT 2h (mmol/l)	6,0 ± 2,0	5,6 ± 1,1	6,2 ± 2,3
Trigliceridi ($\bar{x} \pm SD$, mmol/l)	2,2 ± 1,4	2,2 ± 0,9	2,3 ± 1,6
Holesterol ($\bar{x} \pm SD$, mmol/l)	5,9 ± 1,4	5,8 ± 1,8	6,0 ± 1,2
HDL ($\bar{x} \pm SD$, mmol/l)	1,3 ± 0,3	1,2 ± 0,4	1,3 ± 0,3
LDL ($\bar{x} \pm SD$, mmol/l)	3,7 ± 1,3	3,7 ± 1,6	3,8 ± 1,0
T3 ($\bar{x} \pm SD$, nmol/l)	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,3
FT3 ($\bar{x} \pm SD$, pmol/l)	4,2 ± 1,6	4,1 ± 0,5	4,3 ± 2,0
T4 ($\bar{x} \pm SD$, nmol/l)	94,6 ± 30,5	94,9 ± 35,0	94,4 ± 28,9
FT4 ($\bar{x} \pm SD$, pmol/l)	13,5 ± 2,4	13,4 ± 3,5	13,5 ± 1,9
TSH ($\bar{x} \pm SD$, mU/l)	1,5 ± 1,0	1,9 ± 1,4	1,4 ± 0,8
Homocistein ($\bar{x} \pm SD$, umol/l)	10,5 ± 3,4	10,6 ± 4,2	10,5 ± 3,0
Vitamin B12 ($\bar{x} \pm SD$, pg/ml)	457,2 ± 324,4	577,4 ± 589,8	417,1 ± 170,9

\bar{x} - srednja vrednost, SD – standardna devijacija, BMI – indeks telesne mase, EF – ejejkciona frakcija, FVC – forsirani vitalni kapacitet, $HOMA$ – Homeostatis model assessment, IR – insulinska rezistencija, $OGTT$ – test na oralnu toleranciju glukoze, HDL – lipoproteini visoke gustine, LDL – lipoproteini male gustine, $T3$ – trijodtironon, $FT3$ – slobodni trijodtironin, $T4$ – tiroksin, $FT4$ – slobodni tiroksin, TSH – tireoidni stimulišu i hormon;

* $p < 0,05$ kada se porede grupe $jMD1$ i $aMD1$ (Studentov t -test)

Prema BMI, većina bolesnika je bila normalno uhranjena (62,1 %), prekomernu telesnu masu je imalo 19,7 % obolelih, patološku gojaznost 7,6 %, dok je 10,6 % bolesnika sa MD1 bilo neuhranjeno. Sistolnu hipertenziju je imalo samo 3,0 % bolesnika, a dijastolnu 10,6 %. Na EKG pregledu najčešće je uočen AV blok I stepena i rana repolarizacija (12,1 %) (Grafikon 3). Ehokardiografske promene bile su retke u našoj grupi bolesnika. Produžena relaksacija leve komore registrovana je kod 7,6 % bolesnika, blaga hipertrofija leve komore kod 4,5 %, prolaps mitralne valvule takođe kod 4,5 %, a blaga dilatacija leve komore kod 3,0 % obolelih. Vrednosti EF ispod norme uočene su kod 4,5 % bolesnika, ali niko nije imao klinički značajnu kardiomiopatiju. Uestalost navedenih kardioloških parametara se nije razlikovala kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$).

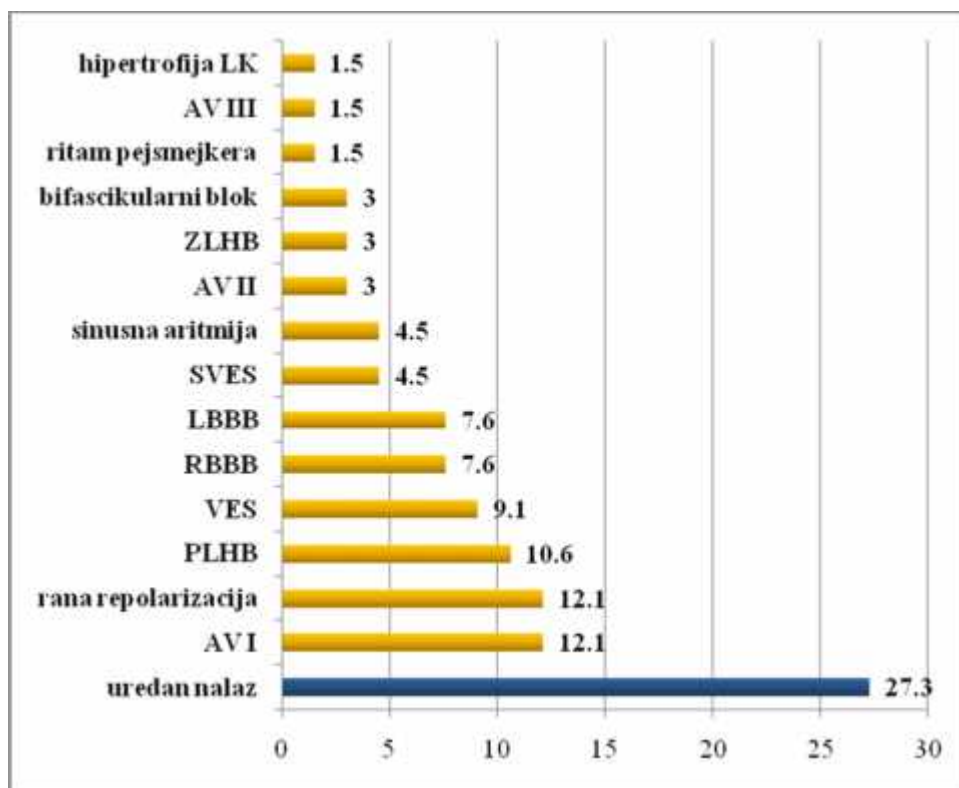
Hrkanje je bilo prisutno kod 30,3 % ispitanika. Blago sniženje FVC registrovano je kod 34,8 % bolesnika sa MD1, umereno kod 18,2 %, a teško kod samo 3,0 %. Nije bilo razlike u uestalosti pulmoloških poremećaja kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$).

HOMA indeks je ukazivao na prisustvo insulinske rezistencije kod 45,5 % obolelih, dok je primenom OGTT glukozna intolerancija registrovana kod 10,6 %, a *diabetes mellitus* tipa 2 kod 3,0 % bolesnika sa MD1. Hipertigliceridemiju je imalo 63,6 % bolesnika, a hiperholesterolemiju 62,1 % bolesnika, uz povišen LDL kod 47,0 % i snižen HDL kod 16,7 % ispitanika. Nije registrovana razlika u zastupljenosti metaboličkih poremećaja u grupi bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$).

Poremećaji funkcije štitaste žlezde uočeni su kod 15,1 % bolesnika: 2 bolesnika su imala nizak T4, jedan bolesnik nizak FT4, tri bolesnika su imala supkliničku hipertireozu sa sniženim vrednostima TSH i normalnim T3, FT3, T4 i FT4, dva bolesnika su imala povišen T4, jedan povišen FT3, a samo jedna bolesnica je imala jasnu kliničku hipertireozu sa visokim T4 i niskim TSH.

Blaga hipovitaminoza B12 je otkrivena kod 1,5 % bolesnika, a laka hiperhomocisteinemija kod 4,5 %.

Grafikon 3. Uestalost promena registrovanih na EKG kod bolesnika sa MD1 (n=66)



rezultati su prikazani kao procenat bolesnika sa određenim nalazom; LK – leva komora, AV I, AV II, AV III – atrioventrikularni blok prvog, drugog ili trećeg stepena, ZLHB – zadnji levi hemiblok, PLHB – prednji levi hemiblok, SVES – supraventrikularne ekstrasistole, VES – ventrikularne ekstrasistole

Niko od ispitivanih bolesnika nije imao poremećaje koagulacije. U imunološkim analizama uočeno je nekoliko nesignifikantnih promena: dva bolesnika su imala pozitivna ANA u malom titru 1:40, dok je isti broj bolesnika imao lako povišene vrednosti ACLA klase IgM (13,9 U/ml i 15,2 U/ml).

Prema ultrasonografskom pregledu magistralnih krvnih sudova vrata i velikih krvnih sudova mozga, po tri bolesnika su imala hipoplaziju desne, odnosno leve vertebralne arterije, dok je po jedan bolesnik imao hipoplaziju bazilarne arterije, *a. communicans posterior*, *a. communicans anterior* i angulaciju distalnih delova *a. carotis internae et externae*. Jedna bolesnica je imala stenozu *a. cerebri posterior* ve u od 50 %, ali bez posledica neurološkog deficita. Druge strukturne abnormalnosti krvnih sudova glave i vrata nisu zapažene.

4.4. Neuropsihološko testiranje

4.4.1. Klasi ni testovi

Grupa od 64 bolesnika, koji su pristali na klasi no neuropsihološko testiranje, nije se razlikovala ni po jednom sociodemografskom i klini kom parametru u odnosu na po etnu grupu od 66 bolesnika sa MD1.

Rezultati na kognitivnim skrining testovima i testovima koji mere opšti intelektualni nivo prikazani su u Tabeli 8. Bolesnici sa jMD1 su postigli bolji rezultat na Addenbrookeovom testu nego bolesnici sa aMD1 (28,6 % u pore enju sa 51,1 % obolelih ispod normativne vrednosti; $p < 0,05$). Kada se posmatraju pojedina ni skorovi na ovom testu, jedina razlika je opažena u domenu fluentnosti, sa višim skorom kod bolesnika sa jMD1 ($9,3 \pm 3,6$ u odnosu na $6,9 \pm 4,3$; $p < 0,05$). Na ostalim testovima nisu uo ene razlike.

Tabela 8. Rezultati na kognitivnim skrining testovima i testovima opšteg intelektualnog nivoa

Test	jMD1 + aMD1 (n=64)		jMD1 (n=21)		aMD1 (n=43)	
	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%
MMSE	25,7 ± 2,9	15,6	24,9 ± 3,6	23,8	26,0 ± 2,5	11,6
MOCA	24,3 ± 3,2	48,4	24,4 ± 3,6	52,4	24,3 ± 3,1	46,5
Addenbrooke's *	80,7 ± 10,9	43,8	83,4 ± 11,7	28,6	79,3 ± 10,4	51,1
Pažnja i orijentacija	15,5 ± 2,2	53,1	15,0 ± 2,8	61,9	15,6 ± 1,8	48,8
Pam enje	22,6 ± 3,0	7,8	23,2 ± 2,7	4,8	22,3 ± 3,1	9,3
Fluentnost * #	7,8 ± 4,2	39,1	9,3 ± 3,6	33,3	6,9 ± 4,3	41,8
Jezik	22,3 ± 3,2	50,0	22,7 ± 3,8	38,1	22,1 ± 2,9	55,8
Vizuospacijalno	13,4 ± 2,3	51,6	13,2 ± 2,1	47,6	13,4 ± 2,1	53,5
RSPM	25,0 ± 11,0	45,3	20,8 ± 9,0	47,8	27,0 ± 11,4	41,9
VITI - Sli nosti	7,7 ± 2,5	20,3	8,4 ± 2,3	9,5	7,3 ± 2,5	25,6

rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost ± standardna devijacija) i kao procenat bolesnika sa rezultatom ispod norme; * $p < 0,05$ kada se poredi procenat bolesnika sa jMD1 i aMD1 koji su ispod norme (χ^2 test), # $p < 0,05$ kada se porede skorovi na odgovaraju em testu kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 (Mann-Whitneyev U-test)

Skor na TMT-A testu je bio ispod normativnih vrednosti kod 39,1 % ispitanika, dok su skorovi na testu *Brojevi* i *Šifra* bili patološki kod 14,1 %, odnosno 23,4 % bolesnika sa MD1 (Tabela 9). Na testu *Šifra* znatno lošije postignu e su imali bolesnici sa aMD1 u pore enju sa jMD1 (32,6 % bolesnika ispod norme u odnosu na 4,8 %; $p < 0,05$).

Na testu *Aritmetika* iz VITI baterije, 40,6 % bolesnika bilo je ispod norme, i to eš e bolesnici sa jMD1 nego aMD1 (57,1 % prema 32,6 %; $p > 0,05$) (Tabela 9).

Loše rezultate na HVOT imalo je ak 76,6 % bolesnika sa MD1 (Tabela 9). Skor na ovom testu bio je manji kod bolesnika sa aMD1 ($11,7 \pm 4,9$ prema $15,5 \pm 4,3$; $p = 0,05$). Postignu e ispod norme na kopiranju ROCF imalo je 79,7 % obolelih, a na testu *Kocka mozaik* njih 43,8 %. Bolesnici sa jMD1 i aMD1 nisu se razlikovali po rezultatima na ova dva testa ($p > 0,05$).

Tabela 9. Rezultati na testovima pažnje, aritmetike i vizuospacijalnih sposobnosti

Test	jMD1 + aMD1 (n=64)		jMD1 (n=21)		aMD1 (n=43)	
	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%
TMT-A	$59,8 \pm 22,7$	39,1	$53,1 \pm 25,5$	33,3	$63,0 \pm 28,4$	41,9
VITI – <i>Brojevi</i>	$7,7 \pm 2,8$	14,1	$8,3 \pm 3,5$	19,0	$7,5 \pm 2,3$	11,6
VITI – <i>Šifra</i> *	$6,8 \pm 2,1$	23,4	$7,4 \pm 1,6$	4,8	$6,5 \pm 2,3$	32,6
VITI - <i>Aritmetika</i>	$6,5 \pm 2,5$	40,6	$5,9 \pm 2,7$	57,1	$6,8 \pm 2,4$	32,6
HVOT #	$13,9 \pm 4,7$	76,6	$15,5 \pm 4,3$	81,0	$11,7 \pm 4,9$	74,4
ROCF - kopiranje	$23,0 \pm 5,9$	79,7	$23,6 \pm 5,7$	76,2	$22,7 \pm 6,1$	81,4
VITI – <i>Kocka mozaik</i>	$5,4 \pm 2,5$	43,8	$5,2 \pm 2,3$	52,4	$5,5 \pm 2,5$	39,5

rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost \pm standardna devijacija) i kao procenat bolesnika sa rezultatom ispod norme; * $p < 0,05$ kada se poredi procenat bolesnika sa jMD1 i aMD1 koji su ispod norme (Fisherov test), # $p = 0,05$ kada se porede skorovi na odgovaraju em testu kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 (Mann-Whitneyev U-test)

Patološki rezultati na neposrednom upam ivanju u RAVLT na eni su kod 21,9 %, a na rekogniciji kod 42,1 % obolelih. Rezultate ispod norme na prise anju ROCF imalo je 51,6 % bolesnika sa MD1 (Tabela 10). Nije bilo razlike u postignu ima na testovima pam enja kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p > 0,05$).

Produženo vreme pri rešavanju TMT-B registrovano je kod 39,1 % bolesnika sa MD1 (Tabela 10). Patološke rezultate na testovima fonemske i kategorijalne fluentnosti imalo je 15,6%, odnosno 12,5 % obolelih. Broj postignutih kategorija na WCST bio je manji od predvi enog kod 67,2 % bolesnika, dok je broj perseverativnih odgovora bio pove an kod 48,4 %, a broj neuspelih pokušaja održavanja seta kod 12,5 % ispitanika. Rezultati na testovima egzekutivnih funkcija se nisu razlikovali kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$).

Broj ta nih odgovora na BNT bio je ve i kod bolesnika sa jMD1 u pore enju sa aMD1 ($50,8 \pm 6,0$ prema $47,0 \pm 6,1$; $p<0,05$) (Tabela 10).

Tabela 10. Rezultati na testovima pam enja, egzekutivnih i jezi kih sposobnosti

Test	jMD1 + aMD1 (n=64)		jMD1 (n=21)		aMD1 (n=43)	
	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%
RAVLT						
neposredno upam ivanje	46,2 ± 9,1	21,9	47,2 ± 9,2	23,8	12,8 ± 2,0	20,9
rekognicija	12,5 ± 2,8	42,1	45,7 ± 9,1	42,9	12,4 ± 3,1	41,9
ROCF - prise anje	12,6 ± 5,3	51,6	14,6 ± 5,5	47,6	11,7 ± 4,9	53,5
TMT-B	159,6 ± 84,0	39,1	146,7 ± 98,3	42,8	166,3 ± 76,1	37,2
Fonemska fluentnost	26,1 ± 8,4	15,6	27,3 ± 12,3	14,3	25,4 ± 5,7	16,3
Kategorijalna fluentnost	17,1 ± 4,3	12,5	17,8 ± 3,7	14,3	16,8 ± 4,5	11,6
WCST						
kategorije	2,6 ± 2,2	67,2	3,0 ± 2,4	66,7	2,3 ± 2,0	67,4
perseverativni odgovori	29,7 ± 21,1	48,4	28,8 ± 22,3	47,6	30,2 ± 20,7	48,8
neodržavanje seta	0,8 ± 1,1	12,5	0,9 ± 1,2	14,3	0,8 ± 1,1	11,6
BNT *	48,3 ± 6,3	62,5	50,8 ± 6,0	52,3	47,0 ± 6,1	67,4

*rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost ± standardna devijacija) i kao procenat bolesnika sa rezultatom ispod norme; * $p<0,05$ kada se porede skorovi na odgovaraju em testu kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 (Studentov t test)*

4.4.2. CANTAB

Grupa od 58 bolesnika koji su testirani kompjuterskom baterijom neuropsiholoških testova se nije razlikovala od osnovne grupe sastavljene od 66 ispitanika ni po jednom sociodemografskom i kliničkom parametru.

Nijedan od ispitivanih bolesnika sa MD1 nije imao rezultat na MOT testu koji je bio ispod predviđene norme.

Postignute na testovima pažnje i vizuelne memorije iz baterije CANTAB prikazano je u Tabeli 11. Gotovo polovina bolesnika je bila ispod predviđenih rezultata za procenat ta njih odgovora pri odloženom uparivanju figura na DMS testu (48,3 %), dok je 41,8 % bolesnika sa MD1 imalo procenat ta njih odgovora na MTS testu ispod norme za uparenu zdravu populaciju (Tabela 11).

Tabela 11. Rezultati na testovima pažnje i vizuelne memorije iz CANTAB baterije

Ispitivani parametri	jMD1 + aMD1 (n=58)		jMD1 (n=19)		aMD1 (n=39)	
	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%
MTS						
% ta njih odgovora	92,7 ± 4,7	41,8	91,4 ± 4,7	52,6	93,2 ± 4,6	33,3
DMS						
% ta njih odgovora odloženo	68,6 ± 13,2	48,3	66,8 ± 13,3	47,4	69,5 ± 13,2	48,7
% ta njih odgovora simultano	86,2 ± 14,5	34,5	87,9 ± 14,0	31,6	85,4 ± 14,8	35,9
<i>prob error given error</i>	0,2 ± 0,2	41,4	0,2 ± 0,2	47,4	0,2 ± 0,2	38,5
PAL						
prilagođeni broj grešaka	40,9 ± 46,4	25,9	29,3 ± 39,1	21,1	46,5 ± 49,0	28,2
prilagođeni broj grešaka (6)	12,3 ± 16,2	19,0	8,7 ± 14,3	15,8	14,1 ± 16,9	20,5
PRM						
% ta njih odgovora	82,6 ± 11,4	22,4	84,4 ± 8,1	15,8	81,7 ± 12,7	25,6
SRM						
% ta njih odgovora	74,7 ± 12,2	25,9	76,3 ± 11,9	26,3	74,0 ± 12,4	25,6

rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost ± standardna devijacija) i kao procenat bolesnika sa rezultatom ispod norme u odnosu na zdrave ispitanike uparene po polu i starosti

Nije uo ena statisti ki zna ajna razlika u rezultatima na testovima pažnje i vizuelne memorije kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$), iako je procenat bolesnika koji su bili ispod norme na MTS testu bio nešto ve i u jMD1 (52,6 % prema 33,3 %; $p>0,05$). Pored toga, kod bolesnika sa jMD1 uo en je nešto manji prilago eni broj grešaka na PAL testu ($29,3 \pm 39,1$ u odnosu na $46,5 \pm 49,0$; $p>0,05$)

Najlošiji rezultati u CANTAB bateriji dobijeni su na testovima egzekutivnih funkcija (Tabela 12). Više od polovine bolesnika je imalo skor ispod norme za broj uspešno rešenih zadataka sa minimalnim brojem poteza u SOC testu (66,7 %), broj kompletiranih nivoa u IED testu (53,4 %) i najdužu rešenu sekvencu u SSP testu (51,7 %).

Nije uo ena statisti ki zna ajna razlika u rezultatima na CANTAB testovima kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$), iako je uo eno nešto kra e inicijalno mišljenje na SOC testu kod bolesnika sa jMD1 ($5933,1 \pm 3607,9$ prema $8198,7 \pm 6104,6$; $p>0,05$).

Tabela 12. Rezultati na testovima egzekutivnih funkcija iz CANTAB baterije

Ispitivani parametri	jMD1 + aMD1 (n=58)		jMD1 (n=19)		aMD1 (n=39)	
	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%
IED						
broj kompletiranih nivoa	$7,8 \pm 1,1$	53,4	$7,7 \pm 1,3$	57,9	$7,9 \pm 1,0$	51,3
prilago eni broj grešaka	$41,9 \pm 24,7$	6,9	$45,1 \pm 31,1$	5,3	$40,4 \pm 21,2$	7,7
SOC						
inicijalno mišljenje (ms)	$7429,2 \pm 5458,5$	8,8	$5933,1 \pm 3607,9$	5,3	$8198,7 \pm 6104,6$	10,3
naknadno mišljenje (ms)	$5214,9 \pm 6121,2$	31,6	$5454,0 \pm 9451,3$	21,1	$5092,0 \pm 3549,0$	35,9
broj uspešnih zadataka	$5,7 \pm 2,1$	66,7	$5,8 \pm 2,6$	68,4	$5,7 \pm 1,8$	64,1
SSP						
najduža sekvencu	$4,7 \pm 1,4$	51,7	$4,8 \pm 1,6$	47,4	$4,6 \pm 1,2$	53,8
SWM						
broj grešaka	$50,9 \pm 17,5$	27,6	$48,1 \pm 21,6$	26,3	$52,3 \pm 15,3$	28,2
strategija	$37,2 \pm 3,9$	29,3	$26,2 \pm 5,3$	36,8	$37,7 \pm 2,9$	25,6

rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost \pm standardna devijacija) i kao procenat bolesnika sa rezultatom ispod norme u odnosu na zdrave ispitanike uparene po polu i starosti

4.4.3. Faktori povezani sa neuropsihološkim nalazom kod bolesnika sa jMD1

Broj perseveracija na WCST je bio znatno veći kod muškaraca nego kod žena ($36,2 \pm 18,1$ u odnosu na $16,8 \pm 24,2$; $p > 0,05$). Na drugim neuropsihološkim testovima nisu zapažene razlike vezane za pol ($p > 0,05$).

Sa dužim trajanjem bolesti pogoršavalo se neposredno upamćivanje na RAVLT ($r = -0,52$; $p < 0,05$) i povećavao se broj grešaka na SWM testu ($r = +0,46$; $p < 0,05$).

Bolesnici sa težim stepenom mišićnog oštećenja prema MIRS, imali su lošiji rezultat pri prisanju ROCF ($r = -0,43$; $p < 0,05$).

Uočene su značajne korelacije rezultata na neuropsihološkim testovima sa srednjim i minimalnim, ali ne i sa maksimalnim brojem CTG ponovaka u DMPK genu (Tabela 13).

Tabela 13. Korelacija broja CTG ponovaka sa rezultatima na neuropsihološkim testovima kod bolesnika sa jMD1

Broj CTG ponovaka	Neuropsihološki test	
srednji broj CTG ponovaka	VITI – <i>Aritmetika</i>	-0,44 *
	MTS - % ta nih odgovora	-0,50 *
	SWM – strategija	+0,49 *
minimalni broj CTG ponovaka	TMT-A	+0,45 *
	VITI – <i>Aritmetika</i>	-0,45 *
	VITI – <i>Kocka mozaik</i>	-0,48 *
	RAVLT – neposredno upamćivanje	-0,70 **
	TMT-B	+0,59 **
	MTS - % ta nih odgovora	-0,48 *
	SRM - % ta nih odgovora	-0,47 *
	SWM – broj grešaka	+0,46 *
	SWM – strategija	+0,51 *
maksimalni broj CTG ponovaka	-	-

- Spearmanov koeficijent korelacije; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

4.4.4. Faktori povezani sa neuropsihološkim nalazom kod bolesnika sa aMD1

Žene su imale lošiji rezultat na TMT-A testu ($71,8 \pm 31,1$ prema $51,2 \pm 19,4$; $p < 0,05$), HVOT ($11,2 \pm 4,2$ prema $16,0 \pm 4,1$; $p < 0,01$) i TMT-B testu ($193,8 \pm 76,7$ prema $133,9 \pm 63,1$; $p < 0,01$), kao i veći prilagođeni broj grešaka na IED ($45,6 \pm 20,4$ prema $32,9 \pm 20,5$; $p < 0,05$).

Uočene su korelacije starosti bolesnika sa postignučenim na sledećim neuropsihološkim testovima: Addenbrookeov test ($r = -0,35$; $p < 0,05$), TMT-A ($r = +0,55$; $p < 0,01$), VITI – Šifra ($r = -0,46$; $p < 0,01$), kopiranje ROCF ($r = -0,46$; $p < 0,01$), VITI – Kocka mozaik ($r = -0,36$; $p < 0,05$), RAVLT rekognicija ($r = -0,30$; $p < 0,05$), prisecanje ROCF ($r = -0,46$; $p < 0,01$), TMT-B ($r = +0,56$; $p < 0,01$), broj postignutih kategorija u WCST ($r = -0,39$; $p < 0,05$), BNT ($r = -0,44$; $p < 0,01$), procenat tačnih odgovora simultano na DMS testu ($r = +0,34$; $p < 0,05$), DMS test *prob error given error* ($r = -0,50$; $p < 0,01$), broj prilagođenih grešaka na PAL testu ($r = +0,51$; $p < 0,01$), broj prilagođenih grešaka u zadatku sa 6 figura na PAL testu ($r = +0,46$; $p < 0,01$), prilagođeni broj grešaka na IED testu ($r = +0,36$; $p < 0,05$), broj uspešno rešenih zadataka na SOC testu ($r = -0,34$; $p < 0,05$), najduža sekvenca u SSP testu ($r = -0,39$; $p < 0,05$) i broj grešaka na SWM testu ($r = +0,33$; $p < 0,05$).

Kod bolesnika sa težim stepenom mišljenja oštećenja su uočeni lošiji rezultati na Addenbrookeovom testu ($r = -0,36$; $p < 0,05$), HVOT ($r = -0,41$; $p < 0,05$) i prisecanju ROCF ($r = -0,41$; $p < 0,01$). Značajne korelacije neuropsihološkog testiranja sa srednjim, minimalnim i maksimalnim brojem CTG ponovaka prikazane su u Tabeli 14.

Tabela 14. Korelacija broja CTG ponovaka sa rezultatima na neuropsihološkim testovima kod bolesnika sa aMD1

Broj CTG ponovaka	Neuropsihološki test	
srednji broj CTG ponovaka	Addenbrooke's – pažnja i orijentacija	-0,40 *
minimalni broj CTG ponovaka	BNT	+0,32 *
	DMS – % tačnih odgovora simultano	+0,33 *
	PAL – broj grešaka (6)	+0,39 *
maksimalni broj CTG ponovaka	VITI – Kocka mozaik	-0,36 *
	ROCF – kopiranje	-0,32 *
	TMT-B	+0,34 *

- Spearmanov koeficijent korelacije; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

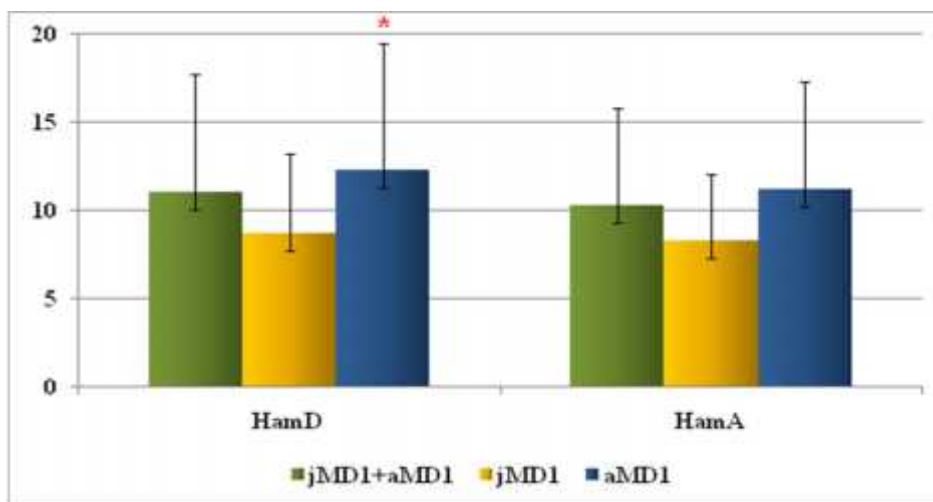
4.5. Psihijatrijsko ispitivanje

4.5.1. Depresivnost i anksioznost

Prosečan skor na Hamiltonovoj skali depresivnosti bio je $11,1 \pm 6,6$ kod svih 66 bolesnika sa MD1. Bolesnici sa jMD1 su imali manji skor u poređenju sa bolesnicima sa aMD1 ($8,7 \pm 4,5$ prema $12,3 \pm 7,2$; $p < 0,05$) (Grafikon 3). Procenat osoba sa značajnom depresivnošću bio je 15,2 %, i to 4,3 % u grupi bolesnika sa jMD1 i 20,9 % u grupi sa aMD1 ($p > 0,05$).

Prosečan skor na Hamiltonovoj skali anksioznosti bio je $10,3 \pm 5,5$. Razlika u skorovima između bolesnika sa jMD1 i aMD1 nije bila statistički značajna ($8,3 \pm 2,8$ prema $11,2 \pm 6,1$; $p > 0,05$) (Grafikon 4). Značajna anksioznost registrovana je kod 10,6 % bolesnika sa MD1. U grupi bolesnika sa jMD1 nije registrovan nijedan bolesnik sa značajnom anksioznošću, dok ih je u grupi sa aMD1 bilo sedam (16,3 %) ($p < 0,05$).

Grafikon 4. Skorovi na Hamiltonovim skalama depresivnosti i anksioznosti kod bolesnika sa jMD1 (n=22) i aMD1 (n=44)



rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija; HamD – Hamiltonova skala depresivnosti, HamA – Hamiltonova skala anksioznosti;

* $p < 0,05$ kada se porede bolesnici sa jMD1 i aMD1 (Mann-Whitneyev U test)

Kako kod bolesnika sa jMD1, tako i kod bolesnika sa aMD1 uočena je značajna korelacija između skorova na HamD i HamA skali ($r = +0,758$, $p < 0,01$ kod jMD1 i $r = +0,855$, $p < 0,01$ kod aMD1).

Nisu zapažene razlike u skorima na HamD skali kod muškaraca i žena sa jMD1 ($p > 0,05$). Stariji bolesnici su bili depresivniji ($\beta = +0,44$; $p < 0,05$). Obrazovanje nije uticalo na prisustvo depresivnosti ($p > 0,05$), ali je zapažen značajan uticaj zanimanja. Skor na HamD kod fizičkih radnika bio je $5,0 \pm 2,2$, kod onih koji su se bavili intelektualnim poslom $7,0 \pm 2,0$, kod nezaposlenih $10,0 \pm 2,5$ i kod penzionera $11,8 \pm 6,3$ ($p < 0,05$ prema Kruskal-Wallisovu; *post hoc* analiza sa Bonferronijevom korekcijom pokazuje značajnu razliku između fizičkih radnika i penzionera, $p = 0,05$). Braćno stanje bolesnika nije imalo uticaja na depresivnost. Bolesnici sa dužim trajanjem bolesti su bili depresivniji ($\beta = +0,50$; $p < 0,05$). Međutim, stepen mišićne slabosti prema MIRS nije imao uticaja na depresivnost ($p > 0,05$). Zapažena je i statistički značajna povezanost skora na HamD sa srednjim brojem CTG ponovaka ($\beta = +0,51$; $p < 0,05$) i maksimalnim brojem CTG ponovaka ($\beta = +0,54$; $p > 0,05$). Nakon linearne regresione analize ($R^2 = 0,42$) uočeno je da su trajanje bolesti i zanimanje prediktori stepena depresivnosti kod bolesnika sa jMD1 ($\beta = +0,61$, $p < 0,05$ za trajanje bolesti i $\beta = +0,50$, $p < 0,05$ za zanimanje), dok srednji broj CTG ponovaka nije bio u korelaciji sa stepenom depresivnosti ($\beta = -0,39$, $p > 0,05$).

Nijedan od navedenih parametara nije korelisao sa stepenom anksioznosti kod bolesnika sa jMD1 ($p > 0,05$).

Kod bolesnika sa aMD1 uočeno je da se skor na HamD skali povećava sa starošću ($\beta = +0,35$; $p < 0,05$) i smanjuje sa povećanjem broja CTG ponovaka na najmanjem alelu ($\beta = -0,36$; $p < 0,05$). Nakon linearne regresione analize ($R^2 = 0,11$), starost ostaje značajan prediktor depresivnosti ($\beta = +0,33$, $p < 0,05$ za starost i $\beta = -0,13$, $p > 0,05$ za minimalni broj CTG ponovaka).

Na nivou anksioznosti kod bolesnika sa aMD1 uticala je starost ($\beta = -0,42$; $p < 0,05$), kao i zanimanje bolesnika ($p < 0,05$). Naime, skor na HamA skali kod fizičkih radnika je bio $11,4 \pm 6,6$, kod onih koji su se bavili intelektualnim poslom $8,0 \pm 4,9$, kod nezaposlenih $8,3 \pm 7,1$, a kod penzionera $14,9 \pm 4,0$. *Post hoc* analiza je pokazala značajnu razliku između bolesnika koji se bave intelektualnim poslom i penzionera ($p < 0,05$). Veći stepen anksioznosti bio je u vezi sa manjim brojem CTG ponovaka na minimalnom alelu ($\beta = -0,34$; $p < 0,05$). Nakon linearne regresione analize ($R^2 = 0,18$), samo starost ostaje značajan prediktor anksioznosti ($\beta = +0,36$, $p < 0,05$ za starost, $\beta = +0,21$, $p > 0,05$ za zanimanje i $\beta = -0,12$, $p > 0,05$ za broj CTG ponovaka).

Povezanost između poremećaja raspoloženja i nalaza na neuropsihološkim testovima nije značajna kod bolesnika sa jMD1 ($p > 0,05$). S druge strane, uočeno je veliki broj korelacija između

poreme aja raspoloženja i postignu a na neuropsihološkim testovima kod bolesnika sa aMD1 (Tabela 15).

Tabela 15. Korelacija skorova na HamD i HamA skali sa rezultatima na neuropsihološkim testovima kod bolesnika sa aMD1

Neuropsihološki test	Korelacija sa HamD ()	Korelacija sa HamA ()
Addenbrooke's	-0,48 **	-0,46 **
Addenbrooke's – pam enje	-0,35 *	n. z.
TMT-A	+0,46 **	+0,52 **
VITI – Šifra	-0,33 *	-0,38 **
HVOT	n. z.	-0,38 *
VITI – Kocka mozaik	-0,34 *	n. z.
RAVLT – neposredno upam ivanje	-0,34 *	-0,34 *
TMT-B	+0,33 *	+0,39 *
Kategorijalna fluentnost	-0,34 *	-0,32 *
BNT	-0,32 *	-0,33 *
DMS - % ta nih odgovora odloženo	-0,46 **	-0,37 *
DMS - % ta nih odgovora simultano	+0,41 **	n. z.
DMS – <i>prob error given error</i>	-0,33 *	n. z.
PAL – prilago eni broj grešaka	+0,44 **	+0,41 **
PAL - prilago eni broj grešaka (6)	+ 0,46 **	+0,50 **
PRM - % ta nih odgovora	-0,39 *	-0,38 *
SOC – naknadno mišljenje	+0,39 *	n. z.
SSP – najduži niz	-0,32 *	n. z.

- Spearmanov koeficijent korelacije; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, n.z – nije zna ajno

4.5.2. Poreme aji li nosti

Grupa od 62 bolesnika koji su uspešno popunili MMCI se nije razlikovala ni po jednom sociodemografskom i klini kom parametru u odnosu na primarnu grupu od 66 bolesnika ($p > 0,05$).

Klinički značajski skalirani skor na bar jednoj skali MMCI uočen je kod 47 (75,8 %) obolelih od MD1. Nakon kliničkog intervjua, 36 (58,1 %) bolesnika je imalo značajne poremećaje ličnosti. Prosečan broj skala sa patološkim skorom kod pojedinačnih bolesnika bio je $2,0 \pm 1,8$. Jedna skala je bila patološka kod 16 (24,2 %) bolesnika, dve kod 11 (17,7 %), tri kod 8 (12,9 %), četiri kod 5 (8,1 %), a pet ili više kod 7 (11,3 %) obolelih. Srednje vrednosti na skalama tipova ličnosti na MMCI prikazane su u Tabeli 16.

Tabela 16. Skorovi na skalama tipova ličnosti prema MMCI (n=62)

Tip ličnosti	Skor ($\bar{x} \pm SD$)
Antisocijalni	65.9 ± 21.7
Izbegavajući	61.0 ± 26.0
Zavisni	80.0 ± 23.7
Histrionični	63.4 ± 21.4
Narcisoidni	68.3 ± 18.1
Agresivni	64.6 ± 16.7
Kompulsivni	57.1 ± 15.9
Negativistički	62.8 ± 28.2
Shizotipični	59.5 ± 12.5
Granični	62.9 ± 19.4
Paranoidni	81.8 ± 17.3

rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost ± standardna devijacija)

Najzastupljeniji tipovi ličnosti u našoj grupi bolesnika sa MD1 su bili zavisni na čemu je kod 32 (51,6 %) ispitanika i paranoidni koji je uočen kod 24 (38,7 %) ispitanika (Grafikon 5). Zavisni poremećaji ličnosti bez paranoidnog registrovan je kod 29,0 % bolesnika, paranoidni bez zavisnog kod 16,1 %, oba poremećaja kod 22,6 %, a nijedan od ova dva poremećaja kod 32,2 % bolesnika sa MD1.

Prisustvo bar jednog kliničkog sindroma sa patološkim skorom na čemu je kod 41 (66,1 %) bolesnika. Prosečan broj skala sa patološkim skorom kod pojedinačnih bolesnika bio je $1,8 \pm 1,9$. Jedna skala je bila patološka kod 16 (25,8 %) obolelih, dve kod 6 (9,7 %), tri kod 7 (11,3 %), četiri kod 5 (8,1 %) i pet ili više kod 7 (10,2 %) bolesnika. Srednje vrednosti na skalama koje

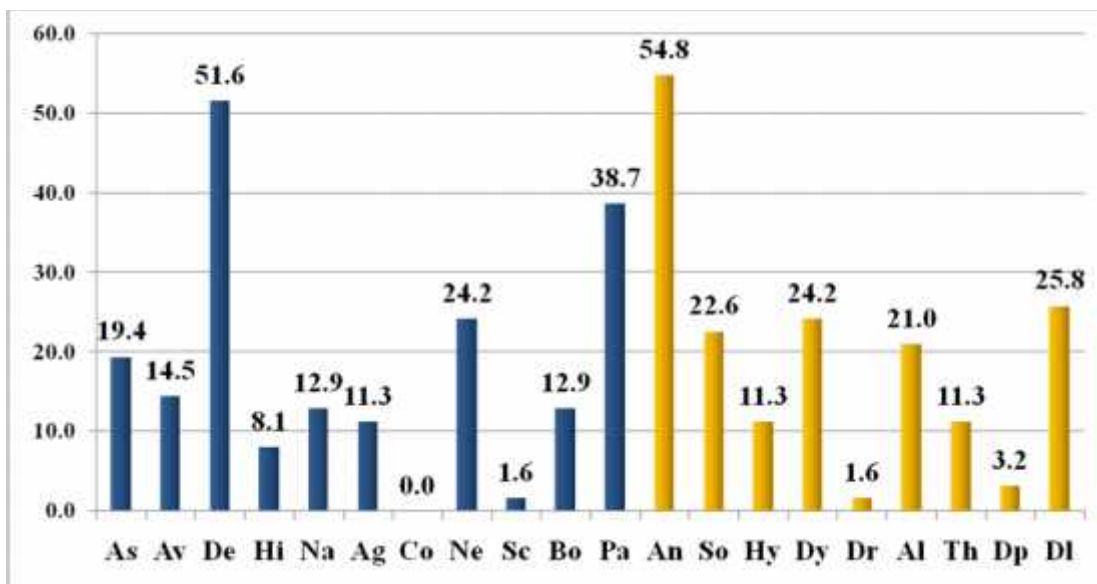
mere kliničke sindrome prikazane su u Tabeli 17. Najčešći klinički sindrom u našoj kohorti bolesnika sa MD1 bila je anksioznost registrirana u 34 (54,8 %) bolesnika (Grafikon 5).

Tabela 17. Skorovi na skalama kliničkih sindroma prema MMCI (n=62)

Skale	Skor ($\bar{x} \pm SD$)
Anksioznost	82.6 ± 24.9
Somatizacija	73.8 ± 17.9
Hipohondrija	60.0 ± 26.5
Distimija	65.5 ± 29.6
Zloupotreba supstanci	61.3 ± 17.6
Zloupotreba alkohola	73.1 ± 17.1
Psihotično mišljenje	68.2 ± 15.3
Psihotična depresija	57.9 ± 13.8
Psihotične deluzije	73.6 ± 17.7

rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost ± standardna devijacija)

Grafikon 5. Uestalost poremećaja ličnosti i kliničkih sindroma prema MMCI kod bolesnika sa MD1 (n=62)



u estalost patoloških skorova prikazana je kao % od ukupnog broja bolesnika

Zastupljenost pojedinih tipova li nosti se nije razlikovala kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$). Analiziraju i kliničke sindrome, uočena je veća uestalost distimije i psihotičnog mišljenja kod bolesnika sa aMD1 (56,8 % prema 22,2 %, $p<0,05$ za distimiju; 27,3 % prema 0,0 % za psihotično mišljenje, $p<0,05$).

S obzirom da su se najčešći i tipovi li nosti (zavisni i paranoidni) javljali sa podjednaku u estalošću kod bolesnika sa jMD1 i aMD1, kao i da su skorovi na ove dve skale bili slični kod obe forme bolesti, dalja statistička analiza je vršena na celokupnoj kohorti bolesnika. Ispitivana je povezanost sociodemografskih, kliničkih i genetskih faktora sa skorovima na skalama za zavisni i paranoidni poremećaj li nosti. Pored toga, analizirana je i korelacija postignuta na RSPM testu sa ovim skorovima.

Viši skor na skali kojom se meri zavisni poremećaj li nosti korelisao je sa lošijim obrazovanjem ($r=-0,251$; $p<0,05$). Pored toga, ovaj skor je zavisio i od zanimanja bolesnika, ta nije bio je značajno viši kod fizičkih radnika u odnosu na one koji su se bavili intelektualnim poslom ($93,1 \pm 8,9$ u odnosu na $66,9 \pm 31,7$; $p<0,05$).

Viši skor na skali koja meri paranoidni poremećaj li nosti bio je povezan sa lošijim obrazovanjem bolesnika ($r=-0,29$; $p<0,05$), lošijim postignučenom na RSPM testu ($r=-0,40$; $p<0,01$) i većim brojem CTG ponovaka ($r=+0,25$; $p<0,05$).

4.6. Pospanost, zamor i sindrom nemirnih nogu

Rezultati na FSS, ESS i DSS upitnicima prikazani su u Tabeli 18.

Prema ESS, prekomernu dnevnu pospanost imalo je samo 17,2 % obolelih, dok je taj procenat bio znatno veći kada se merilo skalom specifičnom za bolest (43,9 %). U estalošću i stepen pospanosti se nisu razlikovali kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p>0,05$).

Skor na FSS bio je niži kod bolesnika sa jMD1 u odnosu na bolesnike sa aMD1 ($28,4 \pm 14,2$ prema $37,3 \pm 14,1$; $p<0,01$). Rezultat na FSS iznad granične vrednosti za značajan zamor imalo je 22,7 % bolesnika sa jMD1 i 63,6 % bolesnika sa aMD1 ($p<0,05$).

Tabela 18. Rezultati na FSS, ESS i DSS kod bolesnika sa MD1 (n=66)

Skala	jMD1 + aMD1 (n=66)		jMD1 (n=22)		aMD1 (n=44)	
	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%
FSS ** #	34,3 ± 14,7	51,6	28,4 ± 14,2	22,7	37,3 ± 14,1	63,6
ESS	6,3 ± 3,7	17,2	6,2 ± 3,8	22,7	6,3 ± 3,8	13,6
DSS	6,6 ± 3,3	43,9	6,4 ± 3,4	40,9	6,7 ± 3,3	45,4

rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost ± standardna devijacija) i kao procenat bolesnika sa patološkim rezultatom; ** $p < 0,01$ kada se poredi procenat bolesnika sa jMD1 i aMD1 koji su imali patološki rezultat (χ^2 test), # $p < 0,05$ kada se poredi skorovi na odgovarajućem testu kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 (Mann-Whitneyev U-test)

Ako se uzmu u obzir rezultati na DSS i FSS, uoči se da 39 % bolesnika sa MD1 nema ni pospanost ni zamor, 12 % ima samo pospanost, 17 % ima samo zamor, a 32 % i pospanost i zamor (Grafikon 6).

Sindrom nemirnih nogu pronađen je kod 6,6 % naših MD1 bolesnika.

Grafikon 6. Zastupljenost pospanosti i zamora kod MD1 bolesnika (n=66)



pospanost i zamor su mereni pomoću DSS i FSS upitnika; rezultati su prikazani kao procenat bolesnika sa određenim poremećajem

Me u sociodemografskim i kliničkim parametrima, kod bolesnika sa jMD1 samo je bra ni status imao uticaja na stepen prekomerne dnevne pospanosti meren pomo u DSS ($p < 0,05$). Naime, skor na ovoj skali kod oženjenih/udatih bio je $8,7 \pm 2,4$, kod samaca $4,9 \pm 2,0$, a kod razvedenih $9,3 \pm 5,7$. *Post hoc* analiza pokazala je značajno veći skor kod bolesnika koji su bili u braku u odnosu na one koji nikada nisu bili u braku ($p < 0,05$). Broj CTG ponovaka nije bio povezan sa prekomernom dnevnom pospanošću ($p > 0,05$). Nije uočena korelacija prekomerne dnevne pospanosti prema DSS sa stepenom anksioznosti i depresivnosti ($p > 0,05$). Načeno je nekoliko korelacija DSS skora sa neuropsihološkim testiranjem, i to sa procentom ta nih odgovora na MTS ($r = -0,481$; $p < 0,05$), procentom ta nih odgovora odloženo na DMS ($r = -0,502$; $p < 0,05$) i brojem prilagođenih grešaka na PAL testu u zadatku sa šest figura ($r = +0,487$; $p < 0,05$).

Kod bolesnika sa jMD1 nije uočena povezanost stepena zamora sa sociodemografskim i kliničkim podacima, brojem CTG ponovaka i stepenom depresivnosti i anksioznosti ($p > 0,05$). Posmatrajući i neuropsihološke nalaze, načeno je samo korelacija skora na FSS sa procentom ta nih odgovora na PRM testu ($r = +0,51$; $p < 0,05$).

Stepen prekomerne dnevne pospanosti kod bolesnika sa aMD1 korelisao je samo sa trajanjem inicijalnog mišljenja na SOC testu ($r = -0,36$; $p < 0,05$). Nisu uočene korelacije pospanosti sa sociodemografskim, kliničkim i genetskim podacima, kao ni sa depresivnošću i anksioznošću ($p > 0,05$).

Stepen zamora kod bolesnika sa aMD1 nije bio povezan ni sa jednim sociodemografskim i kliničkim parametrom, kao ni sa brojem CTG ponovaka ($p > 0,05$). S druge strane, uočena je značajna korelacija zamora sa nekoliko neuropsiholoških nalaza, uključujući i ukupan skor na Addenbrookeovom testu ($r = -0,47$; $p > 0,01$), pažnju i pamćenje na istom testu ($r = -0,50$; $p < 0,01$ i $r = -0,44$; $p < 0,01$), skor na testovima *Šifra* i *Kocka mozaik* iz VITI baterije ($r = -0,35$; $p < 0,05$ i $r = -0,33$; $p < 0,05$), kao i procenat ta nih odgovora na PRM testu ($r = -0,34$; $p < 0,05$).

4.7. Nalazi na MR mozga

Osnovne sociodemografske i kliničke karakteristike bolesnika sa MD1 i zdravih ispitanika koji su uključeni u analizu nalaza na MR date su u Tabeli 19.

Celokupna kohorta bolesnika bila je dobro uparena po polu i starosti sa zdravim kontrolama ($p > 0,05$).

Me u bolesnicima sa jMD1 bilo je znatno više muškaraca nego u kontrolnoj grupi (64,7% prema 44,7 %; $p < 0,05$). Tako e, bolesnici sa jMD1 su bili mla i od kontrolne grupe ($34,4 \pm 8,7$ godina u odnosu na $45,0 \pm 10,0$ godina; $p < 0,01$).

Bolesnici sa jMD1 i aMD1 se nisu razlikovali po trajanju bolesti, obrazovanju, težini bolesti i broju CTG ponovaka ($p > 0,05$). S druge strane, kod bolesnika sa jMD1 bolest je po injala znatno ranije nego kod obolelih sa aMD1 ($12,7 \pm 4,5$ godina prema $27,8 \pm 6,7$ godina; $p < 0,01$). Pored toga, bolesnici sa jMD1 su bili mla i u trenutku ispitivanja ($34,4 \pm 8,7$ godina prema $45,8 \pm 9,0$ godina; $p < 0,01$).

Tabela 19. Osnovni sociodemografski i klini ki podaci bolesnika i zdravih kontrola

Ispitivane karakteristike	Zdrave kontrole (n=38)	jMD1 + aMD1 (n=51)	jMD1 (n=17)	aMD1 (n=34)
Pol (% muškaraca) # †	44,7	51,0	64,7	44,1
Po etak bolesti ($\bar{x} \pm SD$, godine) **	-	$22,8 \pm 9,4$	$12,7 \pm 4,5$	$27,8 \pm 6,7$
Trajanje bolesti ($\bar{x} \pm SD$, godine)	-	$19,2 \pm 8,6$	$21,7 \pm 9,7$	$17,9 \pm 7,8$
Starost ($\bar{x} \pm SD$, godine) ** ‡‡	$45,0 \pm 10,0$	$42,0 \pm 10,4$	$34,4 \pm 8,7$	$45,8 \pm 9,0$
Obrazovanje ($\bar{x} \pm SD$, godine)	-	$10,8 \pm 1,8$	$11,0 \pm 1,1$	$10,6 \pm 2,1$
MIRS (%)	-			
II		13,7	17,6	11,8
III		47,1	58,8	41,2
IV		35,3	23,5	41,2
V		3,9	0,0	5,8
Broj CTG ponovaka ($\bar{x} \pm SD$)	-	$750,2 \pm 279,1$	$776,8 \pm 352,0$	$737,0 \pm 239,6$

\bar{x} - srednja vrednost, SD – standardna devijacija; prikazan je srednji broj CTG ponovaka na svim alelima; # $p < 0,05$ kada se porede grupa zdravih i jMD1 (χ^2 test), † $p < 0,05$ kada se porede grupe jMD1 i aMD1; ‡‡ $p < 0,01$ kada se porede grupa zdravih i jMD1 (Mann-Whitheyev U test), ** $p < 0,01$ kada se porede grupe jMD1 i aMD1 (Mann-Whitheyev U test)

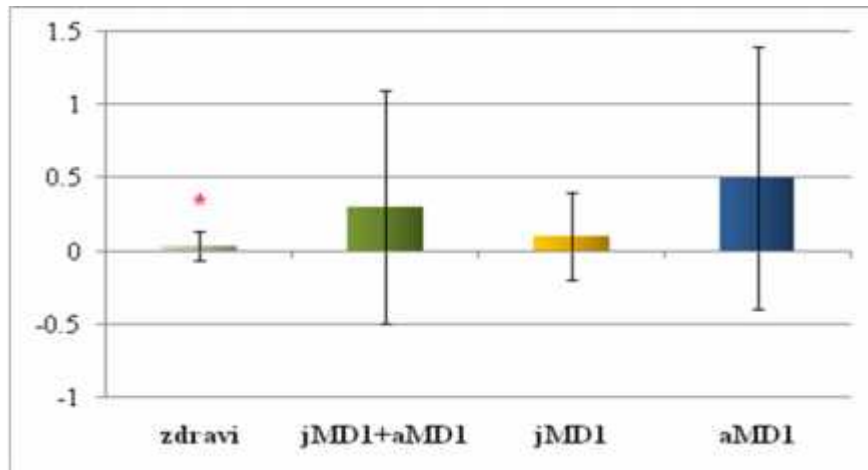
4.7.1. Optere enje hiperintenznim lezijama bele mase (HLBM)

Optere enje HLBM iznosilo je $0,04 \pm 0,10$ u grupi zdravih ispitanika i bilo je zna ajno manje nego u grupi svih bolesnika sa MD1 ($0,3 \pm 0,8$; $p < 0,01$), grupi bolesnika sa jMD1 ($0,1 \pm 0,3$; $p < 0,01$) i grupi bolesnika sa aMD1 ($0,5 \pm 0,9$; $p < 0,01$) (Grafikon 7).

Iako je prose no optere enje HLBM bilo ve e u grupi bolesnika sa aMD1 nego u kohorti sa jMD1, nije dostignuta statisti ka zna ajnost za ovu razliku ($0,1 \pm 0,3$ u pore enju sa $0,5 \pm 0,9$; $p > 0,05$).

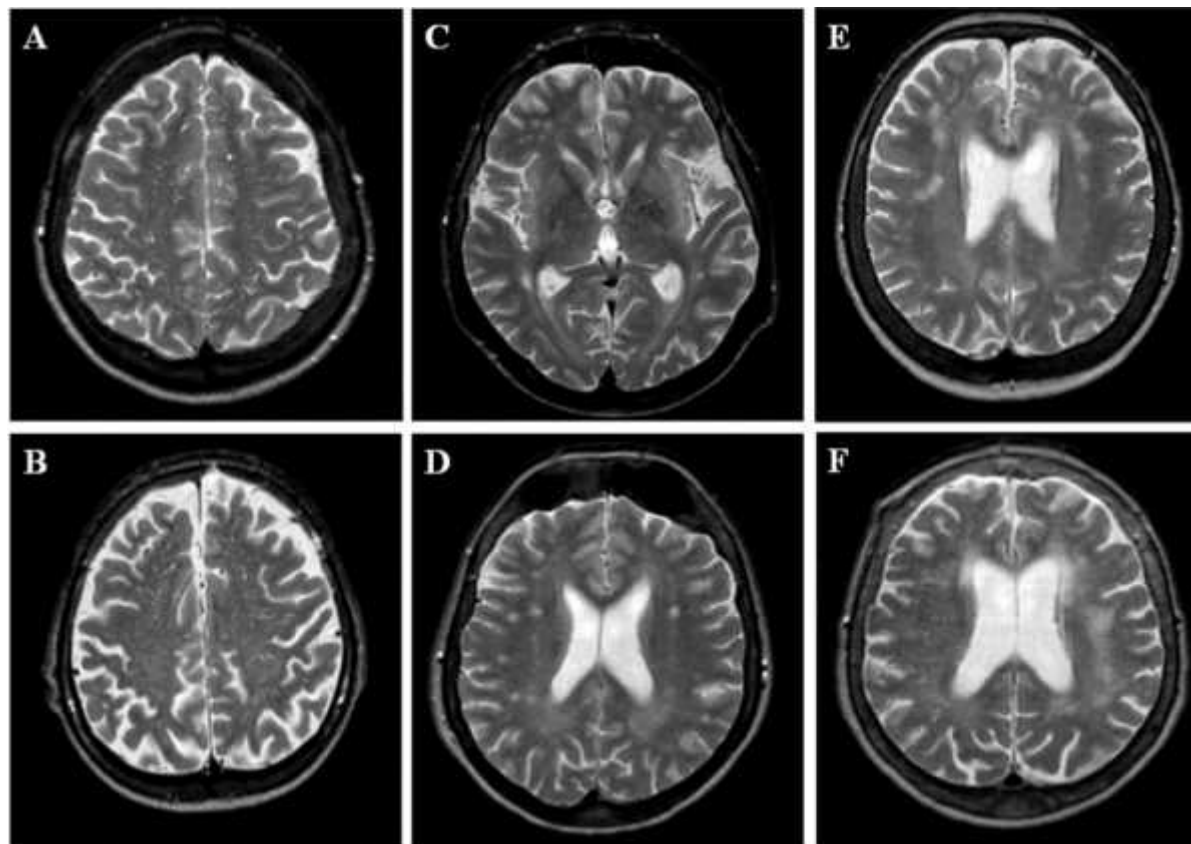
Naj eš e i najizraženije promene u beloj masi kod naših bolesnika sa MD1 registrovane su u frontalnom, parijetalnom i okcipitalnom režnju, kao i u infratentorijalnim oblastima (Slika 12, Slika 13).

Grafikon 7. Optere enje hiperintenznim lezijama bele mase kod zdravih ispitanika (n=38) i MD1 bolesnika (n=51)



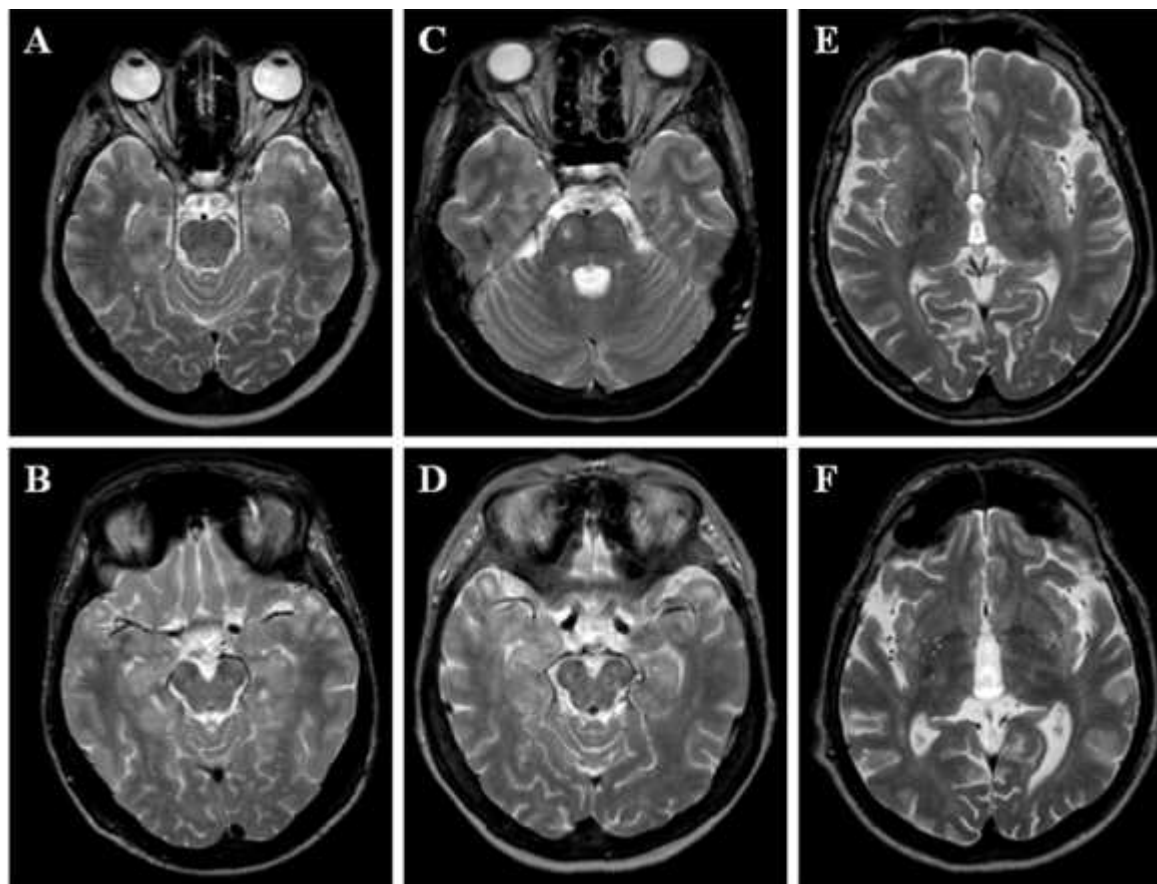
rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija; * $p < 0,01$ kada se poredi optere enje HLBM kod zdravih ispitanika sa optere enjem kod svih bolesnika sa MD1 (jMD1+aMD1), kod bolesnika sa juvenilnom formom MD1 (jMD1) i bolesnika sa adultnom formom MD1 (aMD1)

Slika 12. Primeri snimaka na DE SE sekvenci MR na kojima su vidljive hiperintenzne lezije bele mase u frontalnom i parijetalnom regionu kod ispitivanih bolesnika sa MD1



bolesnica stara 28 godina (A) i bolesnik star 54 godine (B) sa ta kastim HLBM u frontalnom i parijetalnom režnju; bolesnik star 44 godine (C) sa velikim pojedina nim HLBM frontalno; bolesnica stara 44 godine (D) sa velikim pojedina nim i delimi no slivenim HLBM u frontalnom i parijetalnom režnju; bolesnica stara 44 godine (E) i bolesnica stara 59 godina (F) sa slivenim HLBM frontalno i parijetalno

Slika 13. Primeri snimaka na DE SE sekvenci MR na kojima su vidljive hiperintenzne lezije bele mase u okcipitalnom, temporalnom i insularnom režnju, u bazalnim ganglijama i infratentorijalno kod ispitivanih bolesnika sa MD1



bolesnica stara 46 godina (A) sa ta kastim HLBM u temporalnom i okcipitalnom režnju; bolesnik star 39 godina (B) sa ta kastim HLBM u okcipitalnom režnju i infratentorijalno; bolesnica stara 39 godina (C) i bolesnica stara 44 godine (D) sa HLBM infratentorijalno; bolesnik star 49 godina (E) i bolesnik star 54 godine (F) sa ta kastim HLBM insularno i u bazalnim ganglijama

4.7.2. Morfometrija zasnovana na vokselu (VBM)

VBM je pokazala značajnu atrofiju sive mase (SM) kod bolesnika sa MD1 u poređenju sa zdravim kontrolama. Smanjenje volumena SM zapaženo je u skoro svim delovima centralnog nervnog sistema, uključujući i korteks, cerebelum i supkortikalne strukture poput bazalnih ganglija i talamusa (Slika 14).

Obrazac atrofije kod bolesnika sa aMD1 u poređenju sa kontrolama odlikavao je nalaz itave grupe bolesnika (Slika 15). Smanjenje zapremine sive mase kod bolesnika sa jMD1 registrovano je u istim regijama kao kod bolesnika sa aMD1, ali je raširenost atrofije u odnosu na zdrave ispitanike bila manja kod bolesnika sa jMD1 (Slika 15). Statistička analiza nije pokazala značajne razlike u zapremini pojedinih delova mozga kada se direktno porede grupe bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p > 0,05$).

4.7.3. Difuzioni tenzorski imidžing (DTI)

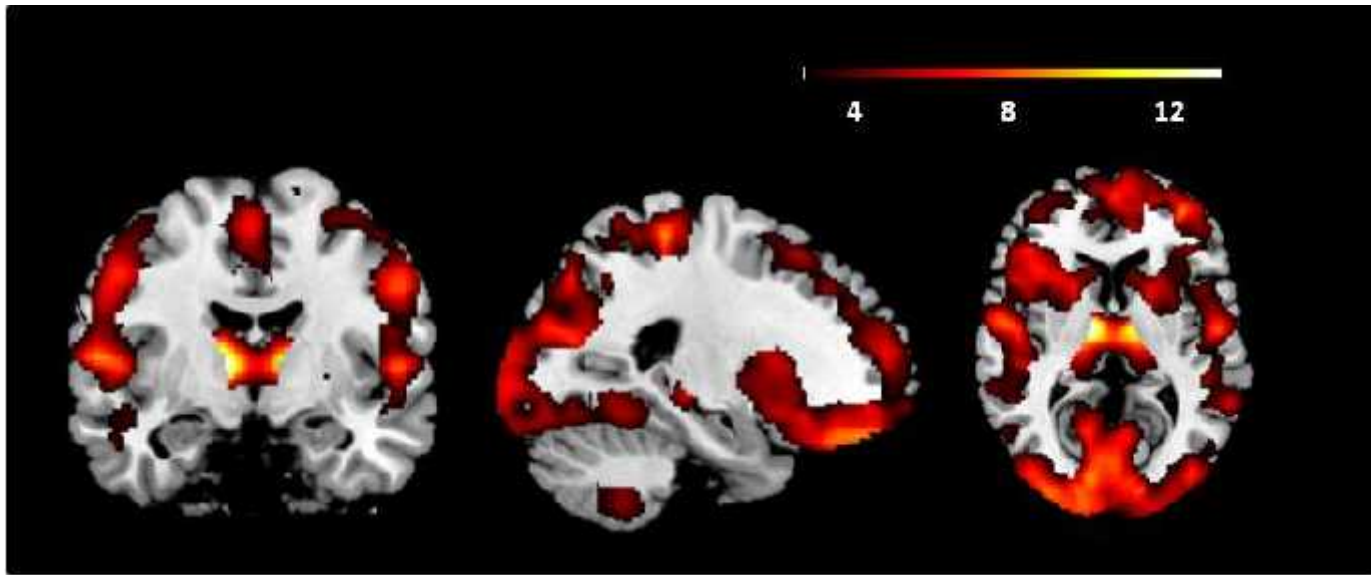
U DTI analizu je bilo uključeno 49 MD1 bolesnika, koji se po sociodemografskim i kliničkim karakteristikama nisu razlikovali od primarne grupe sastavljene od 66 bolesnika.

Kod bolesnika sa MD1 registrovano je smanjenje frakcione anizotropije (FA) u većini asocijativnih puteva bele mase u poređenju sa zdravim kontrolama, uključujući i oba *fasciculus longitudinalis superiora* i *inferiora*, *fasciculus frontooccipitalis inferior*, oba *fascicula uncinatusa*, oba forniksa, cingulum i hipokampalne delove zadnjeg cinguluma (Slika 16). Redukcija FA nađena je i u svim delovima *corpus callosum*, glavnog komisuralnog puta. Pored toga, zahvaćena su bila i brojna projekciona vlakna, uključujući i *crus anterius* i *crus posterius* (naročito *pars retrolenticiformis*) obe *capsulae internae*, kao i obe *capsulae externae*. Redukcija FA opažena je i u moždanom stablu. Povećana radD i MD nađena je u gotovo istim regijama u kojima je registrovana smanjena FA.

Slični rezultati DTI analize dobijaju se kada se poređi jMD1 sa zdravim ispitanicima i aMD1 sa zdravim ispitanicima (Slika 17). Direktnim poređenjem kohorti bolesnika sa jMD1 i aMD1 nije utvrđena statistički značajna razlika ni u jednom parametru DTI ($p > 0,05$).

Statistička značajnost svih prethodno navedenih rezultata nije se menjala ni kada su u analizu uključena prilagođavanja u odnosu na opterećenje HLBM.

Slika 14. Atrofija sive mase centralnog nervog sistema kod bolesnika sa MD1 (n=51) u pore enju sa zdravim kontrolama (n=38)



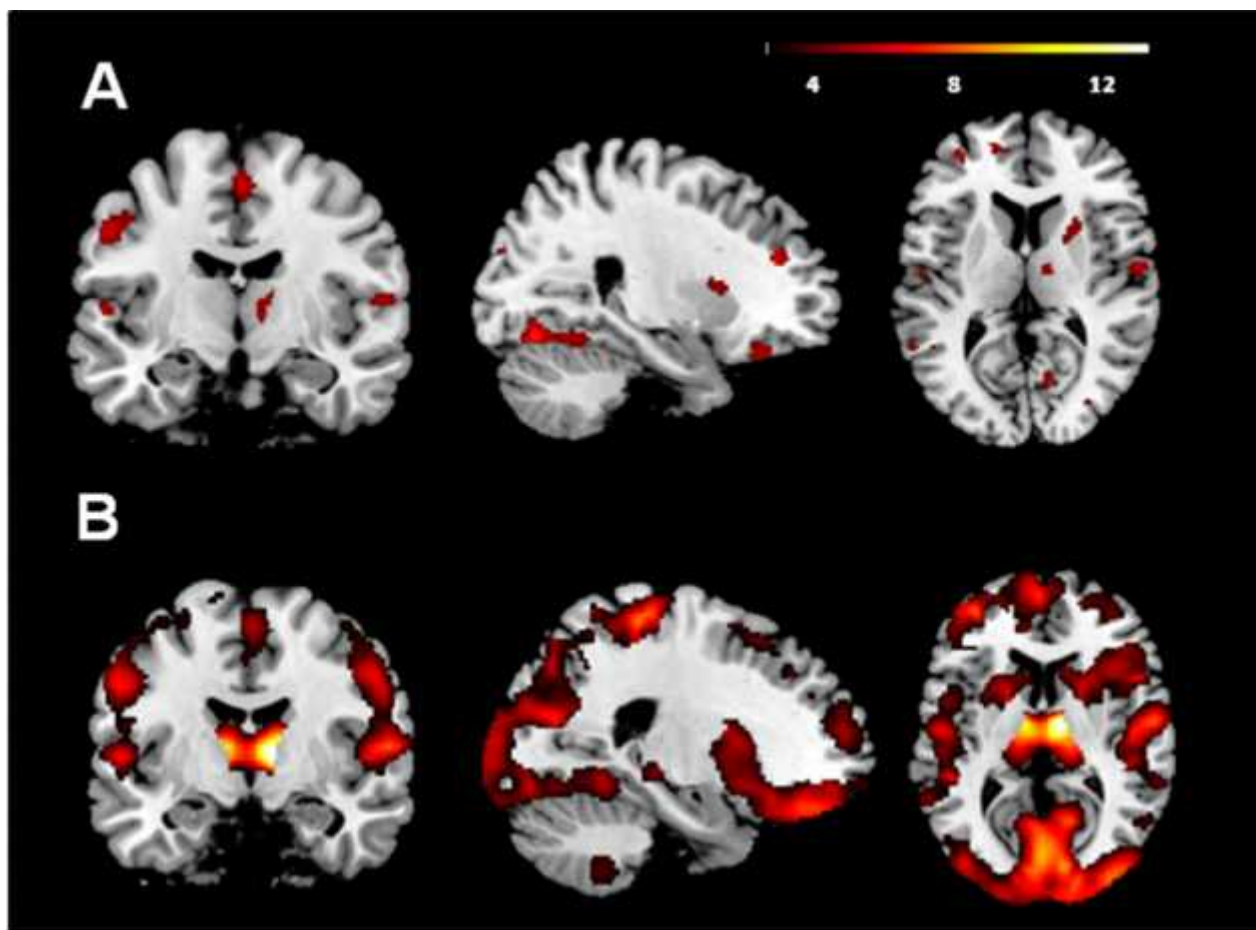
Prikazane su oblasti sa zna ajnom razlikom u zapremini sive mase kod bolesnika sa MD1 i zdravih kontrola. Rezultati su prikazani u koronarnoj, sagitalnoj i aksijalnoj ravni prema standardnom atlasu mozga Montrealskog neurološkog instituta (Montreal Neurological Institute), koriste i radiološku konvenciju da leva strana slike predstavlja desnu polovinu mozga. U analizi je primenjivan nivo zna ajnosti $p < 0,05$ korigovan za multipla pore enja pomo u familywise error statisti ke metode kako bi se izbegla greška prvog reda, odnosno lažno pozitivan rezultat.

koronarni presek – smanjenje zapremine sive mase u oba frontalna režnja, uklju uju i medijalne delove frontalnog korteksa, cingularnom girusu, desnom gornjem temporalnom girusu i oba talamusa;

sagitalni presek – smanjenje zapremine sive mase u prefrontalnom, frontalnom, parijetalnom, okcipitalnom i temporalnom korteksu, kao i u predelu bazalnih ganglija i u zadnjem režnju malog mozga;

aksijalni presek – smanjenje zapremine sive mase u frontalnom, temporalnom, okcipitalnom i insularnom korteksu, u predelu bazalnih ganglija i talamusa.

Slika 15. Atrofija sive mase centralnog nervnog sistema kod bolesnika sa jMD1 (n=17) i aMD1 (n=34) u pore enju sa zdravim kontrolama (n=38)

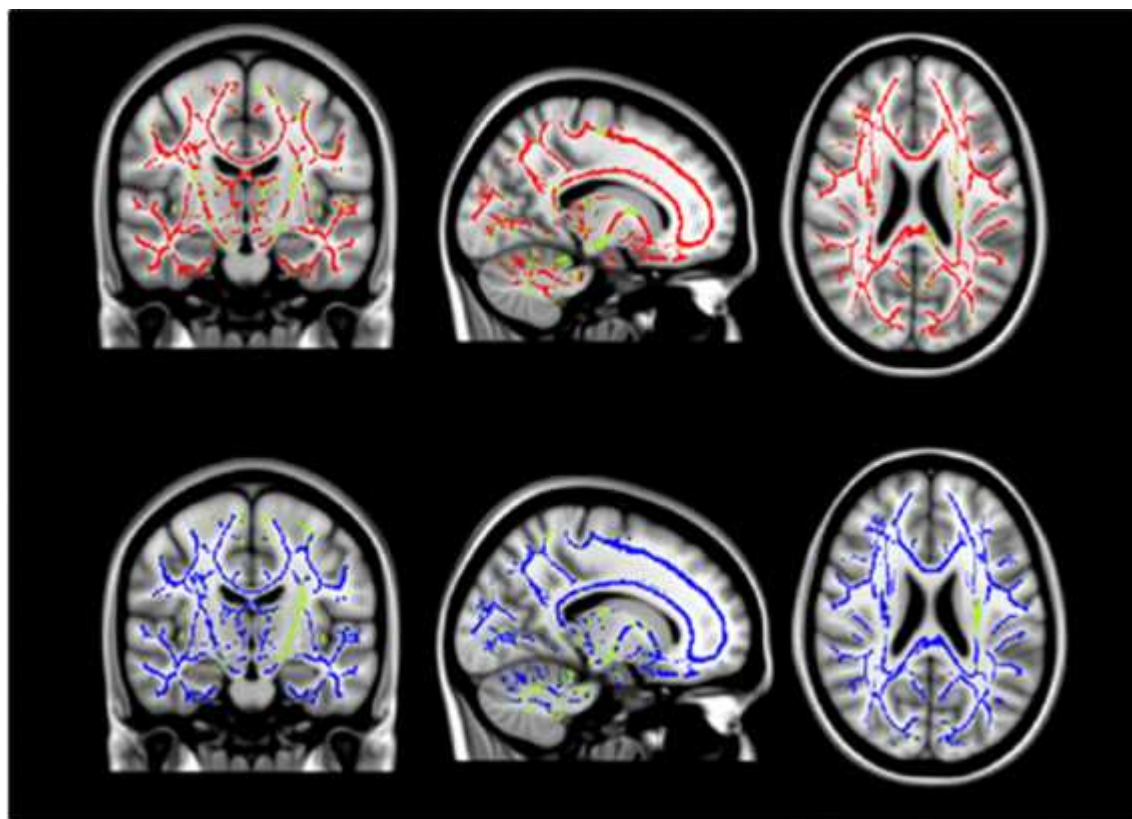


Smanjenje zapremine sive mase u pore enju sa zdravim kontrolama registrovano je u istim regijama kod bolesnika sa jMD1 (A) i bolesnika sa aMD1 (B).

Raširenost atrofije sive mase u odnosu na zdrave ispitanike bila je manja kod bolesnika sa jMD1, ali statistička analiza nije pokazala značajne razlike u zapremini pojedinih delova mozga kada se direktno porede grupe bolesnika sa jMD1 i aMD1 ($p > 0,05$).

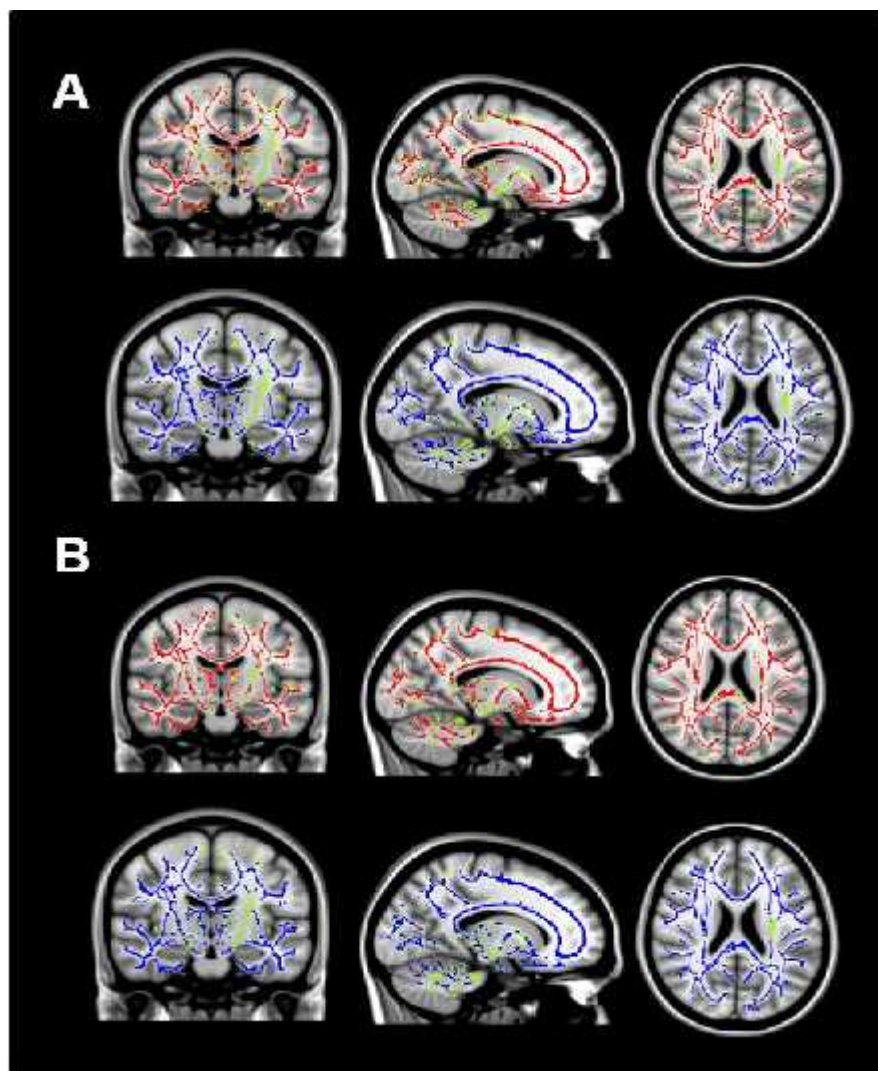
Obrazac atrofije kod bolesnika sa aMD1 u pore enju sa kontrolama odlikavao je nalaz itave grupe bolesnika prikazane na Slici 13.

Slika 16. Rezultati poređenja frakcije anizotropije (FA) i srednje difuzivnosti (MD) kod bolesnika sa MD1 (n=49) i zdravih kontrola (n=38)



Prikazane su značajne razlike u FA (crveno) i MD (plavo) između bolesnika sa MD1 i zdravih kontrola. Rezultati su transformisani u skelet bele mase (zeleno) i prikazani na koronarnim, sagitalnim i aksijalnim presecima standardnog mozga prema MNI. U analizi je primenjivan nivo značajnosti $p < 0,05$ korigovan za multipla poređenja (familywise error).

Slika 17. Frakciona anizotropija (FA) i srednja difuzivnost (MD) kod bolesnika sa jMD1 (n=17) i aMD1 (n=32) u pore enju sa zdravim kontrolama (n=38)



Prikazane su zna ajne razlike u FA (crveno) i MD (plavo) izme u bolesnika sa jMD1 i zdravih kontrola (A), kao i izme u bolesnika sa aMD1 i zdravih kontrola (B).

Rezultati su transformisani u skelet bele mase (zeleno) i prikazani na slici standardnog mozga prema MNI.

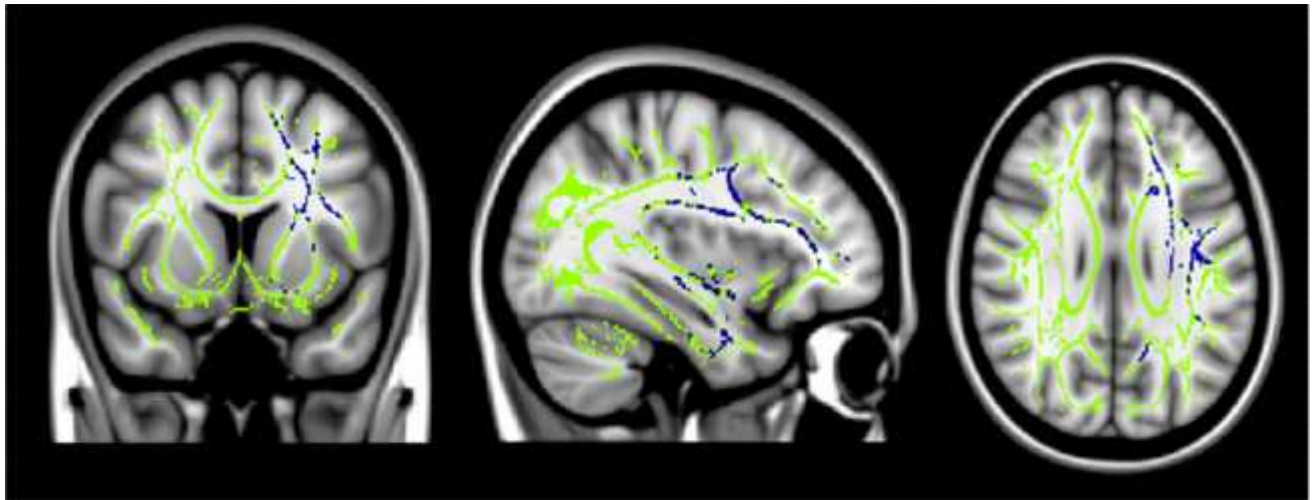
U analizi je primenjivan nivo zna ajnosti $p < 0,05$ korigovan za multipla pore enja (familywise error).

4.7.4. Povezanost nalaza na MR sa neuropsihološkim i bihevioralnim promenama

Atrofija sive mase prema VBM i oštećenje puteva bele mase prema DTI nije korelisao sa kliničkim i sociodemografskim karakteristikama bolesnika, sa brojem CTG ponovaka, psihijatrijskim nalazima, prekomernom dnevnom pospanošću i zamorom.

Pri poređenju brojnih neuropsiholoških nalaza sa rezultatima dobijenim pomoću MR, izdvojila se samo negativna korelacija postignuta na skorovima pažnje i orijentacije iz Addenbrookeovog testa sa srednjom difuzivnošću na DTI mozga (Slika 18). Lošiji rezultati na ovom testu su korelisali sa povećanom MD u predelu *coronae radiatae*, *capsulae internaee*, *fasciculusa frontooccipitalisa inferiora* i *fasciculusa longitudinalisa superiora* sa leve strane.

Slika 18. Korelacija srednje difuzivnosti (MD) sa skorom pažnje i orijentacije iz Addenbrookeovog testa kod bolesnika sa MD1



Prikazani su regioni povećane MD, koji su kod bolesnika sa MD1 u korelaciji sa smanjenim supskorom pažnje i orijentacije na Addenbrookeovom testu (plava boja).

Rezultati su transformisani u skelet bele mase (zelena boja) i prikazani na koronarnim, sagitalnim i aksijalnim presecima standardnog mozga prema MNI. U analizi je primenjivan nivo značajnosti $p < 0,05$ korigovan za multipla porećenja (familywise error).

4.8. Transkranijalna sonografija moždanog parenhima

Pet bolesnika prose ne starosti $50,4 \pm 10,9$ godina imalo je netransparentan temporalni prozor, tako da je u analizu uključen 61 bolesnik (21 sa jMD1 i 30 sa aMD1), koji se ni po jednom sociodemografskom i kliničkom parametru nije razlikovao od primarne kohorte pacijenata. Eksperimentalna grupa je bila dobro uparena sa kontrolnom grupom od 55 zdravih ispitanika po polu (52,5 % prema 47,3 % muškaraca; $p > 0,05$) i starosti ($41,2 \pm 10,3$ prema $44,4 \pm 12,1$ godina; $p > 0,05$).

Rezultati transkranijalne sonografije kod bolesnika sa MD1 i zdravih kontrola prikazani su u Tabeli 20. Na Slici 19 dati su tipični nalazi kod zdrave kontrole i dva bolesnika.

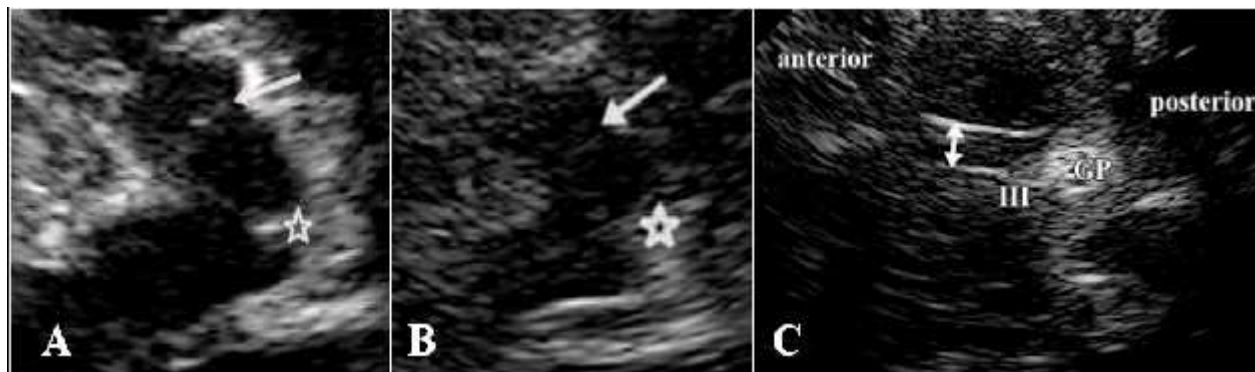
Tabela 20. Glavni nalazi transkranijalne sonografije moždanog parenhima kod bolesnika sa MD1 (n=61) i zdravih kontrola (n=55)

Nalaz	MD1	Zdravi
Hipoehogenost <i>nc. raphe</i> (%) **	37,7	7,8
Desna SN ($\bar{x} \pm SD$, cm ²)	$0,12 \pm 0,05$	$0,13 \pm 0,03$
Leva SN ($\bar{x} \pm SD$, cm ²)	$0,14 \pm 0,05$	$0,13 \pm 0,03$
SN (%) **		
hipoehogena	26,2	10,9
normalna	60,6	87,3
hiperehogena	13,1	1,8
Hiperehogenost desnog <i>nc. rubera</i> (%)	9,8	0,0
Hiperehogenost levog <i>nc. rubera</i> (%)	11,5	0,0
Hiperehogenost desnog <i>nc. lentiformisa</i> (%)	8,2	0,0
Hiperehogenost levog <i>nc. lentiformisa</i> (%)	8,2	0,0
Širina III moždane komore ($\bar{x} \pm SD$, mm) ##	$6,0 \pm 1,4$	$4,9 \pm 0,9$

\bar{x} - srednja vrednost, SD – standardna devijacija, SN – substantia nigra;

** $p < 0,01$ (χ^2 test), ## $p < 0,01$ (Studentov t test)

Slika 19. Tipi ni nalazi na transkranijalnoj sonografiji moždanog parenhima kod zdravog ispitanika i dva bolesnika sa MD1



A – substantia nigra normalne ehogenosti (strelica) i nc. raphe o uvanog kontinuiteta (zvezdica); B – hipoehogena substantia nigra (strelica) i jedva vidljiv nc. raphe (zvezdica) kod bolesnika sa MD1; C – uve ana tre a moždana komora kod bolesnika sa MD1

Hipoehogenost *nc. raphe* bila je eš a kod bolesnika sa MD1 u odnosu na zdrave kontrole (37,7 % prema 7,8 %; $p < 0,01$). Kod bolesnika sa depresivnoš u hipoehogenost ovog jedra registrovana je u 80,0 % slu ajeva, dok je kod bolesnika bez depresivnosti ona uo ena u 29,4 % ($p < 0,01$) (Tabela 21). Bolesnici sa zamorom tako e su eš e imali hipoehogenu *raphe* u odnosu na bolesnike bez zamora (51,9 % prema 24,2 %; $p < 0,05$). Ehosonografski nalaz na ovom jedru nije bio u vezi sa prisustvom prekomerne dnevne pospanosti ($p > 0,05$). Zanimljivo je da je kod dve bolesnice sa MD1 registrovana inkontinencija urina i da su obe imale hipoehogenu *raphe*, a samo jedna od njih depresivnost.

Hipoehogenost i hiperehogenost SN su bile eš e kod bolesnika sa MD1 nego u grupi zdravih ispitanika (26,2 % prema 10,9 % za hipoehogenost i 13,1 % prema 1,8 % za hiperehogenost, $p < 0,01$). Prisustvo sindroma nemirnih nogu nije bilo povezano sa hipoehogenoš u SN u našoj kohorti bolesnika. Naime, samo jedan od etiri bolesnika sa ovim sindromom imao je hipoehogenu SN, dok su tri bolesnika imala normalnu ehogenost SN. Niko od bolesnika sa niskim nivoom gvož a u serumu nije imao hiperehogenu SN, niti je iko sa visokim nivoom gvož a imao sniženu ehogenost SN.

U estalost hiperehogenosti *nc. rubera* i *nc. lentiformisa* kod bolesnika i zdravih kontrola prikazana je u Tabeli 20. Niko od bolesnika sa sindromom nemirnih nogu nije imao hiperehogenost *nc. rubera*.

Tabela 21. Povezanost hipoehogenosti *nc. raphe* sa depresivnoš u, zamorom i prekomernom dnevnom pospanoš u kod bolesnika sa MD1 (n=61)

Ispitivana karakteristika	Normalno <i>raphe</i>	Hipoehogeno <i>raphe</i>
Ham D ($\bar{x} \pm SD$) ##	9,1 \pm 5,3	13,5 \pm 7,4
Depresivnost (%) **		
odsutna	70,6	29,4
prisutna	20,0	80,0
FSS ($\bar{x} \pm SD$)	30,9 \pm 14,6	37,2 \pm 14,1
Zamor (%) *		
odsutan	75,8	24,2
prisutan	48,1	51,9
DSS ($\bar{x} \pm SD$)	6,1 \pm 3,3	6,8 \pm 3,2
Prekomerna dnevna pospanost (%)		
odsutna	67,6	32,4
prisutna	44,0	56,0

\bar{x} - srednja vrednost, SD – standardna devijacija, Ham D – Hamiltonova skala depresivnosti,

FSS – Fatigue Severity Scale, DSS – Daytime Sleepiness Scale;

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (χ^2 test), ## $p < 0,01$ (Mann-Whitneyev U test)

Nalazi na transkranijalnoj sonografiji se nisu razlikovali kod bolesnika sa jMD1 i aMD1. Uo ena je korelacija ovih nalaza sa nekoliko sociodemografskih i klini kih karakteristika ispitivanih bolesnika.

Hipoehogenost *nc. raphe* bila je eš a kod žena nego kod muškaraca (51,7 % prema 25,0%; $p < 0,05$). Me utim, i depresivnost je bila eš a kod žena, mada ova razlika nije dostigla statisti ku zna ajnost (20,7 % prema 12,5 %; $p > 0,05$).

Trajanje bolesti iznosilo je $14,6 \pm 7,2$ godine kod bolesnika sa hipoehogenoš u SN, $21,8 \pm 8,1$ kod bolesnika sa normalnom ehogenoš u SN i $13,9 \pm 9,2$ godine kod bolesnika sa hiperehogenom SN. Bolest je duže trajala kod bolesnika sa normalnom ehogenoš u SN nego kod preostale dve grupe ($p < 0,05$).

Širina tre e moždane komore korelisala je sa staroš u bolesnika ($r = +0,292$, $p < 0,05$).

Nisu uo ene korelacije nalaza transkranijalne sonografije sa težinom bolesti, niti sa dužinom CTG niza.

4.9. Nivo biomarkera neurodegeneracije u likvoru

Grupa od 74 bolesnika kod kojih su analizirani nivoi biomarkera u cerebrospinalnoj te nosti nije se razlikovala od primarne grupe bolesnika po sociodemografskim i klini kim karakteristikama.

Osnovni podaci o bolesnicima i zdravim kontrolama sadržani su u Tabeli 22. Zdravi ispitanici, bolesnici sa jMD1 i bolesnici sa aMD1 nisu se razlikovali po polu i obrazovanju ($p>0,05$). Bolesnici sa jMD1 su bili zna ajno mla i u odnosu na preostale dve grupe ($p<0,01$). Dve grupe bolesnika su bile dobro uparene po trajanju i težini bolesti ($p>0,05$).

Tabela 22. Sociodemografske i klini ke karakteristike bolesnika sa MD1 (n=74) i zdravih kontrola (n=26)

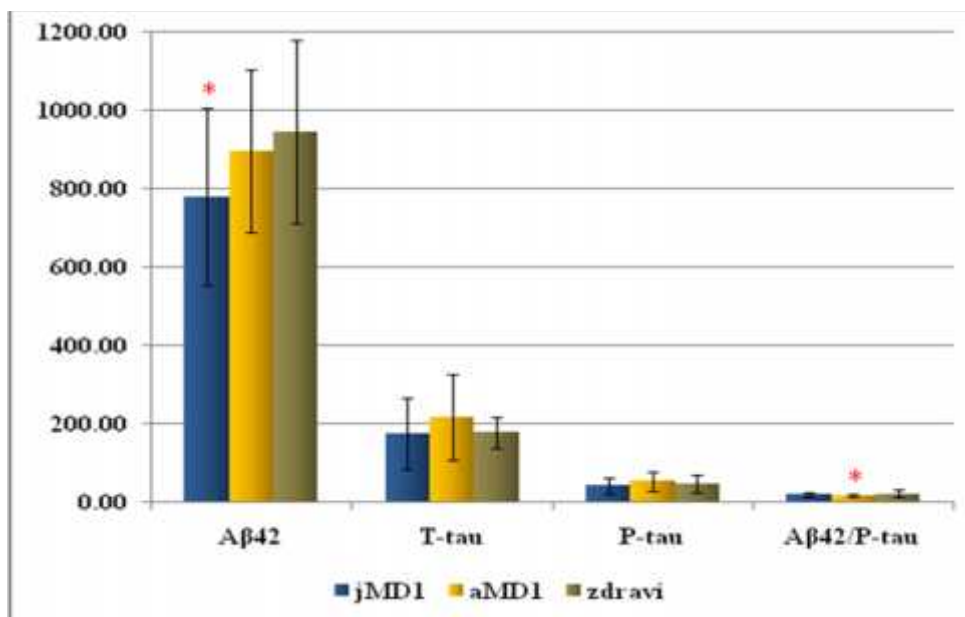
Ispitivane karakteristike	Zdrave kontrole (n=26)	jMD1 (n=27)	aMD1 (n=47)
Pol (% muškaraca)	38,0	63,0	42,6
Po etak bolesti ($\bar{x} \pm SD$, godine) ^{##}	-	13,7 \pm 4,5	29,5 \pm 7,5
Trajanje bolesti ($\bar{x} \pm SD$, godine)	-	21,2 \pm 11,2	17,0 \pm 7,8
Starost ($\bar{x} \pm SD$, godine) ^{**}	50,9 \pm 8,3	35,0 \pm 9,1	46,7 \pm 7,6
Obrazovanje ($\bar{x} \pm SD$, godine)	11,8 \pm 2,0	10,4 \pm 2,3	10,6 \pm 2,5
MIRS (%)	-		
II		11,2	6,4
III		55,6	55,3
IV		29,6	31,9
V		3,7	6,4
Broj CTG ponovaka ($\bar{x} \pm SD$) [#]	-	859,2 \pm 311,8	703,2 \pm 248,0

\bar{x} - srednja vrednost, SD – standardna devijacija; prikazan je srednji broj CTG ponovaka na svim alelima; [#] $p<0,05$ i ^{##} $p<0,01$ (Studentov t test), ^{**} $p<0,01$ kada se poredi grupa bolesnika sa jMD1 u odnosu na ostale dve grupe (ANOVA sa Bonferronijevom korekcijom)

Nalazi nivoa biomarkera neurodegeneracije u likvoru prikazani su na Grafikonu 8. Koncentracija A₄₂ bila je najniža kod bolesnika sa jMD1, nešto viša kod bolesnika sa aMD1, a najviša u kontrolnoj grupi (781,3 ± 226,4 ng/l, 897,6 ± 207,8 ng/l i 947,3 ± 233,8 ng/l; p<0,05). Nije bilo značajne razlike u nivou T-tau i P-tau, kao ni u odnosu A₄₂/P-tau među ispitivanim grupama, ali su uočene određene tendencije. Nivo T-tau i P-tau bio je viši u grupi bolesnika sa aMD1 nego kod bolesnika sa jMD1 i zdravih kontrola (T-tau: 218,4 ± 108,2 ng/l, 175,5 ± 90,2 ng/l i 178,9 ± 38,6 ng/l, p=0,156; P-tau: 54,6 ± 23,4 ng/l, 43,1 ± 21,0 ng/l i 47,8 ± 23,7 ng/l, p=0,057). Odnos A₄₂/P-tau bio je niži kod bolesnika sa aMD1 u poređenju sa jMD1 i zdravim kontrolama (18,2 ± 5,3, 20,2 ± 6,2 i 23,2 ± 9,2; p=0,034).

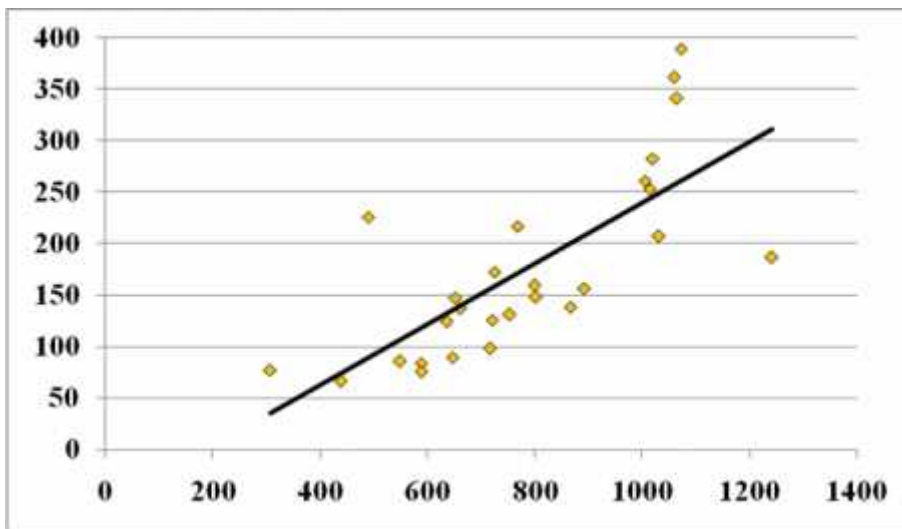
I kod bolesnika sa jMD1 i kod bolesnika sa aMD1 uočene su značajne korelacije između A₄₂ i T-tau (r=+0,81 za jMD1, r=+0,67 za aMD1; p<0,01) (Grafikon 9 i Grafikon 10), između A₄₂ i P-tau (r=+0,87 za jMD1, r=+0,67; p<0,01), kao i između T-tau i P-tau (r=+0,97 i r=+0,96; p<0,01).

Grafikon 8. Nivoi biomarkera neurodegeneracije u likvoru kod bolesnika sa jMD1 (n=27), bolesnika sa aMD1 (n=47) i zdravih kontrola (n=26)



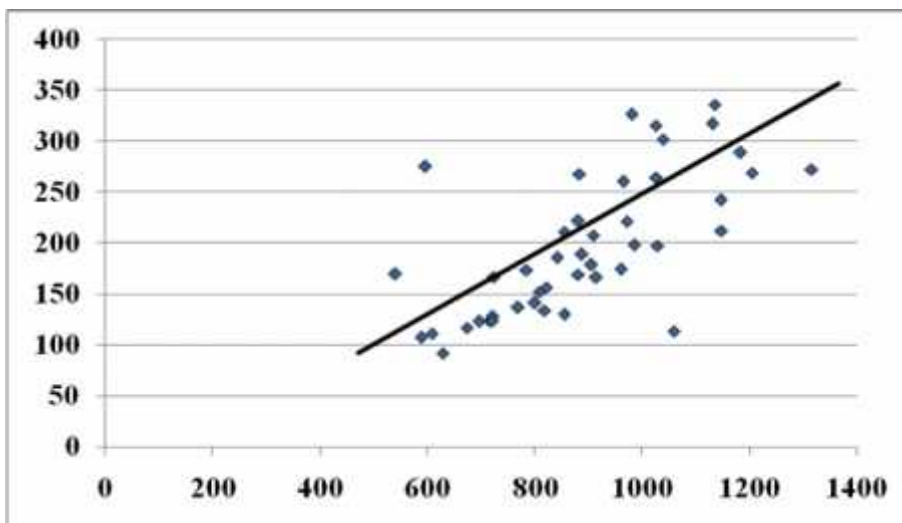
nivoi ispitivanih biomarkera (A₄₂, T-tau i P-tau) prikazani su kao srednja vrednost ± standardna devijacija u ng/l; * p<0,05 (ANOVA)

Grafikon 9. Korelacija između u nivoa A 42 i T-tau kod bolesnika sa jMD1 (n=27)



A 42 (ng/L) je prikazan na x-osi, a T-tau (ng/L) na y-osi;
Spearmanov koeficijent korelacije (ρ) iznosio je +0,81, $p < 0,01$

Grafikon 10. Korelacija između u nivoa A 42 i T-tau kod bolesnika sa aMD1 (n=47)



A 42 (ng/L) je prikazan na x-osi, a T-tau (ng/L) na y-osi;
Spearmanov koeficijent korelacije (ρ) iznosio je +0,67, $p < 0,01$

Nivoi ispitivanih biomarkera nisu korelirali sa sociodemografskim i kliničkim karakteristikama bolesnika sa MD1 ($p > 0,05$), osim što je uočeno smanjenje odnosa A 42/P-tau sa starošću ($\rho = -0,30$; $p < 0,05$). Kada se analizira povezanost dužine CTG niza u DMPK genu sa

nivoima biomarkera, uo av a se samo smanjenje nivoa A 42 sa pove anjem prose nog broja CTG ponovaka kod bolesnika sa jMD1 ($r = -0,53$; $p < 0,05$).

Tabela 23. Rezultati neuropsiholoških i bihevioralnih testova u grupi bolesnika sa MD1 kod kojih su odre ivani nivoi biomarkera u likvoru (n=74)

Neuropsihološki test	Bolesnici sa jMD1 (n=27)		Bolesnici sa aMD1 (n=47)	
	$\bar{x} \pm SD$	%	$\bar{x} \pm SD$	%
VITI - <i>Sli nosti</i>	8,9 ± 2,9	11,1	7,5 ± 2,2	21,3
VITI - <i>Aritmetika</i>	5,9 ± 2,5	55,6	7,1 ± 2,8	34,0
VITI - <i>Kocka mozaik</i>	5,4 ± 2,3	48,1	5,7 ± 2,5	42,6
VITI - <i>Šifra</i>	6,7 ± 1,6	11,1	6,8 ± 2,1	27,7
VITI - <i>Brojevi</i>	8,0 ± 3,5	18,5	7,4 ± 2,2	10,6
RAVLT - upam ivanje	45,6 ± 7,9	14,8	46,4 ± 8,6	21,3
RAVLT - prepoznavanje	12,1 ± 2,5	55,6	12,3 ± 2,7	46,8
RCFT - kopiranje	23,0 ± 6,2	70,4	23,8 ± 5,0	78,7
RCFT - prise anje	14,0 ± 5,9	51,9	12,7 ± 5,2	46,8
TMT-A	53,5 ± 22,9	37,0	57,4 ± 21,4	31,9
TMT-B	156,1 ± 101,5	44,4	156,3 ± 68,7	51,1
BNT *	50,9 ± 6,6	48,1	47,9 ± 5,3	72,3
Fonemska fluentnost *	49,1 ± 10,0	14,8	39,9 ± 16,2	12,8
Kategorijalna fluentnost	18,0 ± 6,3	22,2	19,5 ± 7,0	6,3
WCST - broj kategorija	2,3 ± 2,2	77,8	2,7 ± 2,4	66,0
WCST - perseveracije	33,5 ± 22,5	51,9	29,0 ± 21,7	55,3
HamD	10,0 ± 5,8	14,8	12,1 ± 6,8	20,9
HamA	9,5 ± 5,3	3,7	10,6 ± 5,4	12,8
FSS	34,2 ± 13,8	53,2	33,2 ± 15,4	46,8
DSS	6,2 ± 2,4	53,2	6,9 ± 3,6	46,8

*rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$ (srednja vrednost ± standardna devijacija) i kao procenat bolesnika sa patološkim rezultatom; * $p < 0,05$ kada se porede skorovi na odgovaraju em testu (Mann-Whitneyev U-test)*

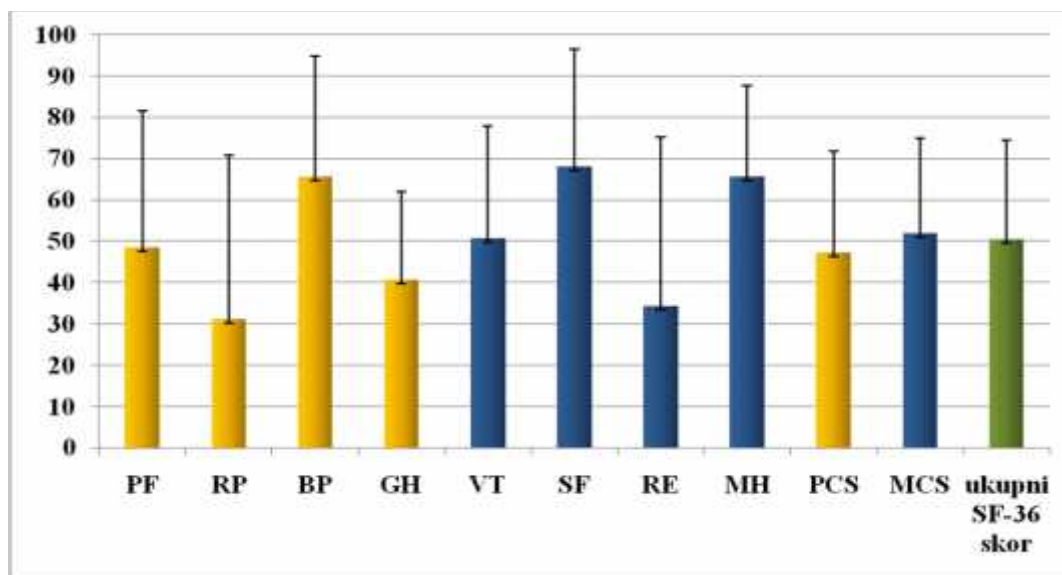
Najniži MMSE skor je uo en kod bolesnika sa jMD1, potom kod bolesnika sa aMD1, a najve i je bio kod kontrola ($24,9 \pm 3,8$, $26,8 \pm 2,6$ i $29,7 \pm 0,6$; $p < 0,01$). Detaljni rezultati neuropsiholoških i bihevioralnih testova u ovoj grupi bolesnika prikazani su u Tabeli 23.

Statisti ka analiza je pokazala nekoliko korelacija izme u biomarkera, na jednoj strani, i neuropsiholoških i bihevioralnih testova, na drugoj strani. Kod bolesnika sa jMD1 rezultati na TMT-A testu su korelisali sa nivoom A 42 i P-tau ($r = +0,53$ i $r = +0,46$; $p < 0,01$), dok je skor na DSS bio u obrnutoj korelaciji sa odnosom A 42/P-tau ($r = -0,48$; $p < 0,05$). U grupi bolesnika sa aMD1 uo ena je blaga korelacija izme u nivoa P-tau u likvoru i rezultata na testu *Brojevi* iz baterije VITI ($r = +0,34$; $p < 0,05$).

4.10. Kvalitet života kod bolesnika sa MD1

Ukupni SF-36 skor kod svih bolesnika sa MD1 iznosio je $50,6 \pm 23,9$ (Grafikon 11). Nije bilo razlike u vrednostima PCS i MCS ($47,4 \pm 24,3$ prema $51,9 \pm 23,0$; $p > 0,05$). Domeni sa najboljim rezultatima bili su SF, BP i MH, a domeni sa najlošijim rezultatima RP i RE.

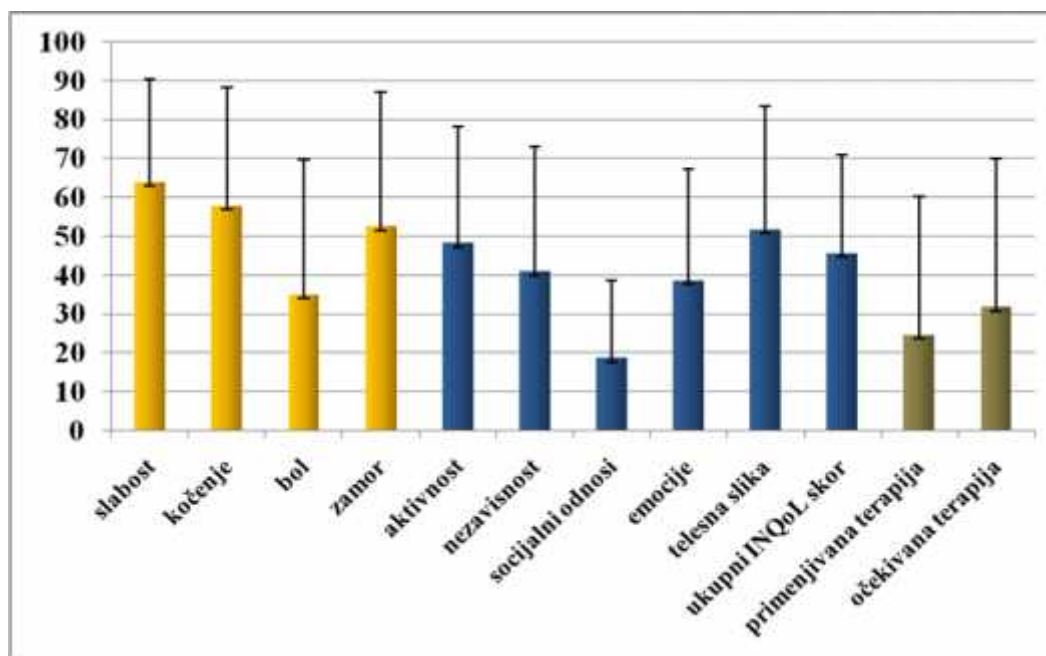
Grafikon 11. Kvalitet života kod bolesnika sa MD1 (n=66) prema SF-36 upitniku



rezultati su prikazani su kao srednja vrednost \pm standardna devijacija za odre eni skor

Ukupni INQoL skor iznosio je $45,7 \pm 25,4$ (Grafikon 12). Simptomi miši ne bolesti sa najznačajnijim uticajem na kvalitet života bili su slabost, kočenja miši a i zamor, dok je bol bio od manjeg značaja. Oblasti života najviše zahvaćene mišicom bolešću u bile su telesna slika i aktivnosti, dok su odnosi sa drugim ljudima bili najmanje izmenjeni zbog bolesti.

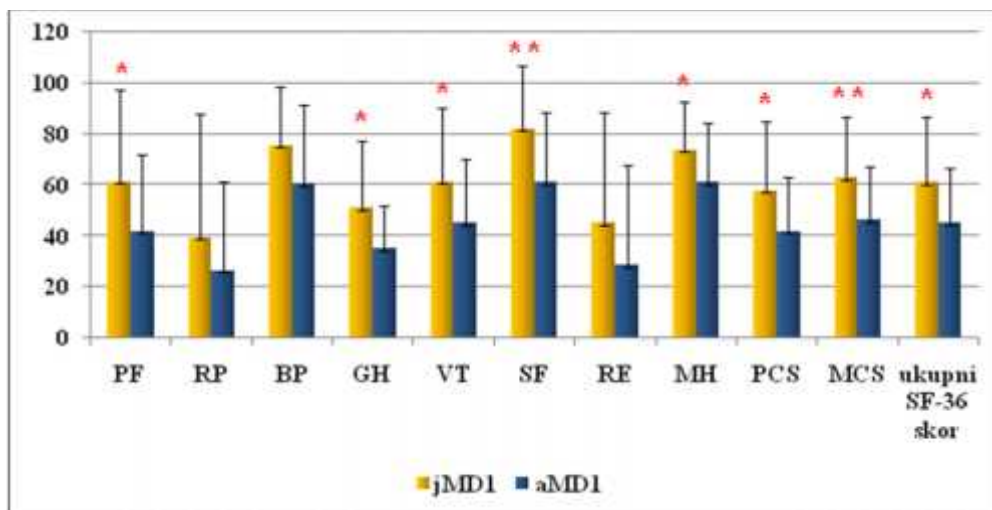
Grafikon 12. Kvalitet života kod bolesnika sa MD1 (n=66) prema INQoL upitniku



rezultati su prikazani su kao srednja vrednost \pm standardna devijacija za određeni skor

Kako su kod bolesnika sa jMD1 u odnosu na bolesnike sa aMD1 na neki bolji skorovi i na opštem upitniku i na upitniku specifičnom za bolest (Grafikon 13, Grafikon 14), dalje su vršene dve odvojene analize faktora koji utiču na QoL.

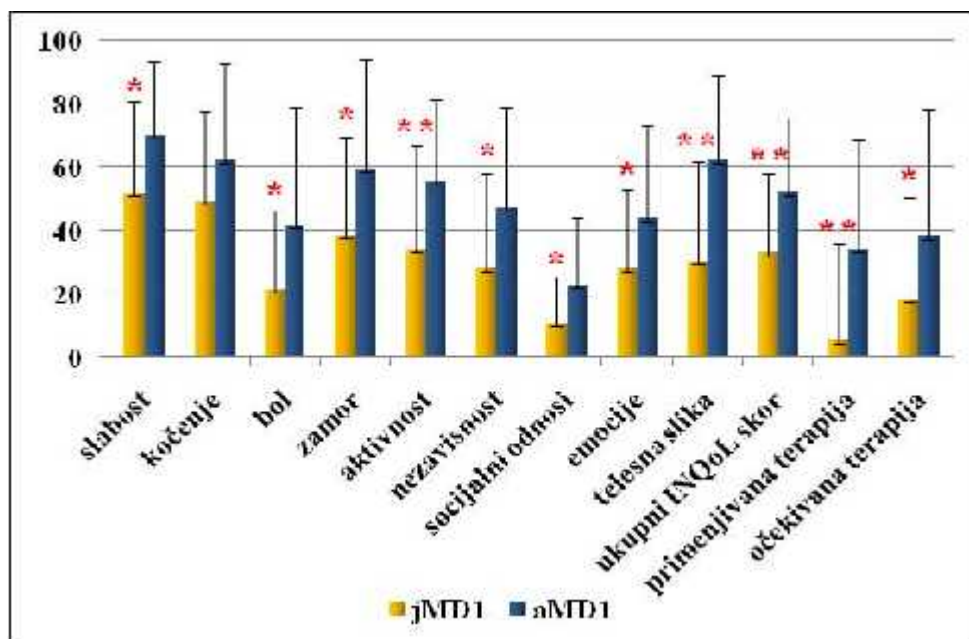
Grafikon 13. Rezultati na SF-36 upitniku kod bolesnika sa jMD1 (n=22) i aMD1 (n=44)



rezultati su prikazani su kao srednja vrednost \pm standardna devijacija za određeni skor;

* $p < 0,05$ i ** $p < 0,01$ (Mann-Whitney U test)

Grafikon 14. Rezultati na INQoL upitniku kod bolesnika sa jMD1 (n=22) i aMD1 (n=44)



rezultati su prikazani su kao srednja vrednost \pm standardna devijacija za određeni skor;

* $p < 0,05$ i ** $p < 0,01$ (Mann-Whitney U test)

4.10.1. Faktori koji uti u na kvalitet života kod bolesnika sa jMD1

Ukupni skorovi na SF-36 i INQoL upitniku bili su u značajnoj korelaciji u kohorti bolesnika sa jMD1 ($r = -0,66$; $p < 0,01$).

Ukupni SF-36 kod bolesnika sa jMD1 nije bio povezan sa polom bolesnika, njihovim obrazovanjem, zanimanjem i bračnim stanjem ($p > 0,05$), ali je bio znatno lošiji kod starijih bolesnika ($r = -0,70$; $p < 0,01$). Trajanje bolesti je uticalo na ukupni SF-36 skor ($r = -0,64$; $p < 0,01$). Nije uočena značajna povezanost između QoL i stepena mišićne slabosti prema MIRS ($p > 0,05$). Niži SF-36 skor je zapažen kod bolesnika sa većim brojem CTG ponovaka ($r = -0,47$; $p < 0,05$) i većim brojem CTG ponovaka na najvećem alelu ($r = -0,54$; $p < 0,05$), ali ne i kod bolesnika sa većim brojem ponovaka na najmanjem alelu ($p > 0,05$).

Postignute na neuropsihološkim testovima nije bilo u korelaciji sa QoL ($p > 0,05$).

Lošiji QoL meren generalnim upitnikom bio je povezan sa većim skorom na HamD ($r = -0,74$; $p < 0,01$), HamA ($r = -0,63$; $p < 0,01$) i FSS ($r = -0,66$; $p < 0,01$). Sa druge strane, nije zapažena korelacija SF-36 skora sa pospanošću u merenom pomoću DSS ($p > 0,05$).

Urađena je linearna regresiona analiza u kojoj je kao zavisna varijabla definisan ukupni SF-36 skor, dok su kao zavisne varijable uključeni sledeći faktori: starost bolesnika, maksimalni broj CTG ponovaka, depresivnost merena skorom na HamD skali i zamor meren skorom na FSS. Kako bi se izbegla kolinearnost, u analizu nije uključeno trajanje bolesti zbog značajne korelacije sa parametrom starost bolesnika, srednji broj CTG ponovaka zbog korelacije sa maksimalnim brojem CTG ponovaka, kao i skor na HamA skali zbog korelacije sa skorom na HamD skali. Regresiona analiza je pokazala da su izraženiji zamor ($r = -0,53$; $p < 0,01$) i većia starost bolesnika ($r = -0,41$; $p < 0,05$) bili značajni nezavisni prediktori lošijeg kvaliteta života kod bolesnika sa jMD1 (Tabela 24).

Tabela 24. Prediktori kvaliteta života merenog pomoću u SF-36 upitnika kod bolesnika sa jMD1

Prediktor	
Starost *	-0,41
CTG _{max}	+0,04
HamD	-0,26
FSS **	-0,53
R²	0,72

CTG_{max} – broj CTG ponovaka na najveće em registrovanom alelu; R² je dato kao prilagođena vrednost; * p<0,05, ** p<0,01 prema linearnoj regresionoj analizi (metoda enter)

Ukupni INQoL skor nije bio u korelaciji sa polom bolesnika sa jMD1, njihovim obrazovanjem, zanimanjem i bračnim statusom (p>0,05), ali je bio povezan sa starošću bolesnika (=+0,59; p<0,01). Bolesnici sa dužim trajanjem bolesti i težim stepenom mišićnog deficita prema MIRS imali su veći skor na INQoL (=+0,70; p<0,01 za trajanje bolesti i =+0,46; p<0,05 za MIRS). Lošiji QoL bio je povezan sa većim prosečnim, minimalnim i maksimalnim brojem CTG ponovaka (=+0,56, p<0,01; =+0,48, p<0,05 i =+0,64, p<0,01).

Kada se uzmu u obzir rezultati na neuropsihološkim testovima, INQoL skor kod bolesnika sa jMD1 korelirao je samo sa procentom tačnih odgovora simultano na DMS testu (-0,48; p<0,05) i procentom tačnih odgovora na SRM testu (=-0,49; p<0,05).

Lošiji kvalitet života je bio u vezi sa većim stepenom depresivnosti i anksioznosti mereno Hamiltonovim skalama (=+0,52, p<0,05 i =+0,49, p<0,05), kao i sa većim stepenom zamora i pospanosti (=+0,49, p<0,05 za korelaciju sa FSS i DSS skorom).

U linearnoj regresionoj analizi zavisna varijabla je bio ukupni INQoL skor, a nezavisne varijable su bile trajanje bolesti, stepen mišićnog oštećenja prema MIRS, broj CTG ponovaka na najveće em alelu, postignuće na DMS i SRM testu, stepen depresivnosti, zamora i pospanosti. U analizu nisu uključeni: starost bolesnika zbog korelacije sa trajanjem bolesti, srednji i minimalni broj ponovaka zbog korelacije sa maksimalnim brojem CTG ponovaka, kao ni HamA skor zbog korelacije sa HamD skorom. Najznačajniji prediktori kvaliteta života merenog specifičnim upitnikom kod bolesnika sa jMD1 bili su: zamor (=+0,60; p<0,01) i procenat tačnih odgovora na SRM testu (=-0,38; p<0,05) (Tabela 25).

Tabela 25. Prediktori kvaliteta života merenog pomo u INQoL upitnika kod bolesnika sa jMD1

Prediktor	
Trajanje	+0,12
MIRS	+0,03
CTG _{max}	-0,08
DMS - % ta nih odgovora odloženo	-0,06
SRM - % ta nih odgovora *	-0,38
HamD	+0,31
FSS **	+0,60
DSS	+0,17
R²	0,84

CTG_{max} – broj CTG ponovaka na najve em registrovanom alelu; *R²* je dato kao prilago ena vrednost; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ prema linearnoj regresionoj analizi (metod enter)

4.10.2. Faktori koji uti u na kvalitet života kod bolesnika sa aMD1

Ukupni skorovi na SF-36 i INQoL upitniku me usobno su korelisali kod bolesnika sa aMD1 (=-0,69; $p < 0,01$).

Obolelele žene su imale manji SF-36 skor nego oboleli muškarci ($37,1 \pm 16,3$ prema $54,0 \pm 22,5$; $p < 0,01$). Stariji bolesnici su imali lošiji kvalitet života (=-0,50; $p < 0,01$). Obrazovanje, zanimanje i bra ni status nisu uticali na QoL ($p > 0,05$). Duže trajanje MD1 bilo je u vezi sa manjim skorom na SF-36 (=-0,39; $p < 0,05$). Nije zapažana povezanost stepena miši nog ošte enje prema MIRS i ukupnog SF-36 skora ($p > 0,05$). Broj CTG ponovaka na najmanjem alelu korelisao je sa QoL (=+0,38; $p < 0,05$), dok srednji broj ponovaka i maksimalni broj ponovaka nisu ($p > 0,05$).

Ukupni SF-36 skor je bio u korelaciji sa velikim brojem rezultata na klasi nim neuropsihološkim testovima, uklju uju i: MOCA (=+0,38; $p < 0,05$), Addenbrookeov test (=+0,48; $p < 0,01$), TMT-A (=-0,41; $p < 0,01$), test *Šifra* (=+0,41; $p < 0,01$), HVOT (=+0,44; $p < 0,01$), kopiranje ROCF (=+0,44; $p < 0,01$), test *Kocka mozaik* (=+0,41; $p < 0,01$), neposredno upam ivanje na RAVLT (=+0,37; $p < 0,05$), prise enje na ROCF testu (=+0,31; $p < 0,05$), TMT-B (=-0,52; $p < 0,01$), kategorijalnu fluentnost (=+0,45; $p < 0,01$) i rezultat na BNT (=+0,32;

$p < 0,05$). Kada se rezultati svih ovih testova uključe u linearnu regresionu analizu (prilagođeno $R^2=0,42$), kao značajni prediktori kvaliteta života merenog SF-36 upitnikom kod bolesnika sa aMD1 izdvajaju se postignuće na TMT-B ($r = -0,91$; $p < 0,05$) i kopiranje ROCF ($r = +0,51$; $p < 0,05$).

Ukupni SF-36 skor je kod bolesnika sa aMD1 bio u značajnoj korelaciji sa rezultatima na CANTAB testovima, i to: sa ukupnim prilagođenim brojem grešaka i prilagođenim brojem grešaka na nivou sa šest figura u PAL testu ($r = -0,44$, $p < 0,01$ i $r = -0,49$, $p < 0,01$), sa procentom ta nih odgovora na PRM testu ($r = +0,46$; $p < 0,01$), sa brojem rešenih nivoa na SOC testu ($r = +0,43$; $p < 0,01$), sa najdužim rešenim nizom u SSP testu ($r = +0,44$; $p < 0,01$), kao i sa brojem grešaka i strategijom na SWM testu ($r = -0,35$; $p < 0,05$ i $r = -0,43$; $p < 0,05$). Iz linearne regresione analize isključen je ukupni prilagođeni broj grešaka na PAL testu zbog korelacije sa brojem grešaka na nivou sa šest figura u istom testu, kao i broj grešaka na SWM testu zbog korelacije sa strategijom na istom testu. Kada se rezultati preostalih testova uključe u linearnu regresionu analizu (prilagođeno $R^2=0,31$), kao značajni prediktor ukupnog SF-36 skora kod bolesnika sa aMD1 izdvaja se samo broj uspešno rešenih zadataka na SOC testu ($r = +0,33$; $p < 0,05$).

Na kvalitet života meren generičkim upitnikom kod bolesnika sa aMD1, uticao je i stepen depresivnosti ($r = -0,50$; $p < 0,01$), anksioznosti ($r = -0,51$; $p < 0,01$), zamora ($r = -0,44$; $p < 0,01$) i prekomerne dnevne pospanosti ($r = -0,34$; $p < 0,05$).

Urađena je linearna regresiona analiza u kojoj je kao zavisna varijabla definisan ukupni SF-36 skor, dok su kao zavisne varijable uključeni sledeći faktori: pol i starost bolesnika, minimalni broj CTG ponovaka, rezultat na TMT-B, kopiranje ROCF i broj završenih nivoa na SOC testu, depresivnost merena skorom na HamD skali i zamor meren skorom na FSS. Kako bi se izbegla kolinearnost, u analizu nije uključen trajanje bolesti zbog značajne korelacije sa starošću bolesnika, skor na HamA skali zbog korelacije sa skorom na HamD skali, kao ni skor na DSS zbog korelacije sa skorom na FSS. Regresiona analiza je pokazala da je izraženiji zamor ($r = -0,41$; $p < 0,05$) bio značajan nezavisni prediktor lošijeg kvaliteta života kod bolesnika sa aMD1 (Tabela 26).

Tabela 26. Prediktori kvaliteta života merenog pomoću SF-36 upitnika kod bolesnika sa aMD1

Prediktor	
Pol	-0,23
Starost	-0,19
CTG _{min}	+0,14
TMT-B	-0,04
ROCF – kopiranje	+0,20
SOC - broj rešenih nivoa	+0,06
HamD	+0,31
FSS *	-0,41
R²	
0,41	

CTG_{min} – broj CTG ponovaka na najmanjem registrovanom alelu; R² je dato kao prilagođena vrednost; * p<0,05 prema linearnoj regresionoj analizi (metoda enter)

Ukupni INQoL skor nije bio u korelaciji sa polom bolesnika, njihovim zanimanjem i bračnim statusom (p>0,05), ali je bio povezan sa starošću bolesnika (=+0,31; p<0,05) i njihovim obrazovanjem (=-0,36; p<0,05). Nije postojala povezanost QoL i dužine trajanja bolesti (p>0,05). Bolesnici sa težim stepenom mišićnog deficita prema MIRS imali su lošiji QoL meren pomoću SF-36 (=+0,34; p<0,05). QoL nije bio povezan sa brojem CTG ponovaka (p>0,05).

Ukupni INQoL skor je bio u korelaciji sa velikim brojem rezultata na klasičnim neuropsihološkim testovima, uključujući: MMSE (=-0,38; p<0,05), MOCA (=-0,58; p<0,01), Addenbrookeov test (=-0,62; p<0,01), TMT-A (=+0,42; p<0,01), Šifru (=-0,36; p<0,05), HVOT (=-0,42; p<0,01), kopiranje ROCF (=-0,40; p<0,01), test Kocka mozaik (=-0,32; p<0,05), neposredno upamivanje na RAVLT (=-0,51; p<0,01), TMT-B (=+0,43; p<0,01) i kategorijalnu fluentnost (=-0,44; p<0,01). Kada se rezultati svih ovih testova (osim MOCA i MMSE zbog kolinearnosti sa Addenbrookeovim testom) uključuje u linearnu regresionu analizu (prilagođeno R²=0,32), kao značajni prediktor kvaliteta života merenog INQoL upitnikom kod bolesnika sa aMD1 izdvaja se postignuće na Addenbrookeovom testu (=-0,49; p<0,05).

Ukupni INQoL skor kod bolesnika sa aMD1 bio je u značajnoj korelaciji sa rezultatima na CANTAB testovima, i to: sa ukupnim prilagođenim brojem grešaka i prilagođenim brojem

grešaka na nivou sa šest figura u PAL testu ($r = +0,42$, $p < 0,01$ i $r = +0,32$, $p < 0,05$), sa procentom ta nih odgovora na PRM testu ($r = -0,40$; $p < 0,05$) i sa brojem rešenih nivoea na SOC testu ($r = -0,35$; $p < 0,05$). Iz linearne regresione analize isklju en je ukupni prilago eni broj grešaka na PAL testu zbog korelacije sa brojem grešaka na nivou sa šest figura u istom testu. Kada se rezultati preostalih testova uklju e u linearnu regresionu analizu (prilago eno $R^2 = 0,06$), nijedan od rezultata nije se pokazao kao zna ajan prediktor kvaliteta života merenog INQoL upitnikom.

Lošiji kvalitet života bio je u vezi sa ve im stepenom depresivnosti i anksioznosti mereno Hamiltonovim skalama ($r = +0,50$, $p < 0,05$ i $r = +0,52$, $p < 0,01$), kao i sa ve im stepenom zamora ($r = +0,51$; $p < 0,01$). Nije zapažena povezanost ukupnog INQoL i DSS skora ($p > 0,05$).

U linearnoj regresionoj analizi zavisna varijabla je bio ukupni INQoL skor, a nezavisne varijable su bile starost i obrazovanje bolesnika, stepen mišine slabosti prema MIRS, postignu e na Addenbrookeovom testu, stepen depresivnosti i zamora. U analizu nije uklju en HamA skor zbog korelacije sa HamD skorom. Najzna ajniji prediktori kvaliteta života merenog specifi nim upitnikom kod bolesnika sa aMD1 bili su: zamor ($r = +0,38$; $p < 0,05$) i obrazovanje ($r = -0,29$; $p < 0,05$) (Tabela 27).

Tabela 27. Prediktori kvaliteta života merenog pomo u INQoL upitnika kod bolesnika sa aMD1

Prediktor	
Starost	+0,12
Obrazovanje *	-0,29
MIRS	+0,15
Addenbrookeov test	-0,20
HamD	-0,10
FSS *	+0,36
R²	
0,43	

R² je dato kao prilago ena vrednost;

** $p < 0,05$ prema linearnoj regresionoj analizi (metod enter)*

5. DISKUSIJA

5.1. Kliničke i molekularno-genetske karakteristike ispitivanih bolesnika sa MD1

U našem istraživanju je učestvovalo 66 bolesnika, 22 sa dečjom/juvenilnom formom (jMD1) i 44 ispitanika sa klasičnom adultnom formom MD1 (aMD1). Podela na ove dve forme bolesti izvršena je na osnovu detaljne analize anamnestičkih podataka. Kao prvi simptom obe forme bolesti najčešće su navođene mišićne tegobe (miotonija i slabost), a u znatno manjoj meri simptomi i znaci multisistemske zahvaćenosti tkiva i organa. Poremećaji centralnog nervnog sistema nisu prepoznavani kao prvi simptom bolesti, jer su od strane bolesnika i članova porodice obično smatrani normalnom varijacijom intelektualnih sposobnosti i ponašanja. Smatra se da je zanemarivanje MD1 kao potencijalnog uzroka centralnih poremećaja u dečjoj populaciji najizraženije u grupi bolesnika koji imaju negativnu porodičnu anamnezu na ovu bolest. Najčešće se rani, centralni simptomi prepoznaju tek kada dijagnoza klasične aMD1 bude postavljena kod nekog od članova porodice (Udd et Krahe 2012).

Prema literaturnim podacima, prvi znaci jMD1 su problemi u školi usled snižene intelektualne sposobnosti i psihosocijalne neadekvatnosti (Steyaert et al. 1997, Echenne et al. 2008, Angeard et al. 2011, Johnson et Heatwole 2012). Na samom početku bolesti obično nisu prisutni mišićni simptomi ili su oni veoma blagi (Harley et al. 1993). Od mišićnih tegoba, najranije se uočava slabost mišićne muskulature i dizartrija, a potom i problemi sa žvakanjem i gutanjem i slabost mišića ekstremiteta (Echenne et al. 2008, Douniol et al. 2009, Johnson et Heatwole 2012). Smatra se da se klinička i električna miotonija retko javlja pre desete godine života (Johnson et Heatwole 2012), a da tek od treće decenije počinje razvoj slabosti koji u potpunosti odgovara aMD1 (Udd et Krahe 2012, Johnson et Heatwole 2012).

Kao najčešći i prvi simptom kod oko polovine naših bolesnika sa jMD1 i aMD1 registrovana je miotonična reakcija šaka. Slabost mišića nogu je češće bila prvi opaženi simptom u aMD1 (27 % u aMD1 i 13 % u jMD1), dok su bolesnici sa jMD1 češće imali slabost mišića šaka i lica i probleme sa govorom (23 % sa jMD1 i 5 % sa adultnom MD1) što je u skladu sa literaturnim podacima (Turner et Hilton-Jones 2010, Johnson et Heatwole 2012, Udd et Krahe 2012). Prema dosadašnjim saznanjima, neuropsihološki i bihevioralni problemi uvek prethode mišićnim u jMD1 (Steyaert et al. 1997, Echenne et al. 2008, Angeard et al. 2011). Prvi mišićni poremećaji u našoj grupi bolesnika sa jMD1 u proseku su registrovani sa 12 godina, što znači da

su određeni neuropsihološki problemi postojali i pre dvanaeste godine života, ali su zanemarevani od strane bolesnika i članova porodice. Pored toga, u grupi bolesnika sa jMD1 uočen je nešto veći broj onih koji su ponavljali razred nego u grupi bolesnika sa aMD1 (36 % prema 27 %) što ide u prilog prisustvu ranih intelektualnih problema u ovoj formi bolesti. S obzirom da je ponavljanje razreda nekada bilo redovna praksa u srpskim školama, a da je sada izuzetno retko, smatramo da to može biti uzrok ne tako velike razlike između u adultnih i juvenilnih bolesnika. Bolesnici sa jMD1 su bili dvostruko češće nezaposleni u odnosu na one sa aMD1 (27 % prema 14 %) iako su bili u proseku 13 godina mlađi, što posredno govori o njihovoj psihosocijalnoj neadekvatnosti.

U našoj studiji je registrovan sličan stepen mišićne slabosti meren pomoću MIRS kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 uparenih prema trajanju bolesti. Ovi podaci ukazuju na sličnost mišićnog procesa kod navedenih formi MD1, tj. da ne postoji oštra podela na juvenilnu i adultnu formu bolesti, već da se pre radi o kontinuumu sa ekstremnom individualnom varijabilnošću u kliničke slike (Echenne et al. 2008, Johnson et Heatwole 2012).

Pored fenotipskog preklapanja, kod naših bolesnika sa jMD1 i aMD1 je registrovan i sličan srednji broj CTG ponovaka u DMPK genu (752 ± 281 u jMD1 i 724 ± 240 u aMD1). Naime, poznato je da je kod jMD1 i aMD1 broj ponovaka u sličnom opsegu (od 50 do 1000), dok je kod kMD1 genotipsko-fenotipska korelacija jasnija, jer ovi bolesnici uvek imaju više od 1000 CTG ponovaka (Turner et al. 2010). Ipak, određeni stepen povezanosti većeg broja ponovaka sa ranijim početkom bolesti i težom kliničkom slikom pronađen je i kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 (Johnson et al. 2012, Turner et al. 2012). Ove korelacije važe samo za bolesnike sa prosečno manje od 400 CTG ponovaka na svim patološkim alelima (Hamshere et al. 1999), odnosno sa manje od 250 ponovaka na najmanjem alelu (Savić et al. 2002). Izostanak genotipsko-fenotipske korelacije kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 koji imaju veći broj ponovaka može biti uzrokovan somatskim mozaicizmom, koji je vremenom sve izraženiji. Kako se broj ponovaka najčešće određuje u perifernoj krvi, a ne u drugim tkivima, jasno je da se korelacija genotipa i fenotipa gubi kod velikih ekspanzija (Turner et Hilton-Jones 2010).

Smatra se da uzrok nedostatka genotipsko-fenotipske korelacije može biti i tzv. *plato efekat*. Prema ovoj pretpostavci, dostizanje određenog broja ponovaka dovodi do odgovarajućeg kliničke slike, koja dalje nije *dozno zavisna* (Savić et al. 2002). U kulturi mioblasta i fibroblasta

je pokazano da se u telijama sa 150 do 400 CTG ponovaka kompletna mutirana RNK prepisana sa DMPK gena zadržava u jedru (Hamshire et al. 1997). Moguće je da se *efekat platoa* odražava i na funkciju SIX5 i DMWD gena, kao i nekih drugih procesa, koji su možda odgovorni za pojavu kMD1, koja se javlja samo kod bolesnika sa preko 1000 ponovaka (Savić et al. 2002).

Interesantan je naš rezultat po kome se prosečan broj ponovaka i broj ponovaka na najvećem alelu ne razlikuju kod bolesnika sa jMD1 i aMD1, dok je broj ponovaka u minimalnom alelu značajno veći kod bolesnika sa jMD1 (625 ± 317 prema 451 ± 232). Kada se uzme u obzir prosečan broj ponovaka u najmanjem alelu leukocita periferne krvi, većina bolesnika sa jMD1 je imala 500 do 1500 ponovaka, dok je većina bolesnika sa aMD1 imala 100 do 500 CTG ponovaka. Smatra se da upravo najmanji alel u limfocitima odgovara progenitorskom alelu, koji je originalno nasleđen od zigota (Martorell et al. 2000). Analizom ovog alela eliminiše se uticaj starenja na ekspanziju ponovaka (Savić et al. 2002). Stoga utvrđena razlika u broju ponovaka kod jMD1 i aMD1 u našoj kohorti bolesnika govori u prilog činjenici da izvesna korelacija genotipa i fenotipa postoji, tj. da se kod bolesnika sa većim brojem ponovaka u progenitorskom alelu bolest ranije javlja.

Prosečan nivo CK u serumu je iznosio 228 ± 176 , a prosečan nivo LDH 499 ± 115 . Nivoi ovih enzima nisu se razlikovali u odnosu na formu bolesti. Podaci iz literature pokazuju da je nivo serumske CK kod bolesnika sa MD1 normalan ili blago do umereno povišen, ali nikad preko 1000 U/l (Turner et Hilton-Jones 2010, Udd et Krahe 2012, Johnson et Heatwole 2012). U studiji Heatwolea i sar. prosečan nivo CK u serumu bio je 197 ± 113 kod obolelih muškaraca i 148 ± 109 kod obolelih žena (Heatwole et al. 2006). U istom istraživanju nivo LDH u serumu bolesnika sa MD1 je bio 484 ± 257 , a u serumu bolesnica 484 ± 183 (Heatwole et al. 2006). Prosečne vrednosti ispitivanih enzima u navedenoj studiji su slične našim rezultatima.

5.2. Analiza potencijalnih faktora rizika za nastanak centralnih poremećaja u MD1

Osnovni molekularni mehanizmi u MD1 su veoma kompleksni i uključuju oštećenje i replikaciju za više od 30 preinformacionih RNK, haploinsuficijenciju samog DMPK gena, kao i izmenjenu ekspresiju susednog SIX5 i DMWD gena (Westerlaken et al. 2003, Sarkar et al. 2004, Kaliman et al. 2008, Udd et Krahe 2012). Ovako složena molekularna osnova objašnjava multisistemski karakter bolesti sa plejotropnim zahvatanjem tkiva i organa, uključujući i mozak

(Osborne et Thornton 2006, Du et al. 2010). Centralni nervni sistem može biti zahvaćen bolešću u direktno ili posredno, kao deo multiorganske afekcije kod MD1 (Meola et Sansone 2007, de León et al. 2008, Itoh et al. 2010).

Više od četvrtine naših ispitanika je imalo povišen BMI a od toga je njih 8 % svrstano u patološki gojazne sa BMI preko 30. Kaminsky i sar. su našli patološku gojaznost čak kod četvrtine svojih bolesnika sa MD1, što je slično uestalosti kod bolesnika sa drugim neuromišićnim bolestima (Kaminsky et al. 2011). Pored toga, zastupljenost patološke gojaznosti u francuskoj opštoj populaciji je znatno manja. Stoga se zaključuje da uzrok prekomerne gojaznosti kod bolesnika sa MD1, kao i kod drugih neuromišićnih oboljenja, može biti sedentarni način života usled mišićne slabosti (Aitkens et al. 2005), ali situacija je dodatno zakomplikovana primarnim zahvatanjem različitih metaboličkih i hormonskih puteva u MD1 (Raković Stojanović et al. 2010, Kaminsky et al. 2011, Romeo 2012, Ørngreen et al. 2012). Međutim, u našoj kohorti bolesnika sa MD1 zastupljenost prekomerne telesne težine i patološke gojaznosti je bila manja nego u opštoj populaciji Srbije gde ovi poremećaji dostižu uestalost od 50% (Grujić et al. 2010). Uz to je od velikog značaja podatak da je svaki deseti bolesnik sa MD1 bio pothranjen. Uzrok tome bi mogle biti smetnje od strane gastrointestinalnog i endokrinog sistema, ali su neophodna dalja istraživanja u tom pravcu s obzirom da podaci na ovu temu nisu dostupni u literaturi.

Prosečan arterijski krvni pritisak kod bolesnika u našoj studiji bio je 114/74 mmHg. Sistolna hipertenzija je nađena samo kod 3 % obolelih, a dijastolna kod 11 %. Slične prosečne vrednosti krvnog pritiska i slična uestalost hipertenzije opisani su i u drugim studijama (Shieh et al. 2010, Raković Stojanović et al. 2013). Iako uestalost gojaznosti kod bolesnika sa MD1 odgovara nalazima kod obolelih od drugih neuromišićnih bolesti, uestalost hipertenzije kod MD1 je do 10 %, a kod drugih neuromišićnih oboljenja čak 27 % (Aitkens et al. 2005, Raković Stojanović et al. 2013). U studiji na murinom transgenom modelu Tg26-hDMPK pronađeni su smanjeni tonus glatkih mišića a arterija usled stalne prekomerne ekspresije DMPK gena (O'Coilain et al. 2004), dok se u drugoj studiji kod čak 90 % bolesnika sa MD1 nalazi patološki test na ortostatsku hipotenziju (Raković Stojanović et al. 2007) što ukazuje da i autonomna, simpatička disfunkcija može biti odgovorna za snižene vrednosti krvnog pritiska.

Značaj pulmoloških i kardioloških poremećaja u MD1 prevashodno leži u činjenici da oni predstavljaju dva najčešća uzroka smrti kod ovih bolesnika (de Die-Smulders et al. 1998, Mathieu et al. 1999, Groh et al. 2008, Rakovec et al. 2013). Pored toga, pretpostavlja se da poremećaji srčanog sprovođenja, respiratorna insuficijencija i kardiomiopatija mogu da dovedu do pogoršanja kognitivnih i bihevioralnih funkcija tako što doprinose generalnoj hipoperfuziji i hipoksiji mozga (Meola et Sansone 2007).

Tip i učestalost elektrokardiografskih i ultrasonografskih promena na EKG kod naših bolesnika u potpunosti odgovara podacima iz literature (Bhakta et al. 2004, Groh et al. 2008, McNally et al. 2011, Rakovec Stojanović et al. 2013). Na EKG je najčešće zapažen AV blok I stepena i rana repolarizacija, a na UZ srca produžena relaksacija leve komore. Nijedan od naših 66 ispitanika nije imao kardiomiopatiju što je u skladu sa činjenicom da se ona obično javlja samo kod 2 % bolesnika sa MD1 (Bhakta et al. 2004).

Naše ispitivanje je pokazalo prisustvo hrkanja kod trećine, a smanjen FVC kod više od polovine bolesnika sa MD1. Ove promene su prvenstveno odraz poremećaja disanja uzrokovanog perifernim faktorima u koje se ubrajaju hipotrofija, slabost i miotonija mišića grudnog koša, faringealnih mišića i dijafragme, kao i skeletne abnormalnosti (Ugalde et al. 2001, Romeo 2012). Međutim, za nastanak respiratorne insuficijencije u MD1 odgovorni su i centralni faktori poput disfunkcije moždanog stabla, hipotalamusa i hipofize (Howard et al. 1993, Romeo 2012). Smatra se da respiratorna insuficijencija može uticati na pojavu centralnih simptoma u MD1, a naročito na prekomernu dnevnu pospanost i zamor (Turner et Hilton-Jones 2010).

Gotovo polovina naših bolesnika sa MD1 je imala insulinsku rezistenciju, 11 % je imalo glukoznu intoleranciju, a samo 3 % obolelih je imalo dijabetes. Ovo je u skladu sa literaturnim podacima po kojima je insulinska rezistencija česta u MD1, dok se manifestni dijabetes javlja sasvim retko ili nešto ređe u opštoj populaciji (Harper 2001, Turner et Hilton-Jones 2010, Romeo 2012). Kod bolesnika sa MD1 registruju se znatno više vrednosti insulina u serumu nego kod zdravih ispitanika uparenih po polu, starosti i BMI (Fernández-Real et al. 1999). Prisustvo poremećaja metabolizma glukoze u MD1 nije samo posledica gojaznosti i sedentarnog načina života, već je i direktno povezano sa molekularno-genetskom osnovom bolesti. Naime, u MD1 je dokazan izmenjen splejsing preinformacione RNK za insulinski receptor (Savkur et al. 2001, Botta et al. 2008). U jednoj studiji je kod bolesnika sa MD1 nađena povezanost insulinske rezistencije sa prekomernom sekrecijom leptina, hormona koji se sintetiše

u masnom tkivu (Raković i Stojanović et al. 2010). Oznajava za naše istraživanje je činjenica da moždano tkivo iskoristi više od polovine ukupne glukoze u krvotoku te da poremećaj metabolizma glukoze može imati direktan uticaj na centralne simptome bolesti (Meola et Sansone 2007). Na eksperimentalnom modelu *diabetes mellitus* tipa 2 pokazano je smanjeno preuzimanje glukoze u moždano tkivo što bi moglo rezultovati smanjenjem sinaptičke plastičnosti, povećanom akumulacijom beta amiloida i posljedičnim kognitivnim deficitima (Messier 2005). Moguće je da se sličan proces odvija i u MD1.

Prosječan nivo serumskih lipida u našoj kohorti bolesnika je prevazilazio referentne vrijednosti. Hipertrigliceridemija i hiperholesterolemija su zapažene kod više od 60 % oboljelih. Ranije je pokazano da je koncentracija triglicerida, ukupnog i LDL holesterola znatno veća kod bolesnika sa MD1 u odnosu na zdrave kontrole uparene po starosti i BMI, te da se hipertrigliceridemija javlja sa učestalosti od 31-50 %, a hiperholesterolemija od 21-43 %. Interesantno je napomenuti da je u našem istraživanju prosječan nivo dobrog, HDL holesterola bio viši od 1,00 mmol/l te da je samo 17 % oboljelih imalo niske vrijednosti ovog protektivnog lipida. Smatramo da su neophodna dalja istraživanja lipidnog profila u MD1 i njegovog potencijalnog uticaja, s obzirom da je kod bolesnika sa MD1 i pored prisustva određenih komponenti metaboličkog sindroma, rizik od vaskularnih bolesti manji nego u opštoj populaciji (Raković i Stojanović et al. 2010). U skladu sa ovim je i naš nalaz da niko od ispitivanih MD1 bolesnika nije imao značajne aterosklerotske plakove na krvnim sudovima vrata i glave.

Poremećaji u koncentraciji hormona štitaste žlezde zapaženi su kod 15,1 % naših bolesnika, ali je samo kod jedne bolesnice uočena klinički značajna hipertireoza. Smatra se da je funkcija štitaste žlezde kod bolesnika sa MD1 uglavnom normalna. Ørngreen nalazi snižen nivo tireoidnog stimulirajućeg hormona (TSH) kod 2 bolesnika, a povišen kod 5 bolesnika, dok je samo jedan bolesnik od 97 ispitivanih imao simptomatsku hipotireozu (Ørngreen et al. 2012). Navedeni poremećaji ne prelaze u učestalost u opštoj populaciji (Ørngreen et al. 2012). Iako su tireoidni poremećaji generalno retki kod bolesnika sa MD1, od velikog je značaja njihovo otkrivanje s obzirom da hipofunkcija štitaste žlezde može pogoršati mišićnu snagu i miotonične fenomene kod MD1 (Johnson et Heatwole 2012). Pored toga, mozak je bitan ciljani organ za tireoidne hormone i njihov disbalans može dovesti do značajnih poremećaja raspoloženja, ali i do blagih kognitivnih promena poput oštećenja radne memorije i egzekutivnih funkcija (Samuels 2008).

Deficit vitamina B12 i hiperhomocisteinemija mogu imati uticaja na centralni nervni sistem, ukljuuju i zahvatanje kognitivnih funkcija i razvoj Alzheimerove bolesti (Smith et Blumenthal 2010). Meutim, u našoj grupi bolesnika, blaga hipovitaminoza B12 je registrovana samo kod jednog bolesnika, a laka hiperhomocisteinemija kod tri, tako da se ovi faktori mogu isključiti kao značajni uzroci centralnih poremećaja u našoj kohorti bolesnika sa MD1.

Uestalost strukturnih promena krvnih sudova vrata i glave je bila niska kod analiziranih bolesnika i svi navedeni nalazi su bili uzgredni i bez posledicnog neurološkog deficita. Najčešće je zapažena hipoplazija jedne od vertebralnih arterija (kod 9 % obolelih), dok je prema nalazima Parka i sar. ova anomalija bila prisutna kod više od četvrtine ljudi u opštoj populaciji (Park et al. 2007). Ipored male uestalosti vaskularnih anomalija, svi bolesnici sa vaskularnim lezijama u moždanom parenhimu isključeni su iz analize na MR.

5.3. Neuropsihološki profil bolesnika sa MD1

Prisustvo kognitivnog oštećenja se navodi u najranijim opisima MD1 (Curschman 1912). Svakako je najupečatljiviji nalaz mentalne retardacije kod bolesnika sa kMD1 (Harper 2001, Ashizawa et Sarkar 2011, Udd et Krahe 2012). Bolesnici sa aMD1 najčešće imaju normalne intelektualne sposobnosti, ali su one ipak nešto niže u odnosu na zdrave ispitanike (Rubinsztein et al. 1997, Sistiaga et al. 2010, Zalonis et al. 2010).

I pored opšteg intelektualnog nivoa, kod bolesnika sa aMD1 se sreću ispadi u specifičnim kognitivnim funkcijama. U svim istraživanjima se opisuje određeni stepen prefrontalne, pre svega egzekutivne disfunkcije (Rubinsztein et al. 1997, Meola et al. 2003, Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Gaul et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Zalonis et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Prefrontalna disfunkcija u aMD1 uključuje nedostatak inicijative, otežano planiranje i donošenje odluka, kognitivnu rigidnost, probleme sa promenom kognitivnog seta i smanjenu mogućnost inhibicije interferentnih draži, oštećenje apstraktno i konceptualno mišljenje, kao i smanjenu kontrolu pažnje. Veliki broj studija ukazuje na oštećenje vizuoprostorne i vizuokonstrukcione sposobnosti kod bolesnika sa aMD1, posebno pri sklapanju slika i objekata, pri perceptivnoj obradi i organizaciji novih informacija, pa i u vizuelnom pamćenju (Winblad et al. 2006, Antonini et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Zalonis et al. 2010). Ovakav deficit prevashodno odgovara disfunkciji desnog parijetalnog režnja, ali i drugim

oblastima desne hemisfere, uključujući i frontalni režanj. Navedeno oštećenje se odražava na svakodnevno funkcionisanje bolesnika, zbog problema sa prostornom orijentacijom na karti i promeni pravca na poznatom putu (Meola et al. 2003). U pojedinim istraživanjima opisuje se i deficit pažnje (Winblad et al. 2006, Antonini et al. 2006), brzine (Winblad et al. 2006), aritmetičkih sposobnosti (Winblad et al. 2006), pamćenja (Rubinsztein et al. 1997, Modoni et al. 2004) i pojedinih aspekata jezičkih funkcija (Modoni et al. 2004, Gaul et al. 2006).

U jMD1 se opisuju dva klastera obolelih: bolesnici sa mentalnom retardacijom i najčešće maternalnim nasleđivanjem bolesti i bolesnici sa graničnom inteligencijom i najčešće paternalnim obrascem nasleđivanja (Douniol et al. 2009). Čak i kod onih bolesnika koji imaju graničan ili normalan opšti intelektualni nivo, mogu se pronaći specifični kognitivni deficiti poput vizuospacijalne i vizuokonstruktorne disfunkcije, smanjene pažnje i radne memorije (Douniol et al. 2009, Douniol et al. 2012). Meola navodi da kognitivni poremećaji u jMD1 odlikavaju nalaz kod bolesnika sa aMD1 (Meola et Sansone 2007). Naime, u jMD1 se registruju znaci disegzekutivnog sindroma u vidu autističnog ponašanja, nedostatka interesovanja i inhibicije. Ovo još jednom govori u prilog činjenici da jMD1 zapravo predstavlja kontinuum između kMD1 i aMD1.

Izvesne razlike u dosadašnjim neuropsihološkim studijama kod bolesnika sa MD1 uzrokovane su mnogobrojnim faktorima. Pre svega, obrazac kognitivnog oštećenja u ovoj bolesti je prilično heterogen i teško je definisati jasan neuropsihološki profil u koji bi se uklopili svi bolesnici, čak i kada se istraživanje ograniči na samo jednu formu bolesti (Winblad et al. 2006). Pored toga, u dosadašnjim studijama su primenjivani različiti neuropsihološki testovi, jer ne postoje zvanične preporuke koje testove treba koristiti kod bolesnika sa MD1 (Minnerop et al. 2011). Moguće je i da se određeni kognitivni ispadi prisutni u MD1 ne mogu registrovati do sada korišćenim testovima (Minnerop et al. 2011). Idealno bi bilo primenjivati najsenzitivnije i najpouzdanije testove, koji su do sada najšire upotrebljavani i koji su prethodno validirani u grupi bolesnika sa MD1. Nažalost, zvanične međunarodne preporuke još uvek nema, ali se ulažu napore da se ovaj problem reši u bližoj budućnosti (Minnerop et al. 2011, Axford et al. 2013).

Kako zvanične preporuke nedostaju, u našem istraživanju je primenjivana veoma opsežna baterija klasičnih neuropsiholoških testova, kao i kompjuterizovana baterija CANTAB, koja do sada nije korišćena u testiranju MD1 bolesnika. Korišćen je veoma strog kriterijum - postignuće na testu koje je bilo za samo jednu standardnu devijaciju ispod norme smatrano je za patološko.

Na ovaj način smo omogućili registraciju i najmanjeg, grani nog kognitivnog oštećenja (Winblad 2006). Pored toga, primenjivan je MOT test, kojim se mere motorne sposobnosti ispitanika. Kako su rezultati na ovom testu bili uredni kod svih obolelih, eliminisan je potencijalni uticaj oštećenja motorike na kognitivno postignuće.

Procena neuropsihološkog statusa kod bolesnika sa jMD1 je takođe veoma složena (Douniol et al. 2012). I ovde nedostaju zvanične preporuke koje testove treba primenjivati te su dosadašnje studije prilično heterogene po tom pitanju, izuzev što se gotovo po pravilu primenjuje WAIS. Pored toga, broj studija koje se bave kognitivnim profilom bolesnika sa jMD1 je mali, broj ispitanika je takođe mali i stiče se utisak da postoji pristrasnost u izboru bolesnika u smislu da se biraju obično bolesnici sa težom kliničkom slikom (Douniol et al. 2009). Ovom studijom smo pokušali da prevaziđemo navedena ograničenja pored i nalaze na opsežnoj neuropsihološkoj bateriji kod bolesnika sa aMD1 i odraslih bolesnika sa jMD1, koji su međusobno upareni po trajanju bolesti. Prema dostupnim podacima, naša studija je prva koja se na ovaj način bavi problemom kognitivnih ispada kod bolesnika sa jMD1.

Naše istraživanje pokazuje da više od polovine bolesnika sa MD1 ima oštećenje vizuospacijalnih, vizuokonstruktornih i egzekutivnih funkcija, ali i jezičke funkcije imenovanja i vizuelne memorije. Rezultati na većini testova bili su slični u grupi bolesnika sa aMD1 i jMD1, osim što su bolesnici sa aMD1 imali lošije postignuće na Addenbrookeovom testu za kognitivni skrining, na testu *Šifra* iz VITI baterije, kao i na testovima jezičkih funkcija (fluentnost iz Addenbrookeovog testa i BNT). S druge strane, bolesnici sa jMD1 su imali nešto lošiji rezultat na testu *Aritmetika*.

U našoj kohorti bolesnika korišćena su tri testa za kognitivni skrining. Rezultati na MMSE pokazuju pad postignuća samo kod oko 15% bolesnika što je u skladu sa prethodnim nalazima po kojima bolesnici sa MD1 na ovom testu imaju rezultate slične ili nešto lošije od zdravih kontrola (Meola et al. 2003, Antonini et al. 2006, Weber et al. 2010). S obzirom da MMSE služi za grubu procenu težine demencije te da ne otkriva suptilne kognitivne promene, u našem istraživanju je korišćen i MOCA test koji je specifičan za blag kognitivni poremećaj (Nasreddine et al. 2005). Rezultati na ovom testu su pokazali blag kognitivni pad kod oko 50% naših bolesnika sa MD1, bez razlike u odnosu na formu bolesti. S druge strane, Addenbrookeov

test za procenu demencije i rane kognitivne disfunkcije (Mioshi et al. 2006), registrovao je pad kognitivnog postignu a kod manje od trećine bolesnika sa jMD1 i više od polovine bolesnika sa aMD1 tako da pretpostavljamo da se ovim testom najpre može razlikovati kognitivna disfunkcija povezana sa starenjem u MD1. Ipak, da bi se potvrdila ova pretpostavka, neophodne su prospektivne studije u kojima bi se pratila progresija kognitivnih ispada, kao i potencijalni razvoj demencije u MD1.

Za merenje opšteg intelektualnog nivoa koristili smo dva testa, jedan u vizuelnom i jedan u verbalnom modalitetu. RSPM je test opšte intelektualne sposobnosti nezavisan od kulturoloških faktora. Njime se meri apstraktno rezonovanje u vizuelnom modalitetu, tj. vizuelna dedukcija, i to bez velikih verbalnih i motornih zahteva, kao i bez složene vizuospacijalne analize (Pavlović et al. 2003, Modoni et al. 2008). S druge strane, iako su rezultati na testu *Sli nosti* iz VITI baterije dobra mera opšte intelektualne sposobnosti, oni zavise od formalnog školovanja. Ovim testom se meri apstraktno, kategorijalno mišljenje u verbalnom modalitetu. RSPM nema lokalizacioni značaj (Pavlović et al. 2003), ali s obzirom da se najčešće rešava vizuelnom strategijom, posredno možemo zaključiti da je specifičiji za desnu hemisferu. Test *Sli nosti* je nasuprot tome osetljiviji na oštećenje leve hemisfere, pre svega levog frontalnog i temporalnog režnja, ali i na obostranu frontalnu disfunkciju (Chase et al. 1984).

Rezultati naše studije pokazuju pad intelektualnog postignu a kod gotovo polovine bolesnika prema RSPM i kod samo petine bolesnika prema testu *Sli nosti*. Na ovaj način se potvrđuje ranije opservirana činjenica da su bolesnici sa MD1 superiorniji u verbalnom nego u manipulativnom domenu inteligencije što je naročito uočljivo u juvenilnoj formi bolesti (Angeard et al. 2007, Douniol et al. 2010). Dosadašnje studije pokazuju da bolesnici sa MD1 imaju loše rezultate na testovima RSPM i *Sli nosti* (Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Antonini et al. 2006, Angeard et al. 2007, Zalonis et al. 2010, Sistiaga et al. 2010). Pored toga, opšti koeficijent inteligencije kod bolesnika sa aMD1 je lošiji u odnosu na zdrave ispitanike, ali je u opsegu normalnih vrednosti (Turnpenny et al. 1994, Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2010, Sistiaga et al. 2010, Zalonis et al. 2010, Tanaka et al. 2012). Treba imati na umu da se na prvi pogled inteligencija obolelih od MD1 može potceniti s obzirom na njihovu facijalnu ekspresiju, nazalnost, dizartriju i apatiju (Turner et al. 2010). Kod bolesnika sa jMD1 prosečan IQ je graničan (Angeard et al. 2007, Douniol et al. 2009, Douniol et al. 2010). U pojedinim studijama identifikuju se dva klastera obolelih - bolesnici sa maternalnim nasleđivanjem bolesti

imaju snižen koeficijent inteligencije, dok bolesnici sa paternalnim nasleđivanjem imaju koeficijent inteligencije na donjoj granici normalnih vrednosti (Douniol et al. 2009).

Najznačajniji kognitivni ispad u našoj kohorti bolesnika bila je jasna egzekutivna disfunkcija, koja je posledica oštećenja frontalnog režnja (Pavlović 2011). Dve trećine naših bolesnika je imalo ispad na WCST kojim se određuje naivno rešavanje problema, sposobnost formiranja koncepata, mentalna rigidnost i perseverativnost, dok je više od polovine bolesnika imalo loše rezultate na IED testu kojim se mere slične funkcije, koje su prevažno vezane za frontostrijatne delove mozga (Pavlović et al. 2003, www.cantab.com). Dve trećine naših bolesnika je imalo oštećenu funkciju prostornog planiranja i smanjenje prostorne radne memorije mereno pomoću u SOC testa, dok je polovina bolesnika imala ispad na SSP testu, kojim se meri samo kapacitet radne memorije. Ovi nalazi još jednom ukazuju na disfunkciju frontalnog režnja. Oko 40 % naših bolesnika je imalo patološke rezultate na TMT-B testu, kojim se meri kompleksno vizuelno konceptualno praćenje, koje je egzekutivna funkcija, ali treba imati na umu da postignuće na ovom testu nije ista mera izvršnih funkcija, već zavisi i od pažnje, vizuomotornih sposobnosti, motorne brzine i koordinacije (Pavlović et al. 2003). SWM test je bio manje specifičan u otkrivanju problema sa prostornom radnom memorijom, jer je patološki nalaz uočen kod manje od trećine naših bolesnika sa MD1. Testovi fonemske i semantičke fluentnosti kao mera verbalnog divergentnog mišljenja bili su ispod norme kod samo 10-15 % obolelih, jer se njima ne meri selektivno egzekutivna verbalna funkcija, koja je obično oštećena u MD1 (Meola et Sansone 2007).

U prethodnim studijama u MD1 se po pravilu registruje egzekutivna disfunkcija. Bolesnici imaju lošije rezultate od kontrola na WCST (Rubinsztein et al. 1997, Meola et al. 2003, Sistiaga et al. 2010, Zalonis et al. 2010), odnosno njih oko 70% je ispod očekivane norme na ovom testu (Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2010) što je u skladu sa našim rezultatima. Na neki su lošiji rezultati kod bolesnika sa MD1 u odnosu na zdrave kontrole u testu *Tower of London* (Meola et al. 2003), koja je kompjuterizovana verzija SOC test, kao i u Corsijevom testu (Weber et al. 2010), koja je kompjuterizovana verzija SSP test. Dok pojedini autori navode slične rezultate na TMT-B testu kod bolesnika sa MD1 i zdravih kontrola (Meola et al. 2003, Minnerop et al. 2011), drugi nalaze pad postignuća kod 33 - 87 % obolelih (Modoni et al. 2004, Weber et al. 2010). Prema većini autora, nalazi na testovima fluentnosti u MD1 su obično uredni

(Rubinsztein et al. 1997, Antonini et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Minnerop et al. 2011), ali pojedina istraživanja nalaze pad postignu a u odnosu na kontrole i u ovom domenu (Gaul et al. 2006). Prema nekim studijama do 50 % bolesnika sa MD1 ima lošije rezultate u odnosu na normu na testu fonemske fluentnosti (Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2010), dok do 13 % obolelih ima loše postignu e na testu kategorijalne fluentnosti (Modoni et al. 2004).

Skoro 80 % naših bolesnika je imalo loše rezultate na HVOT i pri kopiranju ROCF. HVOT je test vizuospacijalne analize i organizacije, kao i mentalne rotacije, ali bez upliva vizuomotorne komponente. Ovaj test nema lokalizacioni zna aj. Sa druge strane, kopiranje ROCF obuhvata vizuomotornu organizaciju i vizuokonstruktornu sposobnost u dve dimenzije pri ijem rešavanju su neophodne i egzekutivne funkcije. Test je osetljiviji na ošte enje desne hemisfere, ali se ne može eliminisati ni uticaj leve hemisfere zbog mogu eg verbalnog kodiranja zadatka. Nalaz na testu *Kocka mozaik* bio je patološki kod skoro polovine bolesnika. Ovim testom se meri vizuospacijalna i vizuokonstruktorna organizacija u tri dimenzije, ali su od zna aja i apstraktno mišljenje, planiranje, sistemati nost, sposobnost uvi anja i ispravljanja greške. Loše postignu e na ovom testu pre svega odgovara difuznom moždanom ošte enju, više desne hemisfere, posebno zadnjeg dela desnog parijetalnog režnja, ali od zna aja mogu biti i lezije u levom parijetalnom režnju, prefrontalnom korteksu, pa i temporalnom režnju (Pavlovi 2003). Procenat ta nih simultanih odgovora na DMS testu bio je ispod norme kod tre ine obolelih u našoj kohorti bolesnika. Ovaj test pre svega ukazuje na ošte enje medijalnih delova temporalnog režnja sa izvesnim uplivom iz frontalnog režnja (www.cantab.com).

Prema pojedinim istraživanjima, postignu e na HVOT je kod bolesnika sa MD1 lošije nego kod kontrola (Zaloniš et al. 2010, Weber et al. 2010), dok je prema drugim postignu e sli no u obe grupe (Antonini et al. 2006). Rezultati na testu *Kocka mozaik* su lošiji kod bolesnika sa MD1 nego kod kontrola (Zaloniš et al. 2010, Sistiaga et al. 2010), a rezultati ispod norme se sre u kod oko 42 % obolelih (Winblad et al. 2006) što je u skladu i sa našim rezultatima koji pokazuju pad postignu a kod skoro polovine obolelih. Ranija istraživanja pokazuju i da je kopiranje ROCF lošije kod bolesnika nego kod kontrola (Gaul et al. 2006), a patološki rezultati se sre u kod do 58 % obolelih (Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2010). Interesantno je da se u studiji Sistiagae i sar. skorovi na ovom testu ne razlikuju kod bolesnika sa

aMD1 i zdravih kontrola, ali je utvrđeno da bolesnici, ipak, imaju lošije planiranje (Sistiaga et al. 2010). Na ovaj način se skreće pažnja na činjenicu da uticaj egzekutivne disfunkcije, odnosno frontalnog režnja, može biti ključan uzrok lošeg postignuća na testovima vizuoprostornih i vizuokonstruktivnih funkcija. Iz tog razloga su rezultati u našoj kohorti bolesnika bili lošiji na testovima koji nemaju veliki lokalizacioni značaj poput HVOT i kopiranja ROCF, za razliku od testova koji su specifični za parijetalni režanj (*Kocka mozaik*) i temporalni režanj (DMS).

Subtest *Aritmetika* loše je rešilo oko 41 % naših bolesnika sa MD1. Radi se o testu koji pored kalkulacije, uključuje i neposredno upamćivanje, koncentraciju i pažnju. S obzirom da se prvenstveno radi o verbalnom testu, koji ne obuhvata prostornu kalkulaciju, smatra se da je za njegovo rešavanje pre svega odgovorna leva hemisfera, a u manjoj meri i desna hemisfera, posebno frontalni režanj, jer se prostorni faktori ne mogu u potpunosti eliminisati (Chase et al. 1984, Pavlović 2003). Prema literaturnim podacima, bolesnici sa aMD1 imaju lošije rezultate na testu *Aritmetika* u odnosu na zdrave kontrole (Zalonić et al. 2010, Sistiaga et al. 2010). U kohorti koja je obuhvatala MD1 bolesnike sa početkom bolesti između 12. i 50. godine života, Winblad i sar. nalaze loše rezultate na ovom testu kod 41 % ispitanika (Winblad et al. 2006), a Angeard kod 53 % bolesnika sa paternalno nasleđenom jMD1 i 81 % sa maternalno nasleđenom jMD1 (Angeard et al. 2007). Ovo je u skladu sa našim rezultatima na testu *Aritmetika* koji su bili ispod norme kod 33 % bolesnika sa aMD1 i 57 % bolesnika sa jMD1.

Loše postignuća na MTS testu, koji meri odnos brzine i tačnosti, nađeno je kod 42 % obolelih. Naši MD1 bolesnici su imali bolje rezultate na ostalim testovima pažnje. Naime, 39% bolesnika je imalo postignuća ispod norme na TMT-A, kojim se meri jednostavno vizuelno konceptualno praćenje, a koji zavisi i od motorne brzine i koordinacije. Četvrtina bolesnika je imala skor ispod norme na testu *Šifra* kojim se meri vizuelna pažnja, a na koji ima uticaja i vizuomotorna koordinacija i vid. Generalno, pad postignuća na testu *Šifra* nema veliki lokalizacioni značaj, mada je pri rešavanju zadataka na funkcionalnim neurovizualizacionim metodama pokazana povećana potrošnja glukoze u zadnjim delovima mozga (Chase et al. 1984). Rezultati su u našoj kohorti bolesnika bili još bolji na subtestu *Brojevi*, kojim se određuje raspon verbalne pažnje, odnosno neposredno verbalno upamćivanje ili verbalna radna memorija, na kom je samo oko 14 % obolelih bilo ispod norme. Smatra se da je za ovaj test odgovorna prvenstveno

leva hemisfera, mada funkcionalne neurovizualizacione metode pokazuju povećanu potrošnju glukoze obostrano napred i dorzalno (Chase et al. 1984). Dakle, rezultati naše studije pokazuju izvestan stepen oštećenja vizuelne pažnje i urednu verbalnu pažnju što je zapravo samo odraz izražene vizuospacijalne disfunkcije u odnosu na osnovanu jezičnu funkciju.

Prema dosadašnjim ispitivanjima, rezultati na TMT-A su lošiji kod bolesnika sa MD1 u odnosu na kontrole (Meola et al. 2003, Zalonis et al. 2010) i ispad se registruje kod 61 - 71 % obolelih (Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2010). Prema jednoj studiji, rezultati na testu *Šifra* se ne razlikuju kod bolesnika i kontrola (Gaul et al. 2006), dok se prema drugoj studiji, uočava pad u odnosu na normu kod oko 58 % obolelih (Winblad et al. 2006). Kao i u našem istraživanju, uočava se manji deficit verbalne pažnje u odnosu na vizuelnu pažnju. Naime, kod MD1 bolesnika je naeno lošije postignuće na testu *Brojevi* u odnosu na zdrave kontrole, ali se procenat bolesnika sa ispadom kreće od 0 % do 45 % (Modoni et al. 2004, Antonini et al. 2006, Winblad et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Weber et al. 2010, Zalonis et al. 2010).

Oštećenje jezičke funkcije imenovanja otkriveno je kod skoro dve trećine naših bolesnika pomoću BNT, koji zavisi i od vizuelne percepcije, kako na nižim, tako i na višim nivoima obrade vizuelne informacije. Nasuprot našim rezultatima, Minnerop ne nalazi pad skora na BNT u grupi bolesnika sa MD1 u odnosu na zdrave kontrole (Minnerop et al. 2011), dok se u drugom istraživanju pad funkcije imenovanja registruje kod maksimalno petine obolelih (Modoni et al. 2004). Tokom starenja je zapažen pad funkcije imenovanja kod bolesnika sa MD1 (Modoni et al. 2008) što je u skladu sa našim rezultatom da bolesnici sa jMD1 imaju bolji rezultat na BNT u odnosu na aMD1.

Za testiranje verbalnog pamćenja u studiji je korišćen RAVLT na kom je 22 % bolesnika imalo postignuće ispod norme na neposrednom upamivanju, a 42 % obolelih na prepoznavanju. Test je najpre mera disfunkcije leve hemisfere, posebno levog temporalnog režnja, ali se ne može eliminisati ni upliv iz frontalnih oblasti (Pavlović et al. 2003). Neka od dosadašnjih istraživanja pokazuju da nema razlike na verbalnom neposrednom upamivanju kod bolesnika sa MD1 i kontrola (Antonini et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Weber et al. 2010), dok drugi nalaze pad ove funkcije u odnosu na kontrole (Zalonis et al. 2010), odnosno postignuće ispod norme kod 6 - 36% bolesnika (Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2010). Sli no tome, pojedini autori navode da bolesnici sa MD1 nisu lošiji od kontrola u verbalnom prisećanju

(Sistiaga et al. 2010, Weber et al. 2010, Minnerop et al. 2011), dok drugi pronalaze pad postignu a kod manje od tre ine obolelih (Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Winblad et al. 2010).

Vizuelno pam enje je testirano pomo u ROCF testa i testova iz baterije CANTAB, uklju uju i DMS, PAL, PRM i SRM. Ošte enje vizuelne memorije prema ROCF je na eno kod više od polovine obolelih što prevazilazi u ustalost ošte enja verbalne memorije. Loš rezultat na ROCF govori u prilog predominantnog ošte enja desne hemisfere, uklju uju i i frontalne režnjeve, ali se ne sme isklju iti ni uticaj leve hemisfere s obzirom na to da se informacije iz ROCF mogu kodirati i verbalno. Pored toga, zna ajno je napomenuti da je ve i broj bolesnika imao probleme sa kopiranjem ROCF, nego sa prise anjem ROCF, što ukazuje da je registrovano ošte enje u domenu vizuelne memorije verovatno posledica vizuospacijalnog i vizuokonstrukcionog deficita, a ne posledica lošeg pam enja. U skladu sa tim, pojedini istraživa i nisu pronašli razliku u postignu u na prise anju ROCF kod bolesnika sa MD1 i zdravih kontrola (Gaul et al. 2006, Sistiaga et al. 2010). U drugim studijama na en je lošiji nalaz kod bolesnika u odnosu na kontrole (Antonini et al. 2006, Zalonis et al. 2010), a pad skora u odnosu na norme je zapažen kod 23 - 80 % obolelih, zavisno od istraživanja (Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006). Oko polovina naših bolesnika je bilo ispod norme na odloženom sparivanju figura u DMS testu što ukazuje na disfunkciju medijalnih delova temporalnog režnja sa izvesnim uticajem frontalnog režnja (www.cantab.com). Preostali testovi (PAL, PRM i SRM) su bili manje senzitivni u otkrivanju ošte enja vizuelne memorije, registruju i je kod oko etvrtine bolesnika bez obzira na to da li su specifi niji za funkciju temporalnog režnja poput PAL i PRM testa, ili za disfunkciju frontalnog režnja poput SRM testa.

U zaklju ku, naše istraživanje pokazuje da kod bolesnika sa MD1 dominira egzekutivna i vizuospacijalna disfunkcija, uz mogućnost da egzekutivna disfunkcija dodatno pogoršava i prostorne sposobnosti. Opšti intelektualni nivo, pažnja i pam enje su posledično zna ajnije ošte eni u vizuelnom nego u verbalnom domenu. Kod zna ajnog procenta bolesnika registruje se i disnomija i problemi sa kalkulijom.

Prema našim rezultatima, jMD1 bolesnici se nisu zna ajno razlikovali u neuropsihološkim funkcijama u odnosu na obolele sa aMD1. To je u skladu sa ranijim navodima

u literaturi da kognitivni poremećaji u jMD1 odlikavaju nalaz kod bolesnika sa aMD1, te da jMD1 predstavlja kontinuum između u kMD1 i aMD1 (Meola et Sansone 2003).

Zapaženo je, međutim, da su bolesnici sa adultnom formom bolesti imali lošije skorove na Addenbrookeovom testu, pre svega zbog podtesta fluentnosti, kao i na BNT. S obzirom da je kohorta bolesnika sa aMD1 bila starija u odnosu na kohortu bolesnika sa jMD1, posredno se može zaključiti da je jezička disfunkcija u MD1 povezana sa starenjem. Modoni i sar. u prospektivnoj studiji nalaze pad u kategorijalnoj fluentnosti i imenovanju kod bolesnika sa MD1 tokom petogodišnjeg perioda praćenja (Modoni et al. 2008). U skladu sa tim je i izvestan pad postignut na testu opšteg intelektualnog nivoa u verbalnom domenu kod naših bolesnika sa aMD1 u odnosu na jMD1, dok je inteligencija u vizuelnom domenu bila slična i kod bolesnika sa jMD1 i kod bolesnika sa aMD1.

Zapazili smo da je u adultnoj formi bolesti skor na testu *Šifra* lošiji, dok se rezultati na ostalim testovima pažnje ne razlikuju u odnosu na jMD1. S druge strane, postignute na testu *Aritmetika* je bilo lošije u juvenilnoj formi bolesti što je u skladu sa prethodnim nalazima (Winblad et al. 2006, Angeard et al. 2007). To donekle objašnjava poznatu činjenicu da deca obolela od MD1 imaju veoma loše rezultate u školi (Douniol et al. 2009).

S obzirom da su se postignute u pojedinim testovima razlikovala kod jMD1 i aMD1, posebno smo analizirali uticaj pola, trajanja bolesti i stepena mišićne slabosti na neuropsihološke nalaze kod ove dve grupe bolesnika.

U obe grupe bolesnika smo zapazili razliku u pojedinim testovima prema polu. U prethodnim studijama ovakva veza nije pronađena (Winblad et al. 2006, Antonini et al. 2006, Tanaka et al. 2012).

Povezanost neuropsiholoških nalaza sa starošću u bolesnika i trajanjem bolesti ukazuje na progresiju kognitivnog ispada u vremenu. Kod bolesnika sa jMD1 uočili smo korelaciju neuropsiholoških rezultata sa trajanjem bolesti, a kod bolesnika sa aMD1 sa starošću. U obe forme bolesti, neuropsihološki nalazi su bili u vezi sa stepenom mišićne slabosti. U nekim studijama se ne uočava povezanost kognitivnog propadanja sa trajanjem bolesti i starošću (Rubinsztein et al. 1997, Antonini et al. 2006, Tanaka et al. 2012). S druge strane, pojedini istraživači i nalaze pad psihomotorne brzine sa starošću u kod bolesnika sa aMD1 (Weber et al. 2010), a drugi povezanost propadanja jezičkih i egzekutivnih funkcija sa starošću u tokom

petogodišnjeg perioda pra enja (Modoni et al. 2008). Sansone i sar. pored pogoršanja jezi kih i egzekutivnih funkcija nalaze i sve izraženiji deficit na pojedinim testovima memorije i pažnje tokom sedmogodišnjeg perioda pra enja (Sansone et al. 2007). Isti autori zaklju uju da bolest tokom vremena ne zahvata nove kognitivne funkcije (Sansone et al. 2007). I kod pojedinih jMD1 bolesnika je uo ena progresija kognitivnog pada sa vremenom (Steyaert et al. 1997).

Postavlja se pitanje da li korelacija stepena miši ne slabosti sa neuropsihologijom postoji zbog direktnog uticaja motorike na postignu e na testovima ili je povezanost posredna zbog paralelne progresije miši nog deficita i kognitivnog ispada sa vremenom. Najverovatnije da se radi o drugoj mogu nosti s obzirom da niko od naših bolesnika nije imao loše rezultate na MOT testu kojim se mere motorne performanse. Ranije je pokazano da se zna ajan kognitivni ispad registruje i kod bolesnika sa MD1 koji imaju samo blag do umeren miši ni deficit (Perini et al. 1999). Pojedine studije ne nalaze povezanost težine miši ne slabosti i kognitivnog funkcionisanja (Antonini et al. 2006, Sansone et al. 2007), dok neke referišu korelaciju izme u snage stiska šake i egzekutivnih funkcija (Tanaka et al. 2012).

U našoj studiji su prona ene zna ajne korelacije izme u pojedinih rezultata na neuropsihološkim testovima i broja CTG ponovaka u DMPK genu. Generalno je poznato da je ve i broj CTG ponovaka povezan sa težom klini kom slikom (Ashizawa et Sarkar 2011) i ranijim po etkom bolesti (Savi et al. 2002). Pored toga, postoji opšta korelacija kognitivnog statusa sa veli inom ekspanzije u mutiranom genu kada se posmatra ceo spektar bolesti. Naime, bolesnici sa kongenitalnom formom bolesti imaju preko 1000 ponovaka i tešku mentalnu retardaciju (Harper 2001, Ashizawa et Sarkar 2011), dok bolesnici sa adultnom formom bolesti imaju 50 do 1000 ponovaka i normalan koeficijent inteligencije uz specifi ne ispade pojedinih kognitivnih funkcija (Rubinsztein et al. 1997, Meola et al. 2003, Modoni et al. 2004, Winblad et al. 2006, Gaul et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Zalonis et al. 2010, Minnerop et al. 2011). U skladu sa tim, Modoni i sar. nalaze smanjenje opšteg intelektualnog nivoa, ošte enje egzekutivnih i jezi kih funkcija kod bolesnika sa preko 1000 ponovaka, prisustvo egzekutivne disfunkcije kod bolesnika sa 150 do 1000 ponovaka i prisustvo prvenstveno ošte enja memorije povezanog sa staroš u kod oligosimptomatskih bolesnika koji nose 50 do 150 ponovaka (Modoni et al. 2004). S druge strane, konkretne korelacije izme u nalaza specifi nih neuropsiholoških testova i broja CTG ponovaka su nekonzistentne.

U pojedinim studijama se uoava korelacija kognitivnog postignua sa velinom patološke ekspanzije u DMPK genu kod bolesnika sa aMD1 (Turnpenny et al. 1994, Rubinsztein et al. 1997, Perini et al. 1999, Winblad et al. 2006, Sistiaga et al. 2010, Tanaka et al. 2012). Sli na povezanost je zapažena i u jMD1 (Steyaert et al. 1997, Angeard et al. 2007, Ekström et al. 2008, Douniol et al. 2012), a smatra se i da je lošiji kognitivni status u maternalno nasleenoj jMD1 povezan sa velikim brojem ponovaka koji na potomstvo prenosi obolela majka u odnosu na obolelog oca (Douniol et al. 2009). Opservirane korelacije kognitivnog stanja i veline CTG ekspanzije su nepouzidane, jer neki od testova koji mere istu funkciju korelišu, dok drugi ne korelišu sa genetskom osnovom (Winblad et al. 2006). Pored toga, pojedini autori nisu uopšte našli povezanost broja ponovaka i neuropsiholoških nalaza (Meola et al. 2003, Modoni et al. 2004, Antonini et al. 2006, Modoni et al. 2008). Navodi se da kognitivni ispadi u MD1 nisu povezani sa velinom ekspanzije te da se mogu javiti u svakom stadijumu bolesti (Sistiaga et al. 2010). Ne treba zanemariti ni metodološke razlike me u studijama, kao i velinu ispitivanih kohorti i kategorije bolesnika koje su u njih ukljuene, jer se mogu odraziti na raznolikost dobijenih rezultata (Winblad et al. 2006). Pored toga, somatski mozaicizam može uticati na izostanak korelacija. Naime, broj CTG ponovaka se rutinski određuje u uzorcima periferne krvi, a poznato je da je on veći u korteksu velikog mozga nego u limfocitima (Ashizawa et al. 1993, Ishii et al. 1996, Botta et al. 2008). Od velike je važnosti i činjenica da korelacija između CTG ponovaka i neuropsihologije nije ista, već se na nju indirektno može odraziti i povezanost veline ekspanzije sa mnogobrojnim znakovima multisistemske afekcije koji mogu imati uticaja na kogniciju.

5.4. Psihijatrijsko ispitivanje

5.4.1. Anksioznost i depresivnost

Dosadašnje studije pokazuju kontroverzne rezultate o prevalenciji depresivnosti i anksioznosti kod bolesnika sa MD1 (Brumback et Carlson 1983, Bungener et al. 1998, Meola et al. 2003, Antonini et al. 2006, Kalkman et al. 2007, Perini et al. 2010, Winblad et al. 2010). Pored toga, ostaje nejasno da li depresivnost i anksioznost predstavljaju samo reakciju na hroničnu i progresivnu bolest ili su poremećaji *per se* uzrokovani direktnim zahvatanjem centralnog nervnog

sistema u MD1. U svakom slučaju, adekvatno dijagnostikovanje poremećaja raspoloženja otvara nove mogućnosti u terapiji za sada neizlečivog oboljenja kakvo je MD1 (Antonini et al. 2006, Winblad et al. 2010, Douniol et al. 2012). Smatra se da odgovarajuća psihoterapija, bihevioralna i socijalna intervencija, kao i farmakološki tretman mogu znatno poboljšati kvalitet života ovih bolesnika (Antonini et al. 2006, Peri et al. 2013).

U našoj studiji značajna depresivnost je registrovana kod petine bolesnika sa aMD1, a značajna anksioznost kod 16 % obolelih. Pojedini autori navode da uestalost poremećaja raspoloženja nije veća kod bolesnika sa MD1 nego u zdravoj populaciji (Kalkman et al. 2007) ili u drugim neuromišićnim bolestima koje ne zahvataju mozak direktno (Winblad et al. 2005, Kalkman et al. 2007, Winblad et al. 2010). U studiji Winblada i sar. depresija je naena kod trećine bolesnika sa MD1 i bila je blagog do umerenog stepena (Winblad et al. 2010). Slična uestalost je naena i u grupi bolesnika sa drugim neuromišićnim bolestima (Winblad et al. 2010). U opštoj populaciji mlađoj od 65 godina depresija se javlja kod 12 % žena i 8 % muškaraca u razvijenim zemljama (Pavlović 2011). S druge strane, Kalkman i sar. su pronašli psihijatrijske poremećaje (mahom depresivnost i fobije) kod trećine svojih bolesnika sa MD1 tokom života, što je slično u estalosti u drugim neuromišićnim bolestima i čak nešto manje nego u opštoj holandskoj populaciji (Kalkman et al. 2007).

U nekoliko istraživanja kod bolesnika sa MD1 se uočava značajna depresivnost, koja prevazilazi uestalost u zdravoj populaciji (Brumback et al. 1983, Antonini et al. 2006, Weber et al. 2010, Minnerop et al. 2011), ali i uestalost u drugim neuromišićnim bolestima (Rubinsztein et al. 1997, Rubinsztein et al. 1998, Peri et al. 2010). Antonini i sar. nalaze blagu depresiju kod polovine obolelih a značajnu anksioznost kod 40 % bolesnika sa MD1, ali su koristili znatno blaže kriterijume od onih u našem istraživanju (Antonini et al. 2006). Čak i kada se registruju simptomi depresije i anksioznosti, niko od bolesnika sa MD1 ne ispunjava kriterijume za veliku depresiju (Duveneck et al. 1986, Franzese et al. 1991, Colombo et al. 1992, Bungener et al. 1998), niti za bilo koji od psihijatrijskih poremećaja iz osovine I prema DSM IV klasifikaciji (Meola et al. 2003). Najverovatniji uzrok toga je izraženija somatska u odnosu na kognitivno-emocionalnu dimenziju depresije (Winblad et al. 2010). Dakle, klinička slika depresivnosti u MD1 je atipična i podrazumeva somatske i centralne simptome povezane sa samom primarnom bolešću, uključujući i usporenost, apatiju, smanjenje inicijative, lošu samoprocenu, iritabilnost i zamor (Meola et al. 2003, Winblad et al. 2010), ali i probleme u socijalnim interakcijama

(Franzese et al. 1991). Mogu e je da su poreme aji raspoloženja u MD1 precenjeni s obzirom da ovi bolesnici ostavljaju takav utisak zbog semiptoze, miopatskog izraza lica i dizartrije, kao i zbog simptoma i znakova multisistemske afekcije, koji se prepli u sa klini kom slikom depresije. U pažljivom psihijatrijskom intervjuu sa našim bolesnicima, ova mogu nost je svedena na minimum te je zato u estalost depresije u našoj kohorti relativno niska.

Naj eš i psihijatrijski poreme aji kod dece sa MD1 su iz osovine I prema DSM IV i sre u se kod ak dve tre ine obolelih (Steyaert et al. 1997, Goosens et al. 2000, Douniol et al. 2009, Douniol et al. 2012). Me u njima se izdvaja hiperaktivni poreme aj sa deficitom pažnje (ADHD), prisutan kod oko tre ine bolesnika. Kod bolesnika sa MD1 naj eš e se javlja tip ADHD u kom dominira deficit pažnje, nešto re e se vi a impulsivnost i pospanost, a hiperaktivnost se prakti no ne registruje (Steyaert et al. 1997, Goosens et al. 2000, Steyaert et al. 2000, Echenne et al. 2008, Douniol et al. 2012). Kod oko etvrtine bolesnika se nalaze anksiozni poreme aji, naj eš e fobije, generalizovani anksiozni poreme aj i separaciona anksioznost (Steyaert et al. 1997, Goosens et al. 2000, Douniol et al. 2009, Douniol et al. 2012). Pored toga, Douniol i sar. nalaze poreme aje raspoloženja, poput velike depresije i distimije, kao i *poreme aj protivljenja i prkosa* kod oko petine bolesnika (Douniol et al. 2012). U samo jednoj studiji se nalazi zna ajna u estalost poreme aja iz spektra autizma (Ekström et al. 2008) što se može objasniti injenicom da je grupa ispitanika bila heterogena, sastavljena od bolesnika sa kMD1 i jMD.

Mogu e je da ADHD i anksiozni poreme aj u jMD1 predstavljaju suprotne ta ke jednog istog kontinuuma. Interesantno je da se sindrom fragilnog X, koji je tako e bolest trinukleotidnih ponovaka, ispoljava kao autizam kod osoba muškog pola, a kao socijalna anksioznost kod osoba ženskog pola. Meola navodi da ADHD predškolske dece sa MD1 prelazi u anksioznost u školskom uzrastu (Meola et Sansone 2007). Me utim, depresivnost je u našoj grupi bolesnika registrovana samo kod 4 % bolesnika sa jMD1, dok zna ajna anksioznost nije zapažena. Mogu e je da koriš eni instrumenti nisu dovoljno osetljivi da prepoznaju vrstu i stepen specifi nih ispada u jMD1. Naime, psihijatrijski simptomi u jMD1 mogu biti direktno ili indirektno povezani sa prekomernom pospanoš u i generalno *sporijim kognitivnim tempom* (Douniol et al. 2009). Pored toga, anksioznost vidljiva u detinjstvu može da preraste u neki od poreme aja li nosti (Douniol et al. 2009).

Smatra se da na pojavu depresije generalno utiču u genetski, razvojni i sredinski faktori (Mayberg et al. 2005). Shodno tome, depresivnost u MD1 može biti direktna posledica molekularno-genetskog defekta, ali i adaptacije na hroničnu i progresivnu bolest, uz potencijalni uticaj dodatnih faktora poput lošeg postignuća u školi i na poslu, slabih socijalnih interakcija, velike učestalosti razvoda (Bungener et al. 1998, Meola et al. 2003, Antonini et al. 2006, Douniol et al. 2009, Winblad et al. 2010, Douniol et al. 2012). Da bismo razjasnili ove pretpostavke, analizirali smo uticaj sociodemografskih, kliničkih i genetskih parametara na depresivnost i anksioznost kod bolesnika sa obe forme MD1.

U jMD1 nismo identifikovali nijedan parametar povezan sa anksioznošću u što se može objasniti činjenicom da značajna anksioznost u ovoj grupi bolesnika nije ni identifikovana. S druge strane, depresivnost je bila izraženija sa dužim trajanjem bolesti, kao i kod penzionisanih bolesnika, dok prediktivni značaj dužine ekspanzije CTG ponovaka nije uočena. Slično tome, prethodni autori ne nalaze povezanost broja ponovaka sa psihijatrijskim poremećajima u jMD1 (Steyaert et al. 1997, Goosens et al. 2000, Douniol et al. 2012). Duže trajanje bolesti verovatno dovodi do iscrpljivanja mehanizama suočavanja sa istom, ali i do progresije simptoma multisistemske afekcije koji posredno ili neposredno mogu uticati i na mozak. Prevrnuto penzionisanje negativno utiče na socijalne kontakte, ekonomsku dobit, kao i mišljenje o samom sebi, a donekle je povezano i sa težim stadijumom bolesti. Verovatno svi navedeni mehanizmi zajedno vode pojavi depresivnosti u jMD1.

Kao jedini prediktor veće stepena depresivnosti i anksioznosti u aMD1, identifikovana je starost bolesnika. U prilog tome ide i podatak da su kod bolesnika sa aMD1 uočeni izraženiji poremećaji raspoloženja u odnosu na bolesnike sa jMD, a ove dve kohorte bolesnika su se jedino razlikovale po starosti. Veličina CTG ekspanzije nije bila značajan prediktor premećaja raspoloženja. Ispitivani faktori objašnjavaju samo 10 - 20 % varijabilnosti Hamiltonovih skorova te je jasno da analizom nisu obuhvaćeni svi značajni parametri.

U prethodnim studijama nije uočena povezanost depresivnosti sa polom, težinom mišićnog deficita i brojem CTG ponovaka (Brumback et al. 1983, Winblad et al. 2010), što odgovara i našim nalazima. U studiji Antoninija i sar. uočena je pozitivna korelacija anksioznosti i trajanja bolesti (Antonini et al. 2006). Nasuprot tome, kod bolesnika sa MD1 nije uočena povezanost depresivnosti sa starošću bolesnika, dok je čak i kraće trajanje bolesti bilo u korelaciji sa težim stepenom depresivnosti (Winblad et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Ovakav nalaz je

objašnjen time da bolesnici na početku bolesti verovatno reaguju emotivnije, dok vremenom razvijaju dobru strategiju suočavanja sa bolešću i umanjuju svoja životna otežavanja (Winblad et al. 2010). U skladu sa tim, moguće je da je manji stepen anksioznosti i depresivnosti kod naših bolesnika sa jMD1 uzrokovan time da se ovi bolesnici od detinjstva i rane mladosti suočavaju sa teškoćama povezanim sa bolešću. S druge strane, kod bolesnika sa aMD1 bolest se javlja u najproduktivnijim godinama života dovodeći do frustracije zbog nemogućnosti realizacije ranije postavljenih ciljeva.

Poznato je da se kod bolesnika sa depresijom javljaju kognitivni ispadi, koji su najčešće blagog stepena, a obuhvataju izmene na polju pažnje, egzekutivnih funkcija, pamćenja, učenja i psihomotorne brzine (Pavlović 2011). U našoj studiji nije utvrđena povezanost kognitivnog i emotivnog poremećaja kod bolesnika sa jMD1, dok su u grupi bolesnika sa aMD1 utvrđene brojne korelacije. Izostanak korelacije u grupi bolesnika sa juvenilnom formom bolesti verovatno je uslovljen malim procentom poremećaja raspoloženja. U prethodnim studijama obično nije ispitivana povezanost ova dva poremećaja u MD1, ali u malobrojnim studijama koje su je analizirale, ona nije utvrđena (Steyaert et al. 1997, Goosens et al. 2000, Zalonis et al. 2010, Minnerop et al. 2011)

S obzirom na to da je učestalost depresivnosti i anksioznosti u aMD1 bila znatno manja nego zastupljenost kognitivnog deficita, isključeno je moguće da poremećaji raspoloženja značajnije utiču na neuropsihološko postignuće. Najverovatnije se radi o zahvatanju određenih moždanih struktura koje daju funkcionalne ispade i u kognitivnom i u psihijatrijskom domenu. Na primer, neki istraživači primaju da se kod bolesnika sa jMD1 poremećaji iz osovine I prema DSM IV, zapravo preklapaju sa kognitivnim i bihevioralnim poremećajima, uključujući deficit pažnje, psihomotornu usporenost, aleksitimiju, nemogućnost prepoznavanja svojih i tuđih emocija, pospanost i zamor (Douniol et al. 2012). Slične korelacije su, naravno, moguće i kod bolesnika sa aMD1 o čemu govore i naši rezultati. Pored toga, izvesno je da na afektivni status bolesnika mogu da se odraze i neki specifični poremećaji, poput neadekvatne teorije uma, odnosno nemogućnosti shvatanja tuđeg mentalnog statusa (Kobayakawa et al. 2012), lošijeg reagovanja na lice koje eksplicira emocije gađenja i besa (Kobayakawa et al. 2010), smanjenje osećaja zadovoljstva na prijatne mirise (Masaoka et al. 2011) i sl.

5.4.2. Poreme aji li nosti

Još u prvim opisima MD1 navode se određene promene li nosti. Bolesnici se karakterišu kao iritabilni, svadljivi, egocentrični, apatični, sumnjičavi, nepoverljivi (Adie et al. 1923). U poslednjih tridesetak godina objavljeno je nekoliko istraživanja poremećaja li nosti kod bolesnika sa MD1, ali su rezultati heterogeni. Nalazi se izbegavajući, zavisni, depresivni, hipohondrični, opsesivno-kompulsivni, pasivno-agresivni i agresivno-sadistički obrazac li nosti, a ima opisa i bolesnika sa paranoidnim, shizotipičnim i shizoidnim crtama li nosti (Bird et al. 1983, Palmer et al. 1994, Delaporte 1998, Meola et al. 2003, Sistiaga et al. 2010). Još uvek nije poznato da li su ovi poremećaji posledica samog oštećenja mozga ili prilagođavanja na tešku mišićnu i multisistemska bolest. Pretpostavlja se da poremećaj li nosti može dovesti do problema u socijalnom funkcionisanju i svakodnevnom životu bolesnika sa MD1 odražavajući i se na njihov kvalitet života (Meola et Sansone 2007).

S obzirom da u našoj studiji kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 nije bilo razlika u skorovima na MMCI, dalja analiza je vršena na kohorti koja je uključivala obe forme bolesti. Prisustvo barem jedne patološke crte li nosti na jednoj je kod tri četvrtine bolesnika sa MD1, dok je 60 % njih imalo klinički relevantan poremećaj li nosti. Prema dosadašnjim istraživanjima uestalost poremećaja li nosti kod bolesnika sa MD1 kreće se od 20 % do 64 % (Bird et al. 1983, Brumback et al. 1984, Delaporte 1998, Winblad et al. 2005), dok samo u jednoj studiji značajan poremećaj li nosti nije uopšte evidentiran (Meola et al. 2003). Uestalost poremećaja li nosti u opštoj populaciji od 6 % (Huang et al 2009) je daleko ispod zastupljenosti kod bolesnika sa MD1.

Iako je većina naših bolesnika imala povećane skorove na dve ili više skala, u rezultatima su dominirali skorovi na zavisnoj i paranoidnoj skali. Pored toga, najčešći klinički simptomi su bili anksioznost, koja je inače udružena sa zavisnim poremećajem li nosti, i sumanute ideje, koje su udružene sa paranoidnim poremećajem li nosti (Millon 1983). Samo zavisne crte li nosti su pronađene kod gotovo trećine bolesnika, samo paranoidne kod 16 %, a oba poremećaja kod skoro četvrtine obolelih od MD1. U opštoj populaciji prevalencija zavisne li nosti je oko 0,5 %, a paranoidne li nosti od 0,5 % do 2,5 % (Widiger 2012).

Na prvi pogled čini se nelogično da se u istoj grupi bolesnika, čak i kod pojedinačno obolelog, registruju zavisni i paranoidni poremećaji koji su naizgled potpuno različiti i čak ni ne pripadaju istom klasteru. Međutim, dve iste glavne komponente se nalaze u osnovi oba ova

poreme aja - strah za sopstvenu li nost i strah od odbacivanja (Widiger et al. 1997, Millon 1983). Koren straha za sopstveno *ja* kod bolesnika sa zavisnim crtama nalazi se u ose aju li neadekvatnosti i bespomnosti, dok se kod bolesnika sa paranoidnim crtama nalazi u ose aju prekomerne sopstvene važnosti što može biti odbrambeni mehanizam na fizi ki deformišu u i onesposobljavaju u bolest. Strah od napuštanja manifestuje se kao separaciona anksioznost kod bolesnika sa zavisnim poreme ajem li nosti, te su oni potpuno pot injeni jakoj zaštitni koj figuri i u slu aju prekida bliske veze, ishitreno traže novu kao izvor podrške. Sa druge strane, strah od napuštanja se kod bolesnika sa paranoidnim poreme ajem li nosti manifestuje kao *anksioznost vezivanja*, pa su ovi bolesnici sumnji avi i nepoverljivi prema drugima, misle da su u stalnoj opasnosti i mogu biti preosetljivi i neprijateljski nastrojeni u me uljudskim odnosima.

Iako se prethodne studije dosta dobro slažu u pogledu u ustalosti poreme aja li nosti u MD1, postoji diskrepanca o tome koji tip poreme aja je naj eš i. Delaporte prime uje da uzrok tome može biti upotreba razli itih upitnika, ali da se svakako svi poreme aji li nosti grupišu u anksiozni (izbegavaju a, zavisna, opsesivno-kompulsivna li nost) ili ekscentri ni klaster (paranoidna, shizotipi na, shizoidna li nost) (Delaporte 1998), što je u skladu sa našim nalazima.

Delaporte naj eš e nalazi izbegavaju i poreme aj li nosti sa slede im karakteristikama obolelih: stalna briga da e biti odba eni, preosetljivost na kritiku i teško e u komunikaciji (Delaporte 1998). U studiji Meolae i sar. tako e se nalazi zna ajna izbegavaju a crta li nosti u ponašanju, a opisano je da se bolesnici ose aju neadekvatno i neprivla no, da imaju strah da budu odba eni ili da drugi sude o njima, što vodi u socijalnu inhibiciju i neadekvatnost u odnosima sa drugim ljudima (Meola et al. 2003). I u drugim studijama se zapaža da bolesnici sa MD1 imaju lošu samoprocenu i neadekvatno socijalno prilago avanje, uz prekomernu brigu za somatsko zdravlje i este znake depresije (Bird et al. 1983, Franzese et al. 1991, Palmer et al. 1994). Sli ne osobine imaju i naši bolesnici sa zavisnim crtama li nosti, a tako e smo pronašli i visoke skorove na skalama somatizacije, hipohondrije i distimije.

Analiza temperamenta i karaktera u MD1 pokazala je da ovi bolesnici imaju tendenciju da neobi no esto izbegavaju situacije koje im potencijalno mogu naneti štetu, te da imaju smanjenju istrajnost i lošu saradnju sa drugima (Winblad et al. 2005). Ovo dalje vodi pojavi introvertovane osobe sa lošim samopoštovanjem, izraženim zamaranjem i smanjenom energijom (Winblad et al. 2005). Brumback i sar. kod bolesnika sa MD1 nalaze negativnu samoprocenu,

introvertnost, ose aj da su nesre ni u svakom domenu i ograni enu sposobnost izražavanja ose anja, uz retke shizofrene ispade (Brumback et al. 1984). Crte li nosti iz ekscentri nog klastera uo ene su i u drugim studijama, uklju uju i teško e u izražavanju toplih emocija, izraženu kognitivnu rigidnost, nepoverljivost, odsustvo bliskih prijatelja i svadljivost (Delaporte 1998). Najve a studija o poreme ajima li nosti u MD1 utvrdila je predominaciju dva ekscentri na tipa li nosti kod 121 ispitanika (Sistiaga et al. 2010). Naime, na en je agresivno-sadisti ki obrazac li nosti koji karakteriše rigiditet, neprijatnost u komunikaciji, stalna kompeticija sa drugima, podlost, eksplozivnost, iritabilnost, nepoverljivost, nezavisnost (Sistiaga et al. 2010). Pored toga, uo en je i paranoidni obrazac sa mentalnom rigidnoš u, ljubomorom i sumji avoš u kao dominantnim crtama (Sistiaga et al. 2010).

Uzimaju i u obzir i naše i literaturne podatke (Bird et al. 1983, Brumback et al. 1984, Franzese et al. 1991, Palmer et al. 1994, Delaporte et al. 1998, Meola et al. 2003, Sistiaga et al. 2010), kod bolesnika sa MD1 dominiraju dva obrasca li nosti: anksiozni i ekscentri ni. Anksioznu li nost karakteriše slabo samopoštovanje, socijalna inhibicija i ose aj nesre e, dok su bolesnici sa ekscentri nim poreme ajem hostilni, rigidni, nepoverljivi i bez bliskih prijatelja. Ponekad se oba poreme aja mogu sresti kod iste osobe, kakav je slu aj i u našoj kohorti. Pretpostavljamo da bolesnici sa MD1 mogu da ispolje anksioznu stranu svoje li nosti u odnosu prema negovatelju (roditelju, partneru, detetu, lekaru), dok se ekscentri na strana dominantno ispoljava u odnosu sa strancima (ljudima koje sre u u školi, na poslu, u slobodno vreme, na ulici i sl).

Pojedini autori smatraju da poreme aji li nosti u MD1 nastaju kao posledica lošeg prilago avanja na deformišu u i onesposobljavaju u neuromiši nu bolest (Bird et al. 1983, Palmer et al. 1994). Me utim, neke studije pokazuju da je poreme aj li nosti u MD1 relativno nezavisan od stepena miši ne slabosti (Brumback et al. 1984, Delaporte 1998), te da je posledica primarne zahva enosti mozga u MD1 (Delaporte 1998). Naši rezultati su u skladu sa ovom pretpostavkom, jer smo našli povezanost zavisnog i paranoidnog poreme aja li nosti sa lošijim intelektualnim kapacitetom (uklju uju i niži skor na RSPM, niži nivo edukacije i bavljenje fizi kim u odnosu na intelektualni posao). Pored toga, sa paranoidnim crtama li nosti korelisala je i veli ina CTG ekspanzije kod naših bolesnika. Sistiaga i sar. tako e nalaze ovu povezanost (Sistiaga et al. 2010). Winblad i sar. kod bolesnika sa MD1 nalaze promene i u domenu temperamenta, za koji se smatra da je u velikoj meri nasledna karakteristika, i u domenu

karaktera, koji je slabo povezan sa nasleđivanjem, a više zavisan od socijalnog učenja (Winblad et al. 2005). Stoga sledi da je profil ličnosti u MD1 posledica genetski uslovljenog moždanog oštećenja, ali i nemogućnosti prilagodavanja na onesposobljavajuću bolest.

Očigledno je da i zavisni i paranoidni poremećaji vode problemima u socijalnim odnosima sa posledicom izolacijom. Ovo svakako utiče na mnogobrojne oblasti života, uključujući i funkcionisanje u porodici, na poslu i u slobodnim aktivnostima (Delaporte et al. 1998, Meola et al. 2003). Loš efekat poremećaja ličnosti na svakodnevni život uočava se i kod naših bolesnika, jer je čak polovina njih bila bez partnera, a isti procenat je bio nezaposlen iako su imali u proseku samo 43 godine.

5.5. Pospanost i zamor

Kod bolesnika sa MD1 pospanost se prvi put navodi još u najranijim opisima bolesti. Ovi bolesnici često odaju utisak pospanosti i zamora zbog prisustva semiptoze, miopatskog izražavanja i dizatrije (Phillips et al. 1999). Međutim, i kada se koriste objektivnije mere, prekomerna dnevna pospanost je čest pratilac MD1 i navodi se čak kao najčešći i nemišljen znak bolesti (Hilton-Jones 1997), koji se može javiti i pre postavljanja dijagnoze MD1, pa čak i kao njen prvi simptom (Rubinsztein et al. 1998). Pored toga, patološki zamor koji predstavlja neizdrživi osećaj umora, gubitka energije i iscrpljenosti, koja prevazilazi mišićnu slabost, javlja se češće u MD1 nego u drugim neuromišićnim bolestima, i to čak i kod blage mišićne slabosti (Kalkman et al. 2005).

Uestalost prekomerne dnevne pospanosti (PDP) u grupi bolesnika sa jMD1 je iznosila 23 % ako se meri pomoću ESS (*Epworth Sleepiness Scale*) i 41 % ako se meri pomoću DSS (*Daytime Sleepiness Scale*). Slična diskrepanca se uočava i kod bolesnika sa aMD1 gde je prekomerna pospanost bila zastupljena kod 14 % obolelih ako se meri pomoću ESS, odnosno kod 45 % ako se meri pomoću DSS. Uzrok tome je da ESS nije dovoljno specifična mera za određivanje pospanosti u MD1 (Laberge et al. 2005). Naime, ova skala je pre svega namenjena za merenje PDP kod narkolepsije sa ciljanim pitanjima o pospanosti u toku aktivnosti, koja, inače, nije tipična za MD1. Stoga je razvijen DSS, specifični upitnik za merenje PDP u MD1 (Laberge et al. 2004, Laberge et al. 2005). Korišćenjem ESS utvrđeno je da je u grupi bolesnika sa MD1 stepen PDP sličan kao kod Charcot-Marie-Toothove bolesti, a znatno veći nego kod zdravih kontrola (Phillips et al. 1999). Rubinsztein i sar. su takođe analizirali PDP kod bolesnika

sa MD1, uključujući i određeni procenat onih sa juvenilnom formom, u poređenju sa bolesnicima sa Charcot-Marie-Toothovom bolešću (Rubinsztein et al. 1998). Uestalost pospanosti u MD1 je bila 39 % i prevazilazila je zastupljenost PDP u opštoj populaciji od oko 4 %, dok niko od kontrolne grupe bolesnika nije imao PDP.

Ako se koristi ESS, uestalost PDP u MD1 se kreće od 11 % do 31 % (Laberge et al. 2009, Zalonis et al. 2010, Yu et al. 2011, Romigi et al. 2011). Korišćenjem DSS, pospanost se obično registruje kod jedne do dve trećine bolesnika sa MD1 (Laberge et al. 2004, Winblad et al. 2006, Laberge et al. 2009, Minnerop et al. 2011) što odgovara našem nalazu od 45 % bolesnika sa aMD1 koji imaju PDP. U studiji koja je uključila i bolesnike sa jMD1 i aMD1 zastupljenost PDP je bila 39 % (Laberge et al. 2004), dok je u drugom istraživanju PDP pronađena kod 52 % bolesnika sa de jure formom MD1 (Quera Salva et al. 2006). Ovo odgovara našem nalazu od 41% obolelih sa jMD1 i PDP.

Uestalost zamora iznosila je 64 % kod bolesnika sa aMD1 i 23 % kod bolesnika sa jMD1. U dosadašnjim istraživanjima procenat osoba sa MD1 i zamorom kreće se od 60 % do 86% (Kalkman et al. 2005, Winblad et al. 2006, Gagnon et al. 2008, Laberge et al. 2009, Minnerop et al. 2011, Tieleman et al. 2011) što u potpunosti odgovara našim nalazima. S druge strane, u jednoj studiji koja je ispitala zastupljenost zamora u de jure formi MD1, on je pronađen čak kod 76 % obolelih (Quera Salva et al. 2006) što značajno prevazilazi naš nalaz od 23 %. Treba imati na umu da u navedenom istraživanju nije korišćen standardizovani upitnik, već su bolesnici u slobodnom kliničkom intervjuu ispitivani da li imaju zamor.

S obzirom da je zamor bio znatno češći kod bolesnika sa aMD1, a da je jedini parametar po kom se naši bolesnici sa aMD1 razlikuju od bolesnika sa jMD1, njihova starost, posredno se može zaključiti da starenje može imati izvestan uticaj na pogoršanje stepena zamora. Ipak, zamor se ne smatra posledicom normalnog starenja (Kalkman et al. 2005), a u našoj studiji, kao ni u prethodnim nije uočena direktna korelacija između zamora i starosti bolesnika sa MD1 (Kalkman et al. 2005, Kalkman et al. 2007, Laberge et al. 2009, Minnerop et al. 2011).

Iako je u našoj studiji pokazana jasna povezanost zamora i PDP, ipak je gotovo trećina bolesnika imala samo zamor ili samo pospanost što ukazuje da se radi o odvojenim entitetima. Naime, u nekoliko prethodnih istraživanja nije nađena povezanost PDP i zamora u MD1 (Rubinsztein et al. 1998, van der Werf et al. 2003), dok Laberge i sar. navode da se ova dva entiteta često, ali ne uvek, javljaju zajedno, te da se radi o povezanim, ali, ipak, različitim

poreme ajima (Laberge et al. 2009). Mogu e je da su PDP i zamor uzrokovani istim primarnim poreme ajima.

Smatra se da PDP i zamor u MD1 nastaju najverovatnije zbog poreme aja spavanja, koji su naj eš e uzrokovani centralnim mehanizmima, a re e i perifernim faktorima. Naime, MD1 primarno zahvata centralni nervni sistem, uklju uju i i regije odgovorne za kontrolu spavanja (Park et Radtke 1995, Ono et al. 1995, Ono et al. 1998, Rubinsztein et al. 1998, Quera Salva et al. 2006, Romigi et al. 2011). Prisustvo pospanosti u MD1 je povezano sa patohistološki dokazanim ošte enjem u jedrima moždanog stabla poput *nc. raphe*, gornjeg centralnog jedra, *nc. arcuatusa* i jedara pontine i medularne retikularne formacije (Ono et al. 1995, Ono et al. 1996, Ono et al. 1998, Ono et al. 2001). U prilog centralnom poreme aju ide i nalaz smanjenog nivoa hipokretina 1 u likvoru bolesnika sa MD1 (Martínez-Rodríguez et al. 2003), ali ovaj nalaz nije potvr en u kasnijoj studiji (Ciafaloni et al. 2008). Zna ajni periferni mehanizmi u nastanku poreme aja spavanja se ispoljavaju tek u uznapredovalim stadijumima bolesti kad slabost orofarinksa i respiratorne muskulature po ne da daje apneje u spavanju sa poslednim no nim hipoventilacijama (Cirignotta et al. 1987). Ne treba isklju iti ni mogu nost uticaja drugih faktora, jer je pokazano da se zamor može javiti i kod bolesnika bez poreme aja spavanja (Quera Salva et al. 2006). Na prisustvo zamora i PDP direktan uticaj mogu imati i slabosti miši a, respiratorne smetnje i poreme aji raspoloženja (Phillips et al. 1999).

U našem istraživanju nije prona ena povezanost zamora i PDP sa polom i staroš u bolesnika, trajanjem i težinom bolesti, brojem CTG ponovaka, niti sa depresivnoš u i anksioznoš u. Ovi rezultati pokazuju da nismo identifikovali zna ajne prediktore zamora i PDP u MD1, tj. da se oni mogu javiti u bilo kom stadijumu bolesti i bez obzira na psihijatrijske probleme. Donekle sli ni rezultati su na eni u velikom broju studija (Rubinsztein et al. 1998, Phillips et al. 1999, Laberge et al. 2004, Kalkman et al. 2005, Kalkman et al. 2007), mada ima i onih koje nalaze izvesnu povezanost zamora sa stepenom miši ne slabosti, brojem CTG ponovaka i depresivnoš u (Laberge et al. 2009), kao i povezanost prekomerne dnevne pospanosti sa stepenom miši ne slabosti (Hilton-Jones 1997, Rubinsztein et al. 1998, Phillips et al. 1999, Laberge et al. 2004, Laberge et al. 2009), brojem CTG ponovaka (Laberge et al. 2009) i depresivnoš u (Phillips et al. 1999, Laberge et al. 2009, Minnerop et al. 2011). Mnogi bolesnici smatraju da fizi ka aktivnost pogoršava zamor te se zato povla e iz aktivnosti što posledni no može da dovede do pojave depresije (Laberge et al. 2009). Iako nema neposredne povezanosti

PDP sa staroš u bolesnika, Romigi i sar. navode da poreme aji spavanja koji se nalaze kod bolesnika sa MD1 odgovaraju nalazu kod zdravih starih ljudi te da oni predstavljaju još jedan dokaz da je MD1 bolest prevremenog starenja mozga (Romigi et al. 2011).

S obzirom da ima indicija da fragmentacija spavanja može dovesti do pojave kognitivnih poreme aja, a naro ito egzekutivne disfunkcije (Beebe et al. 2003), analizirali smo uticaj PDP i zamora na rezultate na neuropsihološkim testovima kod naših bolesnika sa MD1. Pronašli smo nekoliko zna ajnih korelacija PDP i zamora sa testovima koji mere funkciju pažnje i pam enja, naj eš e vizuospacijalnog. Mogu e je da pospanost i zamor dovode do smanjene koncentracije te samim tim i loših rezultata na navedenim testovima. S druge strane, dosadašnja istraživanja ne pronalaze korelaciju PDP i zamora sa neuropsihološkim postignu em bolesnika sa MD1 (Phillips et al. 1999, Zalonis et al. 2010).

Otkrivanje i tretman zamora i pospanosti kod bolesnika sa MD1 je od velikog zna aja za kvalitet života obolelog, ali i za bezbednost samog bolesnika i ljudi u njegovom okruženju. Ovo se pre svega odnosi na bezbednost u saobra aju, u radu sa mehanizacijom, kao i drugim poslovima koji zahtevaju stalnu pažnju (Phillips et al. 1999). Pokušaji le enja se zasnivaju na traženju uzroka simptomatskih poreme aja spavanja u smislu operacije tonzila i adenoida radi smanjenja opstrukcije disajnih puteva, dentalnog zdravlja i ortognacije, kao i merenja nivoa gvož a i feritina s obzirom da su kod bolesnika sa jMD1 i aMD1 esti periodi ni pokreti ekstremiteta u spavanju (Quera Salva et al. 2006, Romigi et al. 2011, Yu et al. 2011). Pored toga, može se pokušati sa vežbanjem manjeg intenziteta, kognitivnom terapijom, le enjem udružene depresije i kontrolom faktora rizika poput gojaznosti, loše ishrane i neaktivnosti (Lou 2011). Hipersomnija bi se mogla tretirati psihostimulativnim lekovima poput modafinila koji se u dozi od 200 do 400 mg na dan pokazao kao dobra opcija za le enje pospanosti u MD1 u nekoliko studija (Damian et al. 2001, MacDonald et al. 2002, Talbot et al. 2003, Wintzen et al. 2007, Hilton-Jones et al. 2012). Ipak, Cochrane-ov pregled pokazuje da je sadašnji nivo znanja nedovoljan da se dâ kona na preporuka o upotrebi psihostimulanasa kod bolesnika sa MD1 (Annane et al. 2006). Pored toga, može se pokušati sa primenom kreatin monohidrata, koenzima Q10 i alfa lipoinske kiseline (Lou et al. 2011).

5.6. MR mozga kod bolesnika sa MD1

Na patohistološkim preparatima moždanog tkiva bolesnika sa MD1 uo avaju se promene i u sivoj i u beloj masi. Nalazi se gubitak elija sive mase u jedrima moždanog stabla, kao i u korteksu i supkortikalnim jedrima (Ono et al. 1998, Mizukami et al. 1999, Itoh et al. 2010). U naizgled normalnoj beloj masi uo ene su abnormalnosti mijelina i aksona, fibrilarna gliozna, prošireni interfascikularni i perivaskularni prostori (Abe et al. 1994, Mizukami et al. 1999, Itoh et al. 2010), dok se u hiperintenznim lezijama bele mase (HLBM) nalazi izraženi gubitak i dezorganizovanost mijelina i aksona, a eventualno i heterotopija korteksa (Ogata et al. 1998, Mizukami et al. 1999).

S obzirom da patohistološko ispitivanje moždanog tkiva nije široko dostupna procedura, dalja istraživanja su se bazirala na neurovizualizacionim metodama, koje su se vremenom sve više tehni ki usavršavale. Kortikalne atrofije vidljive su i na obi noj T1 sekvenci MR (Bachmann et al. 1996, Miaux et al. 1997, Kornblum et al. 2004, Kuo et al. 2008), ali je regionalni gubitak sive mase u MD1 preciznije definisan pomo u VBM (Antonini et al. 2004, Giorgio et al. 2006, Weber et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Promene u beloj masi se uo avaju na rutinskoj T2 sekvenci u vidu HLBM, koje su prisutne u obe hemisfere (Glantz et al. 1988, Bachmann et al. 1996, Miaux et al. 1997, Fierro et al. 1998, Kornblum et al. 2004, Antonini et al. 2004, Kuo et al. 2008, Kobayakawa et al. 2010, Weber et al. 2010, Romeo et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Pomo u VBM jasno je definisan i gubitak zapremine bele mase u MD1 (Antonini et al. 2004, Minnerop et al. 2011). DTI, kao najpreciznija neurovizualizaciona metoda za ispitivanje bele mase, registruje promene u HLBM, ali i u naizgled normalnoj beloj masi bolesnika sa MD1 (Takaba et al. 2003, Fukuda et al. 2005). Pomo u DTI se opserviraju mikrostrukturne promene u korpusu kalozumu, asocijacionim i projekcionim putevima (Ota et al. 2006, Minnerop et al. 2011, Wozniak et al. 2011). Koriš enjem metoda kojima se odre uje mikrostruktura tkiva, kao što su merenje T2 relaksacionog vremena i transfera magnetizacije, potvr eno je ošte enje naizgled normalne bele mase (Di Costanzo et al. 2001, Naka et al. 2002).

MR spektroskopija pokazuje promene u metaboli kom sastavu sive i bele mase mozga kod bolesnika sa MD1 (Chang et al. 1998, Akiguchi et al. 1999, Vielhaber et al. 2006). Promene u utilizaciji glukoze registrovane pomo u FDG-PET i promene u regionalnom protoku registrovane pomo u SPECT se samo delimi no preklapaju sa strukturnim nalazima (Chang et al. 1993, Mielke et al. 1993, Meola et al. 1999, Weber et al. 2010, Romeo et al. 2010), ukazuju i

na to da funkcionalne promene nisu jednostavna refleksija moždane atrofije. Caramia i sar. na funkcionalnoj MR pri motornom zadatku kod bolesnika sa MD1 pronalaze povećanu aktivnost u obostranim senzorimotornim zonama, donjem parijetalnom režnju, bazalnim ganglijama i talamusu, kao i u ipsilateralnoj premotornoj kori, insuli i suplementalnoj motornoj areji, što ukazuje na kompenzatornu reorganizaciju i redistribuciju funkcionalnih mreža (Caramia et al. 2010).

U našem istraživanju je analizirano prisustvo HLBM na DE sekvenci, kao i zapremina sive mase pomoću VBM i struktura puteva bele mase pomoću DTI u najvećoj kohorti bolesnika sa MD1 do sada. Pored toga, po prvi put su odvojeno ispitivani bolesnici sa jMD1 i aMD1. Naši nalazi pokazuju jasne promene i u sivoj i u beloj masi mozga kod obe forme bolesti.

VBM je pokazala smanjenje volumena SM kod naših bolesnika sa MD1 u skoro svim delovima centralnog nervnog sistema, uključujući i cerebralni korteks, cerebelum i supkortikalne strukture poput bazalnih ganglija i talamusa. Raširenost atrofije u odnosu na zdrave ispitanike je bila manja kod bolesnika sa jMD1 nego kod bolesnika sa aMD1. Međutim, nije bilo značajne razlike u zapremini pojedinih delova mozga kada se direktno porede dve grupe bolesnika. Mnogobrojne studije opisuju znake difuzne cerebralne atrofije u MD1 (Huber et al. 1989, Damian et al. 1993, Bachmann et al. 1996, Miaux et al. 1997, Kassubek et al. 2003, Giorgio et al. 2006, Kuo et al. 2008). Ovi nalazi su potvrđeni i sofisticiranijom metodom kakva je VBM. Naime, Antonini i sar. kod 22 bolesnika sa MD1 nalaze smanjenje ukupne zapremine sive mase mozga, kao i sive mase oba frontalna, parijetalna i temporalna režnja, gornjeg girusa levog okcipitalnog režnja i levog *nc. caudatusa* (Antonini et al. 2004). Ota i sar. su u grupi od 11 bolesnika sa MD1 pronašli smanjenje zapremine sive mase mozga u prefrontalnom, temporalnom i okcipitalnom korteksu, talamusu i strijatumu, uz pošteđu parijetalnog režnja (Ota et al. 2006), dok je u našem istraživanju parijetalni režanj bio zahvaćen. Weber i sar. su analizirali grupu od 14 bolesnika i pronašli značajno smanjenje zapremine sive mase, koje zahvata frontalni korteks, oba talamusa i oba hipokampusa (Weber et al. 2010), što se donekle razlikuje od nalaza u našoj kohorti od 51 bolesnika sa MD1, po kojima je temporalni režanj najmanje zahvaćen, a hipokampalne strukture su pošteđene. Minnerop i sar. su u grupi sastavljenoj od 22 bolesnika sa MD1 našli smanjenje sive mase, koje je najizraženije u frontalnom i parijetalnom režnju, posebno u precentralnom i postcentralnom girusu i

suplementalnoj motornoj areji, ali se atrofija nalazi i u zadnjem delu desnog talamusa i prednjem delu desnog putamena (Minnerop et al. 2011). Naši nalazi su veoma slični ovim u smislu pošteđenja temporalnog režnja i hipokampusa, ali je u našoj kohorti intenzivno bio zahvaćen i okcipitalni režanj, oba talamusa i oba putamena.

Sve dosadašnje studije su uključivale grupe bolesnika sa jMD1 i aMD1 ili samo sa aMD1, tako da je naše istraživanje prvo koje poredi nalaze VBM kod bolesnika sa ove dve forme bolesti. Zapažanje da je raširenost atrofije sive mase zastupljenija kod bolesnika sa aMD1, govori u prilog pretpostavci da je MD1 progresivna bolest zavisna od starosti ispitanika, s obzirom da su ispitanici sa adultnom formom bili stariji. Ipak, teško je izvesti pouzdan zaključak da se radi o neurodegenerativnom oboljenju, jer je za to neophodna prospektivna VBM studija.

Promene u beloj masi dokumentovali smo i na DE sekvenci i pomoću traktografije. Bolesnici sa MD1 su imali veće opterećenje HLBM u odnosu na kontrole i one su bile najčešće i najizraženije u frontalnom, parijetalnom i okcipitalnom režnju, kao i u infratentorialnim oblastima. Lezije su bile simetrične, difuzne, pojedinačne ili slivene, raspoređene i supkortikalno i paraventrikularno. Procent opterećenje bilo je veće u grupi bolesnika sa aMD1 nego u kohorti sa jMD1, ali nije dostignuta statistička značajnost. U dosadašnjim studijama, HLBM se nalaze kod 40-100 % bolesnika sa MD1 i najizraženije su u frontalnom, parijetalnom i okcipitalnom režnju, a manje su zastupljene ili su odsutne u temporalnom i insularnom režnju, kao i infratentorialno (Censori et al. 1994, Bachmann et al. 1996, Fierro et al. 1998, Ogata et al. 1998, Di Costanzo et al. 2002, Fukuda et al. 2004, Kornblum et al. 2004, Giorgio et al. 2006, Antonini et al. 2006, Kuo et al. 2008, Romeo et al. 2010, Weber et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Odsustvo HLBM kod pojedinih bolesnika može se objasniti dodatnim genetskim ili sredinskim faktorima (Di Costanzo et al. 2008).

U nekim istraživanjima se navodi da su HLBM česte i u temporalnom režnju (Miaux et al. 1997), te da su upravo ove promene u prednjoj temporalnoj oblasti specifične za MD1, ne samo u odnosu na zdravu populaciju, već i u odnosu na MD2 (Kornblum et al. 2004, Romeo et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Romeo i sar. smatraju da su lezije u prednjem delu temporalnog režnja zapravo znak kortikalne displazije usled aberantne migracije i/ili maturacije kortikalnih neurona, te da one perzistiraju tokom starenja i da nemaju uticaja na kognitivno postignuće (Romeo et al. 2010). S druge strane, HLBM u drugim režnjevima su povezane sa starenjem i

ukazuju da je MD1 progeroidna bolest (Romeo et al. 2010). Promene u beloj masi lokalizovane posterosuperiorno u odnosu na *trigonum habenulae* viđaju se u kMD1 te ih neki autori posmatraju kao neurorazvojne (Di Costanzo et al. 2002, Kuo et al. 2005). Većina dosadašnjih istraživanja nije poredila razliku u HLBM kod jMD1 i aMD1. Samo jedna studija govori o tome da su HLBM kod dva bolesnika sa jMD1 praktično odsutne, dok su izražene kod dva bolesnika sa aMD1 (Kuo et al. 2005). Ovo je u skladu sa našim podacima da je opterećenje lezijama bele mase veće u aMD1.

Oštećenje bele mase u MD1 prevazilazi hiperintenzne lezije vidljive na T2 sekvenci MR. Korišćenjem metoda kojima se određuje mikrostruktura tkiva potvrđeno je oštećenje naizgled normalne bele mase (Di Costanzo et al. 2001, Naka et al. 2002, Takaba et al. 2003, Fukuda et al. 2004), koje nije u korelaciji sa HLBM što ukazuje na dva odvojena patološka procesa (Fukuda et al. 2004). U jednoj studiji VBM pokazuje samo redukciju sive mase (Giorgio et al. 2006), dok se u drugim nalazi i oštećenje bele mase (Antonini et al. 2004, Minnerop et al. 2011), uključujući i celo žuljevito telo, oba forniksa, cingulum, belu masu svih režnjeva, pons, cerebellum i srednje cerebelarne pedunkule (Minnerop et al. 2011).

DTI analiza kod naših bolesnika pokazuje smanjenje FA uz povećanje radD i MD u skoro svim asocijacionim putevima bele mase, *corpusu callosumu*, obe *capsulae internae* (*crus anterius*, *crus posterius*, *pars retrolenticiformis*), obe *capsulae externae* i u moždanom stablu, bez razlike kod jMD1 i aMD1. Ota i sar. u grupi od 11 bolesnika nalaze smanjenje FA u svim delovima *corpusa callosuma*, osim splenijuma, kroz koji prolaze parijetalna vlakna (Ota et al. 2006). Promena FA bila je u vezi sa atrofijom odgovarajućih delova korteksa te je pretpostavljeno da je izmena u žuljevitom telu posledica Wallerove degeneracije (Ota et al. 2006). U studiji Minneropa i sar. analizirani su svi putevi bele mase kod 22 bolesnika sa MD1 (Minnerop et al. 2011). Pronađeno je smanjenje FA, uz povećanje radD i MD, a donekle i axD, u većini asocijativnih puteva, u *corpusu callosumu* sa relativnom poštećenošću *spleniuma*, u obe *capsulae internae* (*crus anterius*, *crus posterius*, *pars retrolenticiformis*) i *capsulae externae*, kao i u kortikospinalnom putu na nivou unutrašnje kapsule i ponsa. Ovi nalazi u potpunosti odgovaraju našim.

Wozniak i sar. u grupi od 3 bolesnika sa kMD1 i 5 sa jMD1 nalaze smanjenje FA i povećanje MD, axD i radD u sva četiri ispitivana regiona od interesa u frontalnom i okcipitalnom režnju (Wozniak et al. 2011), što ukazuje na to da su mikrostrukturne promene u beloj masi

sli ne kod bolesnika sa razli itim formama MD1. Ovo je potvr eno i u našem istraživanju. Promene u FA najverovatnije odslikavaju gubitak ili mikrostrukturne promene mijelina i/ili aksona, promene u ekstracelularnoj frakciji vode, a mogu e je da donekle zavise i od brzog aksonalnog transporta (Fukuda et al. 2004, Wozniak et al. 2011). Smatra se da je pove anje radD mera promene u mijelinu i/ili aksonu, dok je pove anje axD povezano sa pove anjem ekstracelularne vode u mozgu koji normalno stari (Minnerop et al. 2011, Wozniak et al. 2011). U našem istraživanju porast FA je bio pra en porastom radD što pre svega ide u prilog mikrostrukturnih promena.

Nismo uo ili povezanost rezultata na VBM i DTI sa polom i staroš u bolesnika, sa dužinom trajanja i stepenom miši nog deficita, niti sa brojem CTG ponovaka. Veliki broj prethodnih studija tako e ne nalazi ovakve korelacije (Miaux et al. 1996, Fierro et al. 1998, Kassubek et al. 2003, Fukuda et al. 2004, Giorgio et al. 2006, Ota et al. 2006). Ipak, nekoliko autora nalazi slabu povezanost starosti bolesnika sa zapreminom sive mase (Antonini et al. 2004, Weber et al. 2010) i HLBM (Kuo et al. 2008, Di Costanzo et al. 2008, Romeo et al. 2010, Weber et al. 2010), povezanost trajanja bolesti sa atrofijom mozga (Bachmann et al. 1996) i HLBM (Bachmann et al. 1996, Kuo et al. 2008, Di Costanzo et al. 2002, Di Costanzo et al. 2008, Weber et al. 2010), povezanost težine miši ne bolesti sa atrofijom mozga (Huber et al. 1989, Bachmann et al. 1996) i HLBM (Bachmann et al. 1996), kao i broja CTG ponovaka sa atrofijom mozga (Damian et al. 1994, Bachmann et al. 1996) i HLBM (Damian et al. 1994, Bachmann et al. 1996, Romeo et al. 2010, Weber et al. 2010). Minnerop i sar. pronalaze korelaciju FA u razli itim regijama mozga sa staroš u bolesnika, trajanjem bolesti, stepenom miši nog deficita i brojem CTG ponovaka (Minnerop et al. 2011). Ovakav nalaz ukazuje da je MD1 progresivna bolest mozga. U skladu sa tim su naši rezultati nešto ve eg optere enja HLBM i nešto manje zapremine sive mase kod bolesnika sa aDM1, koji su bili stariji, u odnosu na bolesnike sa jMD1, koji su bili mla i. S druge strane, promene u mikrostrukтури puteva bele mase u našoj studiji su bile sli ne kod obe forme bolesti.

Ispitivanje korelacije brojnih neuropsiholoških i bihevioralnih nalaza sa rezultatima dobijenim pomo u MR pokazalo je samo negativnu korelaciju postignu a na skor u *pažnja i orijentacija* iz Addenbrookeovog testa sa srednjom difuzivnoš u pojedinih puteva bele mase sa

leve strane. Nije bilo povezanosti kognitivnih funkcija sa HLBM, niti sa atrofijom sive mase. Izostanak povezanosti je najverovatnije uzrokovan izraženim i nedovoljno specifičnim promenama, koje zahvataju gotovo sve delove mozga.

Prema prethodnim ispitivanjima, atrofija mozga uglavnom nije bila u vezi sa nalazima na neuropsihološkim testovima (Huber et al. 1989, Kuo et al. 2008), mada pojedini autori opisuju ovu korelaciju (Bachmann et al. 1996). Minnerop i sar. ne nalaze značajnu povezanost između neuropsihološkog postignuća i specifičnih promena na traktografiji (Minnerop et al. 2011). Sa druge strane, prosečna FA celog mozga korelirala je sa koeficijentom inteligencije i donekle sa egzekutivnim funkcijama kod dece i adolescenata sa kMD1 i jMD1 (Wozniak et al. 2011).

U prethodnim istraživanjima se obično ne nalazi korelacija između kognitivnog statusa i HLBM (Censori et al. 1994, Miaux et al. 1996, Fierro et al. 1998), ili je ona slaba (Bachmann et al. 1996, Kuo et al. 2008, Romeo et al. 2010, Weber et al. 2010). Kobayakawa i sar. pronalaze povezanost HLBM sa otežanim prepoznavanjem emocija izraženih na licu drugih osoba (Kobayakawa et al. 2010). Dve studije pokazuju da bolesnici sa izraženijim promenama bele mase imaju manji stepen depresije što je najverovatnije uzrokovano nedostatkom uvida u sopstveni deficit (Winblad et al. 2010, Minnerop et al. 2011). Slično tome, bolesnici sa manjom FA imaju manji stepen zamora, ali ovakva veza nije u skladu sa prekomernom dnevnom pospanošću (Minnerop et al. 2011). Jedno istraživanje pokazuje da smanjenje prednjeg dela korpusa kalozuma može biti u vezi sa prekomernom dnevnom pospanošću u MD1 (Hashimoto et al. 1995).

Iako nema direktne korelacije kognitivnih i bihevioralnih promena sa neurovizualizacionim nalazima, više je nego očigledno da su strukturne promene u mozgu bolesnika sa MD1 najizraženije u kortikalnim regijama odgovornim za specifične funkcije, koje su povezane upravo sa ovom bolešću. Pored toga, kod naših bolesnika se registruje atrofija sive mase u bazalnim ganglijama, koje pored klasičnih uloga u sprovođenju automatskih, naučnih pokreta, imaju ulogu i u proceduralnom pamćenju, emocionalnom životu i egzekutivnim funkcijama (Pavlović 2011). Afekcija talamusa može biti odgovorna za poremećaje pažnje, konstrukcionu apraksiju, jezičke probleme, oštećenje kratkoročnog, najčešće anterogradnog pamćenja, kao i za razvoj apatije, jer talamusi nisu samo prosti senzorni i motorni releji. Interesantno je pomenuti i smanjenje zapremine sive mase u malom mozgu, čija uloga nije samo

kontrola ravnoteže i koordinacija pokreta, veći kognicija (pažnja, pamćenje, govor), ponašanje i emocije.

5.7. Transkranijalna sonografija moždanog parenhima

Transkranijalna sonografija (TCS) je korisna metoda za diferencijalnu dijagnozu različitih neurodegenerativnih i afektivnih poremećaja, jer se njome mogu vizualizovati različite strukture srednje linije mozga (Berg et al. 2008). Pomoću TCS se vide promene *substantiae nigrae* (SN), *nc. raphe*, i bazalnih ganglija, koje se, inače, slabije uočavaju ili uopšte ne uočavaju na drugim neurovizualizacionim metodama (Berg et al. 2008). S obzirom na to da se MD1 može ubrojati u neurodegenerativne bolesti i da se kod ovih bolesnika mogu javiti afektivni poremećaji, odlučili smo da prvi sprovedemo ispitivanje moždanog parenhima pomoću TCS kod bolesnika sa MD1.

TCS pregled može biti ograničen usled netransparentnosti temporalnog prozora što se vidi i kod oko 5 - 20 % zdravih ljudi bele rase, posebno u starijoj životnoj dobi (Behnke et al. 2007). Netransparentan temporalni prozor imalo je 8 % naših bolesnika što je relativno visok procenat, jer se radi o grupi mlađih ispitanika. Ovakav nalaz se može objasniti činjenicom da bolesnici sa MD1 često imaju kranijalnu hiperostozu (Avrahami et al. 1987).

Hiperohogenost *nc. raphe* je pronađena kod 38 % bolesnika sa MD1 i kod samo 8 % zdravih kontrola. Smatra se da promene u ehogenosti ovog jedra nastaju usled izmene u mikroarhitekturi moždanog stabla (Berg et al. 1999, Becker et al. 2001). Ovo je kasnije potvrđeno nalazom pojačanog intenziteta signala u regionu ovog jedra na T2 sekvenci MR što može odgovarati oštećenju mijelinizovanih vlakana (Becker et al. 2001). Ispitivanje centralnog nervnog sistema pomoću DTI pokazuje da kod bolesnika sa MD1 postoji značajna zahvaćenost dorzalnog dela moždanog stabla (Minnerop et al. 2011). Pored toga, patohistološki nalaz na *post mortem* preparatima mozga ukazuje na gubitak serotoninergičkih neurona u *nc. raphe* (Ono et al. 1998, Oyamada et al. 2006).

Prisustvo depresivnosti u našoj kohorti bolesnika je bilo u značajnoj korelaciji sa hipoehogenošću u *nc. raphe*. Smanjena ehogenost ovog jedra se opisuje u unipolarnoj depresiji, depresiji povezanoj sa Parkinsonovom i Willsonovom bolešću, kao i u reaktivnoj depresiji (Berg et al. 2008, Mijajlović 2010). Izgleda da se smanjena ehogenost *nc. raphe* nalazi kod bolesti koje

direktno zahvataju bazalni limbi ki sistem. Sa druge strane, u oboljenjima poput multiple skleroze i moždanog udara u kojima dolazi do oštećenja projekcionih vlakana bazalnog limbi kog sistema, tako se viđa depresija, ali *nc. raphe* na TCS izgleda uredno (Becker et al. 2001, Walter et al. 2007). Nalaz smanjene ehogenosti ovog jedra može imati značaja u kliničkoj praksi, jer je povezan sa dobrim odgovorom na inhibitore preuzimanja serotonina (Walter et al. 2007).

Naši rezultati takođe pokazuju da bolesnici sa zamorom često imaju hipoehogenu *raphe*. Ovo je potvrda ranijih pretpostavki da je zamor u MD1 centralnog porekla (Laberge et al. 2009). Oštećenje retikularnog aktivirajućeg sistema moždanog stabla i/ili njegovih kortikalnih projekcija od ranije je povezivano sa sindromom hroničnog zamora (Dickinson 1997).

Jedna *post mortem* patohistološka studija pokazuje smanjenje gustine serotoninergičkih neurona u moždanom stablu kod bolesnika sa MD1 i hipersomnijom (Ono et al. 1998). Naše ispitivanje nije potvrdilo ove nalaze, jer nismo uočili povezanost između hipoehogenosti *nc. raphe* i prekomerne dnevne pospanosti. Interesantno je, međutim, da smo pronašli smanjenu ehogenost ovog jedra kod obe bolesnice sa urgencijom mikcije. Ovo je u skladu sa skorajšnjim istraživanjem u kome je uočena veza između hipoehogenosti *nc. raphe* i inkontinencije urina u idiopatskoj Parkinsonovoj bolesti (Walter et al. 2006).

Intrigantan je nalaz hipoehogenosti SN kod četvrtine naših bolesnika sa MD1, koja je izražena kod bolesnika sa kraćim trajanjem bolesti. Dosadašnja istraživanja navode da je učestalost hipoehogenosti SN u zdravoj populaciji oko 10 %, a kod bolesnika sa idiopatskim sindromom *nemirnih nogu* više od 90 % (Godau et al. 2007). Prisustvo ovog sindroma bilo je retko kod naših bolesnika, tako da klinički značaj hipoehogenosti SN u MD1 nije poznat. Pokazano je da smanjenje nivoa gvožđa u SN, mereno u patohistološkom preparatu ili *in vivo* pomoću MR, koreliše sa njenom hipoehogenošću na TCS kod bolesnika sa sindromom *nemirnih nogu* (Connor et al. 2003, Godau et al. 2008). Nažalost, nema podataka o količini gvožđa u pojedinim delovima mozga bolesnika sa MD1. Bitno je napomenuti da niko od naših bolesnika nije imao stanja koja su udružena sa simptomatskim sindromom *nemirnih nogu* ili pak hipoehogenošću u SN, kao što su najteži stadijum bolesti bubrega, klinički ispoljena periferna neuropatija, idiopatska Parkinsonova bolest na dopaminergičkoj terapiji ili spinocerebelarna ataksija (Godau et al. 2010).

Hiperehogenost SN smo detektovali u 13 % MD1 bolesnika što odgovara uestalosti u opštoj populaciji (Berg et al. 2008). Hiperehogenost SN se, inače, registruje kod oko 90 % bolesnika sa idiopatskim parkinsonizmom (Berg et al. 2008). Kod zdravih ljudi koji imaju hiperehogenost SN, nalaze se znaci motorne usporenosti, blagi ekstrapiramidni ispadi i drugi, preomotorni simptomi Parkinsonove bolesti (Berg et al. 2008). Međutim, niko od naših bolesnika nije imao bilo koji od znakova ekstrapiramidne disfunkcije u vreme ispitivanja.

Hiperehogenost *nc. rubra* i *nc. lentiformisa* je pronađena kod oko 10 % bolesnika sa MD1. Pretpostavlja se da izmenjena ehogenost moždanih struktura nastaje kao posledica akumulacije različitih metala (Berg et al. 2008, Svetel et al. 2012). S obzirom da mutacija u DPMK genu vodi oštećenju alternativnog splajsinga preinformacionih RNK za mnoge proteine, smatramo da je u MD1 moguće i oštećenje alternativnog splajsinga za određene metalne transportere i/ili proteine koji služe za deponovanje metala. U kulturi C2C12 miogenih ćelija je pokazano da prekomerna ekspresija humane DMPK indukuje ekspresiju informacione RNK za teške lance feritina (Watanabe et al. 1999). Zecca i sar. su analizirali *post mortem* preparate mozga zdravih osoba i uočili pozitivnu korelaciju ehogene zone SN sa koncentracijom gvožđanih, teških i lakih lanaca feritina (Zecca et al. 2008).

Uočili smo i proširenje treće moždane komore kod naših bolesnika sa MD1, koje je bilo u korelaciji sa starošću bolesnika. Smatramo da ova promena odražava atrofiju sive i bele mase dokumentovanu na VBM (Antonini et al. 2004, Weber et al. 2010, Minnerop et al. 2011).

TCS, kao jednostavna, široko dostupna i jeftina metoda, pruža novi uvid u strukturne promene nekoliko moždanih regija kod bolesnika sa MD1. Neophodna su dalja ispitivanja na većem broju bolesnika, kao i poređenje nalaza TCS sa drugim neurovizualizacionim metodama i patohistologijom. Moguće je da će se ovom metodom identifikovati potencijalni biomarkeri MD1 ili bar pojedinih centralnih simptoma koji je prate.

5.8. Nivo biomarkera neurodegeneracije u likvoru

Kao što je ranije navedeno u tekstu, mutacija u DMPK genu uzrokuje izmenjen splajsing primarno prepisa za različite proteine, uključujući i tau protein i amiloidni prekusorski protein (Jiang et al. 2004). Nivoi totalnog i hiperfosforilisanog tau proteina, kao i nivo beta amiloida 42,

ispitivani su u likvoru bolesnika sa različitim neurološkim bolestima. Najveći i porast totalnog tau proteina nađen je u Creutzfeld-Jakobovoj bolesti i Alzheimerovoj bolesti (Otto et al. 1997, Blennow et al. 2006). Blagotajno umeren porast ovog biomarkera je nađen u frontotemporalnoj demenciji i demenciji sa Lewyjevim telima (Molina et al. 1999), dok su normalne koncentracije nađene u Parkinsonovoj bolesti i progresivnoj supranuklearnoj paralizi (Holmberg et al. 2003). Povišeni nivoi hiperfosforilisanog tau proteina nađeni su samo kod bolesnika sa Alzheimerovom bolešću (Blennow et al. 2006). Snižene koncentracije beta amiloida 42 registrovane su u Alzheimerovoj demenciji, amiotrofičnoj lateralnoj sklerozi, Creutzfeld-Jakobovoj bolesti, demenciji sa Lewyjevim telima, frontotemporalnoj demenciji, multiploj sistemskoj atrofiji i kortikobazalnoj degeneraciji (Otto et al. 1997, Sjogren et al. 2002, Holmberg et al. 2003, Blennow et al. 2006.).

Identifikacija odgovarajućeg biomarkera zahvaćenosti centralnog nervnog sistema u MD1 je od velikog značaja za buduće studije koje će ispitivati efekte genske terapije. Nedavno su Winblad i sar. ispitivali nivoe navedenih biomarkera u likvoru 32 bolesnika sa MD1 i nađeno ili su smanjen nivo beta amiloida, povećan nivo totalnog tau proteina i normalnu koncentraciju hiperfosforilisanog tau u odnosu na zdrave kontrole (Winblad et al. 2008). S obzirom da je ovo jedina studija koja se bavi navedenom problematikom, mi smo analizirali nivo beta amiloida 42, totalnog i hiperfosforilisanog tau proteina u kohorti bolesnika sa jMD1 i aMD1, kao i njihove korelacije sa kognitivnim i bihevioralnim manifestacijama bolesti.

U našoj kohorti bolesnika je nađeno značajno smanjenje nivoa A₄₂ kod bolesnika sa jMD1, kao i nešto više vrednosti T-tau i P-tau kod bolesnika sa aMD1. Ovi nalazi su donekle slični rezultatima jedine prethodne studije na ovu temu, u kojoj je pronađeno smanjenje A₄₂, porast T-tau i normalan nivo P-tau (Winblad et al. 2008). Ovi autori su nađeno ili da se bolesnici grupišu u dva klastera - klaster bolesnika sa niskim A₄₂ i klaster bolesnika sa visokim T-tau, ali nisu nađeni nikakvi drugi parametri koji razdvajaju ove dve grupe (Winblad et al. 2008). Bitno je napomenuti da je ispitivana kohorta bila heterogena i da je obuhvatala i bolesnike sa jMD1 i bolesnike sa aMD1 (Winblad et al. 2008). U našoj studiji je takođe zapaženo grupisanje bolesnika u dva klastera - bolesnike sa jMD1 i značajnim smanjenjem A₄₂ i bolesnike sa aMD1 i relativnim povećanjem T-tau i P-tau.

Smanjenje nivoa A₄₂ od otprilike 20% kod bolesnika sa jMD1 bilo je u korelaciji sa brojem CTG ponovaka naših bolesnika. Stoga smatramo da ovaj molekul može biti uključen u razvojni poremećaj mozga u MD1. Smanjenje nivoa A₄₂ u Alzheimerovoj bolesti objašnjava se deponovanjem u plakove (Sjogren et al. 2002). Međutim, amiloidni plakovi nisu pronađeni u mozgu bolesnika sa MD1 (Oyamada et al. 2006, Meola et Sansone 2007). U skladu sa tim, pojedine studije pokazuju značajno smanjenje A₄₂ kod različitih neurodegenerativnih bolesti bez plakova, kao što su Creutzfeld-Jakobova bolest, amiotrofična lateralna skleroza i multipla sistemska atrofija (Otto et al. 1997, Holmberg et al. 2003, Sjogren et al. 2002). Ovi rezultati dovode u pitanje direktnu vezu između niskih vrednosti A₄₂ i njegovog deponovanja u plakove. Moguće je da izmenjeni splajsing amiloidnog prekursora proteina koji je dokumentovan u MD1 (Jiang et al. 2004) može da dovede do niskih koncentracija A₄₂. Molekularni mehanizam ovog poremećaja nije poznat, ali je moguće da alternativno isključenje egzona 7 amiloidnog prekursora proteina (Jiang et al. 2004) može da utiče na dalju obradu molekula pomoću sekretaza. Ovo dalje može da dovede do smanjene koncentracije A₄₂, koji je jedina forma merena u našoj studiji. Pored toga, na ovaj način se može objasniti odsustvo plakova beta amiloida u MD1, jer je njihov glavni konstituent fibrilogeni oblik od 42 aminokiseline (Hartmann et al. 1997). Dalja molekularna istraživanja su neophodna da potvrde, odnosno odbace našu pretpostavku.

Tendencija ka povećanju T-tau i P-tau sa poslednim smanjenjem odnosa A₄₂/P-tau uočena je kod naših bolesnika sa aMD1. Od posebnog je značaja podatak da je odnos A₄₂/P-tau korelisao sa starošću bolesnika. Ove dve činjenice dovoljne su da pretpostavimo da tau protein može biti uključen u neurodegenerativni proces, u progeroidnoj bolesti kakva je MD1. Izmenjeni splajsing u genu za tau protein dovodi do nastanka patološke tau varijante, koja je fosforilisana na istim mestima kao i u drugim neurodegenerativnim bolestima (Sergeant et al. 2001). Ovakvi fosforilisani proteini se potom deponuju u neurofibrilarnim klubovima u hipokampusu, entorinalnom korteksu, većim delu temporalnog režnja, u supkortikalnim jedrima i infratentorialnim regijama (Meola et Sansone 2007, Oyamada et al. 2006). Iako se povišen nivo T-tau nalazi u mnogim neurodegenerativnim bolestima, P-tau je izgleda specifičan samo za Alzheimerovu bolest (Blennow et al. 2006). Izvesno povećanje nivoa P-tau uočeno kod naših bolesnika sa aMD1 može biti odraz procesa koji liči na Alzheimerovu bolest, a koji je nemoguć isključiti kod starijih bolesnika sa MD1.

Pretpostavili smo da A₄₂ može biti uključen u razvojni poremećaj, a tau protein u neurodegenerativni proces u mozgu bolesnika sa MD1. Međutim, još uvek se postavlja pitanje da li je MD1 neurorazvojna, neurodegenerativna ili neurofunkcionalna bolest ili sve navedeno (Axford et al. 2013). Skorašnje istraživanje pokazuje da MBNL2 *knock-out* miševi imaju simptome zahvaćenosti centralnog nervnog sistema slične MD1, kao i da su ciljne RNK koje obrađuje MBNL2 razvojno regulisane (Charizanis et al. 2012). Većina autora se slaže da MD1 sa početkom u detinjstvu verovatno ima odlike neurorazvojne bolesti (Axford et al. 2013). Iako je određen stepen progresije centralnog deficita dokazan u MD1, mali je broj longitudinalnih, naročito neurovizualizacionih studija, da bi se zaključilo da je MD1 neurodegenerativno oboljenje (Axford et al. 2013).

Uočili smo pozitivnu korelaciju između nivoa T-tau, P-tau i A₄₂ kod bolesnika sa MD1, što je suprotno nalazima u Alzheimerovoj bolesti gde su niski nivoi A₄₂ povezani sa visokim nivoima T-tau i P-tau (Blennow et al. 2006). Pozitivna korelacija navedenih biomarkera kod bolesnika sa MD1 uočena je i u prethodnoj studiji (Winblad et al. 2008). Takav nalaz je zapravo jedinstven među neurodegenerativnim oboljenjima i jedino je još opažen u Niemann-Pickovoj bolesti tip C (Mattsson et al. 2011).

Nivoi biomarkera nisu korelisali sa trajanjem bolesti niti sa težinom mišićnog deficita u ispitivanoj kohorti bolesnika sa MD1. To znači da su zahvaćenost centralnog nervnog sistema i propadanje mišićnog tkiva dva odvojena procesa. Ovo je u skladu sa ranijim podacima da se značajno kognitivno oštećenje sreće i kod bolesnika sa blagom slabošću u mišićima (Meola et Sansone 2007).

Naši rezultati pokazuju nekoliko značajnih, ali blagih do umerenih korelacija između neuropsiholoških nalaza i likvorskih biomarkera. Prethodna studija takođe nije otkrila značajne i konzistentne korelacije (Winblad et al. 2008). Izgleda da je tau patologija u MD1 *infraklinička* (Axford et al. 2013). Ingelsson i sar. navode da u Alzheimerovoj bolesti koncentracija A₄₂ dostiže svoj maksimum pre nego što oboleli ispolje i najblaže kognitivno oštećenje (Ingelsson et al. 2004). Ovo može da objasni činjenicu da su korelacije likvorskih markera sa neuropsihološkim rezultatima blage ili čak odsutne u ovoj fazi bolesti, jer kada kognitivna deterioracija počne, markeri su već dostigli plato (Ingelsson et al. 2004). Slično se može pretpostaviti i za bolesnike sa MD1.

Depresija nije korelisala sa koncentracijom biomarkera u likvoru u našem istraživanju, što je u skladu sa prethodnim rezultatima (Winblad et al. 2010). S druge strane, A 42/T-tau odnos je bio u vezi sa prekomernom dnevnom pospanoš u u jMD1, što ukazuje da je ovaj poremećaj najverovatnije centralnog porekla. U prilog tome ide i patohistološka analiza koja je pokazala povezanost pospanosti i gubitka serotoninergičkih neurona u jedrima moždanog stabla bolesnika sa MD1 (Ono et al. 1998).

Neophodna su dalja istraživanja potencijalnih likvorskih biomarkera kod bolesnika sa MD1 u trenutku kada je genska terapija ove bolesti na pomolu.

5.9. Kvalitet života kod bolesnika sa MD1

Ispitivanje kvaliteta života (QoL) u hroničnoj i onesposobljavajućoj bolesti poput MD1 je od velikog značaja, jer omogućava da se lečenje ovih bolesnika adekvatno usmeri. Na ovaj način se definišu faktori koji imaju najveći uticaj na svakodnevni život pacijenta što vodi boljoj prevenciji, simptomatskoj terapiji i rehabilitaciji, kao i amelioraciji socijalnih faktora (Peri et al. 2010, Peri et al. 2013). Identifikacija faktora bitnih za QoL omogućava da se uprkos neminovnoj progresiji bolesti, obezbedi što ugodniji život obolelima (Burns et al. 2012). Ispitivanje uticaja centralnih faktora na QoL u MD1 je od posebnog interesa, jer je zahvaćenost mozga u MD1 izražena, a većina centralnih simptoma je podložna terapijskoj korekciji.

QoL se može meriti pomoću generičkih upitnika kakav je SF-36. Osnovna prednost generičkih upitnika je njihova primenljivost na različitim uzorcima bolesnika i zdravih ispitanika što omogućava međusobno poređenje rezultata (Burns et al. 2012). S druge strane, ovi upitnici obično ne obuhvataju simptome i znake specifične za određene bolesti, poput miotonije i slabosti, koje su tipične za MD1 (Burns et al. 2012). Takođe, veliki broj pitanja koja se odnose na nemogućnost dužeg hoda i penjanja uz stepenice, može da ukaže da je QoL u MD1 lošiji nego što zaista jeste (Burns et al. 2012). Iz ovih razloga, korišćenje upitnika specifičnog za bolest poput INQoL, ima velike prednosti (Burns et al. 2012). Specifičnost INQoL jeste i njegova sposobnost da registruje da li je promena u QoL uzrokovana aktuelnim promenama u simptomima bolesti ili promenama u samoproceni sopstvenog stanja (Vincent et al. 2007, Burns et al. 2012). Pokazano je da je srpska verzija INQoL razumljiva, laka za primenu, pouzdana i validna za merenje QoL kod bolesnika sa MD1 (Peri et al. 2011). Ovaj upitnik obuhvata

domene koji nedostaju u SF-36, poput *ko enja miši a* i telesne slike, a ima i sposobnost da relevantnije prikaže probleme sa bolom u MD1 u odnosu na SF-36 (Peri et al. 2011).

QoL naših bolesnika sa MD1 je bio jednako redukovan u fizi kim i mentalnim domenima. Najlošiji rezultati na SF-36 upitniku su na eni na skalama RP i RE, koje se odnose na fizi ku i emocionalnu ulogu bolesnika. Najbolji skorovi su uo eni na skalama SF, BP i MH, koje se odnose na socijalne interakcije, telesni bol i mentalno zdravlje. Sli ni nalazi su uo eni i na skali specifi noj za bolest. Naime, INQoL je otkrio najve i stepen ošte enja za simptome poput slabosti, *ko enja miši a* i zamora, sa najzna ajnijim uticajem na oblasti života, kao što su aktivnosti i doživljaj sopstvenog tela. Najbolje skale na INQoL su bile socijalni odnosi i bol što u potpunosti odgovara rezultatima na SF-36 upitniku.

U dosadašnjim studijama se navodi da bolesnici sa MD1 imaju lošiji QoL u odnosu na opštu populaciju i zdrave kontrole (Kalkman et al. 2005, Antonini et al. 2006, Tieleman et al. 2011), te da je ošte enje QoL u MD1 jednako ili ak izraženije nego u drugim neuromiši nim bolestima (Kalkman et al. 2005, Peri et al. 2010). Negativan efekat MD1 se odražava i na fizi ke i na mentalne životne domene (Antonini et al. 2006, Peri et al. 2010, Peri et al. 2011, Peric et al. 2013). Nasuprot tome, u drugim neuromiši nim bolestima, ve i je efekat oboljenja na fizi ke domene (Tieleman et al. 2011). Ovakva razlika se može objasniti injenicom da je MD1 i bolest centralnog nervnog sistema, koja može dovesti do smanjenih mogu nosti prilago avanja na bolest.

U svim dosadašnjim studijama kvaliteta života, zajedno su bili ispitivani bolesnici sa jMD1 i aMD1 (Antonini et al. 2006, Peri et al. 2011, Peri et al. 2013). U našem istraživanju su po prvi put pore ene ove dve grupe bolesnika uparene po trajanju bolesti. Rezultati pokazuju izraženiji pad QoL kod bolesnika sa aMD1 u odnosu na bolesnike sa jMD1 u gotovo svim domenima, a najizraženije za socijalno funkcionisanje i mentalni kompozitni skor kad se meri pomo u SF-36, a za aktivnosti, socijalne odnose i telesnu sliku kad se meri pomo u INQoL. Mogu e je da kasniji po etak bolesti dovodi do ve e frustracije, jer su životna o ekivanja bolesnika sa jMD1 verovatno manja i prilago ena mogu nostima koje su od detinjstva redukovane. Tieleman i sar. nalaze da bolesnici sa kasnijim po etkom MD1 imaju gore rezultate na skorovima SF i MH što odgovara našim rezultatima (Tieleman et al. 2011). Osim toga, mora

se uzeti u obzir i činjenica da su naši bolesnici sa jMD1 bili mlađi, a da je starost bolesnika dokazana kao značajan faktor koji utiče na QoL i u našem istraživanju i većini prethodnih studija (Antonini et al. 2006, Peric et al. 2010, Peric et al. 2011, Tieleman et al. 2011). Starost bolesnika je također označena kao jedan od najznačajnijih prediktora lošijeg kvaliteta života u MD1 što je delom uzrokovano normalnim procesom starenja, a delom činjenicom da je MD1 progresivna bolest, koja vremenom sve intenzivnije zahvata određene organe, širi se i na druge sisteme (Peric et al. 2013). U prilog tome ide i podatak naše i prethodnih studija da trajanje bolesti značajno utiče na QoL (Antonini et al. 2006, Peric et al. 2010, Sansone et al. 2010, Peric et al. 2011, Peric et al. 2013).

Uticaj pola na QoL pronašli smo samo u grupi bolesnika sa aMD1 u smislu da su obolele žene imale lošije skorove na SF-36 u odnosu na muškarce. U ranijim studijama jednako loš uticaj MD1 na QoL je uočen i kod muškaraca i kod žena (Antonini et al. 2006, Peric et al. 2010, Peric et al. 2011, Peric et al. 2013). Međutim, Sansone i sar. nalaze lošiji QoL meren pomoću u INQoL upitnika kod žena nego kod muškaraca sa neuromišićnim bolestima (Sansone et al. 2010).

Pozitivan uticaj stepena obrazovanja na QoL zapažen je u kohorti bolesnika sa aMD1, dok vrsta zanimanja nije bila u korelaciji sa QoL. Dosadašnja istraživanja pokazuju loš nivo obrazovanja i visoku stopu nezaposlenosti u MD1 (Gagnon et al. 2008, Minis et al. 2010). Smatra se da lošije obrazovanje dovodi do toga da bolesnici sa MD1 već e obavljaju fizičke nego intelektualne poslove, što zbog njihove onesposobljenosti uzrokuje prevremeno penzionisanje i nisku stopu zaposlenosti (Minis et al. 2010). Ranije je pokazano da bolesnici sa lošijim obrazovanjem (Peric et al. 2010, Peric et al. 2011, Peric et al. 2013) i nezaposleni bolesnici sa MD1 imaju lošiji QoL (Minis et al. 2010). Iz tog razloga je od velikog značaja stimulacija školovanja od najranijeg detinjstva u porodicama sa MD1, ali i mogućnost profesionalne reorijentacije u poznijim godinama (Minis et al. 2010, Peric et al. 2013).

U našoj grupi bolesnika sa MD1, stepen mišićne slabosti je korelisao sa QoL merenim pomoću u INQoL. Ovo potvrđuje činjenicu da je INQoL instrument kojim se adekvatno može izmeriti uticaj fizičkih konceptata na QoL (Sansone et al. 2010). Uticaj mišićne slabosti na QoL u MD1 uočen je i u ranijim studijama (Antonini et al. 2006, Peric et al. 2010, Sansone et al. 2010, Peric et al. 2011, Peric et al. 2013). Mišićna slabost dovodi do smanjene pokretljivosti bolesnika, povećane stope nezaposlenosti, smanjenja prihoda i smanjene socijalne participacije (Gagnon et al. 2008, Minis et al. 2010). Naglašava se da snaga pojedinih grupa mišića, poput respiratorne

muskulature (Araújo et al. 2010) i miši a za žvakanje i gutanje (Peri et al. 2013), može imati poseban uticaj na QoL.

Ustanovili smo da QoL bolesnika sa MD1 generalno koreliše sa brojem CTG ponovaka u DMPK genu. Antonini i sar. na manjoj grupi bolesnika nisu uo ili ovu povezanost (Antonini et al. 2006), dok Heatwole i sar. ukazuju na to da prose ni efekat najzna ajnijih simptoma u MD1 koreliše sa brojem CTG ponovaka (Heatwole et al. 2012). U osnovi ove povezanosti verovatno leži injenica da se pove anje ekspanzije ponovaka dešava sa vremenom i da je u korelaciji sa težinom klini ke slike.

Uticaj razli itih manifestacija zahva enosti centralnog nervnog sistema na QoL jasno je pokazan u našoj grupi bolesnika sa MD1. Naime, zapažena je povezanost QoL sa depresivnoš u, anksioznoš u, zamorom, prekomernom dnevnom pospanoš u i odre enim neuropsihološkim nalazima.

Uticaj poreme aja raspoloženja na QoL kod bolesnika sa MD1 dokumentovan je i u ranijim studijama (Antonini et al. 2006, Peri et al. 2010, Peri et al. 2013). Ovakav nalaz je od velikog zna aja, jer su depresivnost i anksioznost podložni tretmanu. Pored toga, u nekoliko istraživanja je zapažena povezanost QoL sa zamorom (Kalkman et al. 2005, Laberge et al. 2009) i prekomernom dnevnom pospanoš u kod bolesnika sa MD1 (Laberge et al. 2009). U našoj prethodnoj studiji QoL u MD1 je bio povezan sa zamorom, ali ne i sa prekomernom pospanoš u (Peri et al. 2013). Smatra se, naime da zamor može biti glavna determinanta nesposobnosti i može spre avati bolesnika da obavlja i najlakše poslove (Gagnon et al. 2008). U skladu sa tim je injenica da je u našoj studiji zamor bio najzna ajniji prediktor QoL merenog pomo u SF-36 ili INQoL i u grupi bolesnika sa jMD1 i u grupi bolesnika sa aMD1. Manji zna aj prekomerne pospanosti je najverovatnije uzrokovan time što sami bolesnici ovu tegobu esto zanemaruju, dok joj njihovi uku ani pridaju veliki zna aj (Peri et al. 2013).

U našem prethodnom istraživanju nije pokazan generalni uticaj neuropsihološkog nalaza na QoL u MD1, ali pri tome nismo detaljno analizirali uticaj postignu a na pojedina nim testovima (Peri et al. 2013). U jedinoj studiji koja se bavi ovim pitanjem prona en je uticaj rezultata na Stroopovom testu na QoL u MD1 (Antonini et al. 2006). Preciznije re eno, pokazano je da uticaj na kvalitet života ima egzekutivna disfunkcija u smislu nemogu nosti kontrole pažnje, odnosno nemogu nosti suprimovanja automatskog odgovora u prisustvu

interferiraju eg stimulusa. Disegzekutivni sindrom podrazumeva izostanak inicijative, inaktivnost i apatiju, a pretpostavlja se da svi ovi simptomi itekako mogu uticati na QoL (Meola et Sansone 2007).

U našoj kohorti bolesnika sa jMD1 uo ili smo povezanost QoL sa kompjuteriozovanim testovima koji mere vizuelne sposobnosti (SRM i DMS), od kojih je jedan (SRM) ak bio zna ajan prediktor lošijeg kvaliteta života merenog INQoL upitnikom. Smatramo da se vizuospacijalna disfunkcija u svakodnevnom životu odražava na snalaženje u prostoru, vožnju automobila, itanje mape, nemogu nost obavljanja poslova koji zahtevaju konstruisanje i sl.

Kod bolesnika sa aMD1 veliki broj neuropsiholoških testova je bio u korelaciji sa QoL što govori o velikom zna aju kognitivnog statusa bolesnika na njihov svakodnevni život. Kao zna ajan prediktor lošijeg QoL izdvaja se postignu e na Addenbrukovom testu, koji je test kognitivnog skrininga i obuhvata najrazli itije psihi ke funkcije. Stoga, možemo zaklju iti da je opšti kognitivni pad kod bolesnika sa aMD1 u vezi sa lošijim QoL. Pretpostavljamo da rehabilitacija neuropsiholoških funkcija može poboljšati QoL ovih bolesnika.

Iako smo koristili i generi ki upitnik i upitnik specifi an za bolest, jedan deo zna ajnih simptoma u MD1 ostaje i dalje neprepoznat. Veliko ameri ko istraživanje na 278 bolesnika sa aMD1 pokazalo je da su naj eš i simptomi koje bolesnici navode kao ometaju e, zapravo problemi sa rukama i šakama, zamor, miotonija i prekomerna pospanost, dok su zamor i ograni ena pokretljivost simptomi sa najve im uticajem na život bolesnika (Heatwole et al. 2012). Osim toga, kao najzna ajniji problemi kod dece sa MD1 su identifikovane smetnje u komunikaciji, kognitivno ošte enje i ometene socijalne interakcije (Johnson et al. 2013). O igledno je da dosadašnji upitnici za QoL ne obuhvataju sve navedene teme. Pored toga, ak i navedene najnovije studije ne obuhvataju direktno mnoge druge simptome MD1, koji mogu imati uticaja na QoL, poput sr anih, respiratornih i gastrointestinalnih problema, ptoze, gutanja, katarakte itd.

ZAKLJU CI

1. - Neuropsihološkim testiranjem MD1 bolesnika, vizuospacijalna disfunkcija je uo ena kod 80 %, egzekutivna disfunkcija kod 67 %, a ošte enje jezi ke funkcije imenovanja kod 62 % obolelih.

- Lošiji rezultati na pojedinim neuropsihološkim testovima bili su u zna ajnoj korelaciji sa ve im brojem CTG ponovaka u DMPK genu.

- Zna ajna depresivnost je registrovana kod 15 % bolesnika sa MD1, a zna ajna anksioznost kod 11 %.

- Klini ki zna ajan poreme aj li nosti je imalo 60 % MD1 bolesnika. Zavisani tip li nosti imalo je 52 % obolelih, a paranoidan 39 %.

- Paranoidnost je bila izraženija kod bolesnika sa ve im brojem CTG ponovaka.

- Prekomerna dnevna pospanost je bila prisutna kod 44 %, a zamor kod 52 % obolelih.

2. - Ispitivanje pomo u MR je pokazalo da su MD1 bolesnici imali ve e optere enje hiperintenznim lezijama bele mase (HLBM) u odnosu na zdrave kontrole.

- HLBM su bile naj eš e i najizraženije u frontalnom, parijetalnom i okcipitalnom režnju, kao i u infratentorialnim regijama.

- Morfometrija zasnovana na vokselu (VBM) je pokazala smanjenje volumena sive mase kod bolesnika sa MD1 u skoro svim delovima centralnog nervnog sistema, uklju uju i cerebralni korteks, cerebelum i supkortikalne strukture poput bazalnih ganglija i talamusa.

- Pomo u difuzionog tenzorskog imidžinga (DTI) je na eno smanjenje frakcione anizotropije, uz pove anje radijalne i srednje difuzivnosti, u skoro svim asocijacionim

putevima bele mase, *corpusu callosumu*, obe *capsulae internae* i *externae* i u moždanom stablu.

- U ovoj studiji nije uočena povezanost promena na MR sa brojem CTG ponovaka.

- Ispitivanje korelacije rezultata dobijenih MR pregledom sa neuropsihološkim i bihevioralnim nalazima, pokazalo je da je povećanje FA u beloj masi leve hemisfere bilo u vezi sa lošijim postignućem na podtestu *pažnja i orijentacija* iz Addenbrookovog testa.

3. - Transkranijalnom sonografijom moždanog parenhima je uočena hipoehogenost *substantiae nigrae* kod 26 % MD1 bolesnika.

- Hipoehogenost *nc. raphe* je imalo 38 % obolelih i samo 8 % zdravih kontrola.

- Prisustvo depresivnosti i zamora je bilo u značajnoj korelaciji sa smanjenom ehogenošću u ovom jedru.

- Ultrazvučni pregled je ukazao i na proširenje treće moždane komore, koje je bilo u korelaciji sa starošću u MD1 bolesnika.

4. - U našem istraživanju je uočeno smanjenje nivoa beta amiloida 42 (A₄₂) kod bolesnika sa juvenilnom formom MD1 i smanjenje odnosa A₄₂/P-tau kod bolesnika sa adultnom MD1.

- Niži nivo A₄₂ je bio u korelaciji sa većim brojem CTG ponovaka kod bolesnika sa juvenilnom MD1, dok je smanjenje odnosa A₄₂/P-tau koreliralo sa starošću u bolesnika sa aMD1.

- Uo ena je pozitivna korelacija izme u nivoa T-tau, P-tau i A 42 u ispitivanoj kohorti MD1 bolesnika što se smatra specifi nim nalazom me u neurodegenerativnim bolestima.

5. - Kvalitet života bolesnika sa MD1 je bio podjednako loš i u fizi kim i u mentalnim domenima.

- Lošiji kvalitet života su imali bolesnici sa depresivnoš u, anksioznoš u, zamorom, prekomernom dnevnom pospanoš u i patološkim neuropsihološkim nalazima. Zamor je bio najzna ajniji prediktor lošijeg kvaliteta života kod bolesnika sa MD1.

*
* *

Kod ispitivanih bolesnika sa MD1 prona ene su zna ajne kognitivne i bihevioralne promene, koje nemaju samo akademski zna aj, ve je pokazan i njihov veliki uticaj na kvalitet života obolelih što otvara nove mogu nosti u simptomatskoj terapiji MD1.

Pomo u savremenih neurovizualizacionih metoda (morfometrije zasnovane na vokselu, difuzionog tenzorskog imidžinga i transkranijalne sonografije moždanog parenhima) otkriveno je difuzno ošte enje sive i bele mase mozga, uklju uju i korteks, supkortikalne strukture, moždano stablo i cerebelum. Ovi nalazi omogu avaju bolje razumevanje povezanosti strukturnih lezija mozga sa funkcionalnim ispadima. Pored toga, pojedini strukturni nalazi, poput hipoehogenosti *nc. raphe*, mogu uticati i na pravilan izbor terapije.

U istraživanju smo pokazali da je neuropsihološki i bihevioralni profil bolesnika sa MD1 u vezi sa genetskom osnovom bolesti, tj. sa brojem CTG ponovaka u DMPK genu, te da je bar deo centralnih promena povezan sa patologijom tau proteina i beta amiloida koji su, ina e, udruženi sa razli itim neurodegenerativnim oboljenjima. Pozitivna korelacija izme u nivoa tau proteina i beta amiloida u likvoru je specifi na za MD1 i može da predstavlja potencijalni biomarker ove bolesti. Pronalaženje adekvatnih centralnih biomarkera od velikog je zna aja, jer se uskoro o ekuju klini ke studije primene genske terapije u MD1. Biomarkeri su neophodni radi pra enja korisnih, ali i neželjenih efekata ove terapije od koje se mnogo o ekuje.

7. LITERATURA

- Abbruzzese C, Costanzi Porrini S, Mariani B, Gould FK, McAbney JP, Monckton DG, Ashizawa T, Giacanelli M. Instability of a premutation allele in homozygous patients with myotonic dystrophy type 1. *Ann Neurol* 2002;52(4):435-41.
- Abe K, Fujimura H, Toyooka K, Yorifuji S, Nishikawa Y, Hazama T, Yanagihara T. Involvement of the central nervous system in myotonic dystrophy. *J Neurol Sci* 1994;127(2):179-85.
- Abercrombie JF, Rogers J, Swash M. Faecal incontinence in myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64(1):128-30.
- Adie WJ. Dystrophia Myotonica (Myotonia Atrophica), an Heredo-familial Disease with Cataract. *Proc R Soc Med* 1923;16(Neurol Sect):36-44.
- Aitkens S, Kilmer DD, Wright NC, McCrory MA. Metabolic syndrome in neuromuscular disease. *Arch Phys Med Rehabil* 2005;86(5):1030-6.
- Akiguchi I, Nakano S, Shiino A, Kimura R, Inubushi T, Handa J, Nakamura M, Tanaka M, Oka N, Kimura J. Brain proton magnetic resonance spectroscopy and brain atrophy in myotonic dystrophy. *Arch Neurol* 1999;56(3):325-30.
- Allen RP, Picchiatti D, Hening WA, Trenkwalder C, Walters AS, Montplaisi J; Restless Legs Syndrome Diagnosis and Epidemiology workshop at the National Institutes of Health; International Restless Legs Syndrome Study Group. Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the National Institutes of Health. *Sleep Med* 2003;4(2):101-19.
- Alwazzan M, Newman E, Hamshere MG, Brook JD. Myotonic dystrophy is associated with a reduced level of RNA from the DMWD allele adjacent to the expanded repeat. *Hum Mol Genet* 1999;8(8):1491-7.
- Andrade A, de León MB, Hernández-Hernández O, Cisneros B, Felix R. Myotonic dystrophy CTG repeat expansion alters Ca²⁺ channel functional expression in PC12 cells. *FEBS Lett* 2007;581(23):4430-8.
- Angeard N, Gargiulo M, Jacquette A, Radvanyi H, Eymard B, Héron D. Cognitive profile in childhood myotonic dystrophy type 1: is there a global impairment? *Neuromuscul Disord* 2007;17(6):451-8.
- Angeard N, Jacquette A, Gargiulo M, Radvanyi H, Moutier S, Eymard B, Héron D. A new window on neurocognitive dysfunction in the childhood form of myotonic dystrophy type 1 (DM1). *Neuromuscul Disord* 2011;21(7):468-76.
- Annane D, Moore DH, Barnes PR, Miller RG. Psychostimulants for hypersomnia (excessive daytime sleepiness) in myotonic dystrophy. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;(3):CD003218.

- Antonini G, Clemenzi A, Bucci E, De Marco E, Morino S, Di Pasquale A, Latino P, Ruga G, Lenzi A, Vanacore N, Radicioni AF. Hypogonadism in DM1 and its relationship to erectile dysfunction. *J Neurol* 2011;258(7):1247-53.
- Antonini G, Clemenzi A, Bucci E, Morino S, Garibaldi M, Sepe-Monti M, Giubilei F, Novelli G. Erectile dysfunction in myotonic dystrophy type 1. *J Neurol* 2009;256:657-659.
- Antonini G, Mainero C, Romano A, Giubilei F, Ceschin V, Gragnani F, Morino S, Fiorelli M, Soscia F, Di Pasquale A, Caramia F. Cerebral atrophy in myotonic dystrophy: a voxel based morphometric study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75(11):1611-3.
- Antonini G, Soscia F, Giubilei F, De Carolis A, Gragnani F, Morino S, Ruberto A, Tatarelli R. Health-related quality of life in myotonic dystrophy type 1 and its relationship with cognitive and emotional functioning. *J Rehabil Med* 2006;38(3):181-5.
- Arambula JF, Ramisetty SR, Baranger AM, Zimmerman SC. A simple ligand that selectively targets CUG trinucleotide repeats and inhibits MBNL protein binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(38):16068-73.
- Araújo TL, Resqueti VR, Bruno S, Azevedo IG, Dourado ME Jr, Fregonezi G. Respiratory muscle strength and quality of life in myotonic dystrophy patients. *Rev Port Pneumol* 2010;16(6):892-8.
- Argov Z, de Visser M. What we do not know about pregnancy in hereditary neuromuscular disorders. *Neuromuscul Disord* 2009;19(10):675-9.
- Arsenault ME, Prévost C, Lescault A, Laberge C, Puymirat J, Mathieu J. Clinical characteristics of myotonic dystrophy type 1 patients with small CTG expansions. *Neurology* 2006;66(8):1248-50.
- Ascaso JF, Romero P, Real JT, Lorente RI, Martínez-Valls J, Carmena R. Abdominal obesity, insulin resistance, and metabolic syndrome in a southern European population. *Eur J Intern Med* 2003;14(2):101-6.
- Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. *Neuroimage* 2005;26:839-851.
- Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage* 2007;38:95-113.
- Ashizawa T, Dubel JR, Harati Y. Somatic instability of CTG repeat in myotonic dystrophy. *Neurology* 1993;43(12):2674-8.
- Ashizawa T, Epstein HF. Ethnic distribution of myotonic dystrophy gene. *Lancet* 1991;338(8767):642-3.
- Ashizawa T, Sarkar PS. Myotonic dystrophy types 1 and 2. *Handb Clin Neurol* 2011;101:193-237.

- Avrahami E, Katz A, Bornstein N, Korczyn AD. Computed tomographic findings of brain and skull in myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987;50(4):435-8.
- Axford MM, López-Castel A, Nakamori M, Thornton CA, Pearson CE. Replacement of the myotonic dystrophy type 1 CTG repeat with 'non-CTG repeat' insertions in specific tissues. *J Med Genet* 2011;48(7):438-43.
- Axford MM, Pearson CE. Illuminating CNS and cognitive issues in myotonic dystrophy: Workshop report. *Neuromusc Disord* 2013;23:370-4.
- Bachinski LL, Siritto M, Böhme M, Baggerly KA, Udd B, Krahe R. Altered MEF2 isoforms in myotonic dystrophy and other neuromuscular disorders. *Muscle Nerve* 2010;42(6):856-63.
- Bachmann G, Damian MS, Koch M, Schilling G, Fach B, Stöppler S. The clinical and genetic correlates of MRI findings in myotonic dystrophy. *Neuroradiology* 1996;38(7):629-35.
- Bae JS, Kim OK, Kim SJ, Kim BJ. Abnormalities of nerve conduction studies in myotonic dystrophy type 1: primary involvement of nerves or incidental coexistence? *J Clin Neurosci* 2008;15:1120-4.
- Balatsouras DG, Felekis D, Panas M, Xenellis J, Koutsis G, Kladi A, Korres SG. Inner ear dysfunction in myotonic dystrophy type 1. *Acta Neurol Scand* 2013;127(5):337-43.
- Barceló JM, Mahadevan MS, Tsilfidis C, MacKenzie AE, Korneluk RG. Intergenerational stability of the myotonic dystrophy protomutation. *Hum Mol Genet* 1993;2(6):705-9.
- Bassar PJ, Pierpaoli C. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B* 1996;111:209-219.
- Basu P, Majumder PP, Roychoudhury S, Bhattacharyya NP. Haplotype analysis of genomic polymorphisms in and around the myotonic dystrophy locus in diverse populations of India. *Hum Genet* 2001;108(4):310-7.
- Becker G, Berg D, Lesch KP, Becker T. Basal limbic system alteration in major depression: A hypothesis supported by transcranial sonography and MRI findings. *Int J Neuropsychopharmacol* 2001;4:21–31.
- Beebe DW, Groesz L, Wells C, Nichols A, McGee K. The neuropsychological effects of obstructive sleep apnea: a meta-analysis of norm-referenced and case-controlled data. *Sleep* 2003;26(3):298-307.
- Behnke S, Double KL, Duma S, et al. Substantia nigra echomorphology in the healthy very old: correlation with motor slowing. *Neuroimage* 2007;34:1054–59.

- Bellini M, Biagi S, Stasi C, Costa F, Mumolo MG, Ricchiuti A, Marchi S. Gastrointestinal manifestations in myotonic muscular dystrophy. *World J Gastroenterol* 2006 28;12(12):1821-8.
- Berg D, Godau J, Walter U. Transcranial sonography in movement disorders. *Lancet Neurol* 2008;7(11):1044-55.
- Berg D, Supprian T, Hofmann E, Zeiler B, Jager A, Lange KW, et al. Depression in Parkinson's disease: Brainstem midline alteration on transcranial sonography and magnetic resonance imaging. *J Neurol* 1999;246:1186–1193.
- Bergoffen J, Kant J, Sladky J, McDonald-McGinn D, Zackai EH, Fischbeck KH. Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 1994;31(7):518-20.
- Berul CI, Maguire CT, Gehrmann J, Reddy S. Progressive atrioventricular conduction block in a mouse myotonic dystrophy model. *J Interv Card Electrophysiol* 2000;4(2):351-8.
- Bhakta D, Groh MR, Shen C, Pascuzzi RM, Groh WJ. Increased mortality with left ventricular systolic dysfunction and heart failure in adults with myotonic dystrophy type 1. *Am Heart J* 2010;160(6):1137-41, 1141.e1.
- Bhakta D, Lowe MR, Groh WJ. Prevalence of structural cardiac abnormalities in patients with myotonic dystrophy type I. *Am Heart J* 2004;147(2):224-7.
- Bird TD, Follett C, Griep E. Cognitive and personality function in myotonic muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983;46(11):971-80.
- Bird TD. Myotonic Dystrophy Type 1. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP, editors. *GeneReviews™* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-1999.
- Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006;368:387–403.
- Bollinger KE, Kattouf V, Arthur B, Weiss AH, Kivlin J, Kerr N, West CE, Kipp M, Traboulsi EI. Hypermetropia and esotropia in myotonic dystrophy. *J AAPOS* 2008;12(1):69-71.
- Botta A, Rinaldi F, Catalli C, Vergani L, Bonifazi E, Romeo V, Loro E, Viola A, Angelini C, Novelli G. The CTG repeat expansion size correlates with the splicing defects observed in muscles from myotonic dystrophy type 1 patients. *J Med Genet* 2008;45(10):639-46.
- Botta A, Vallo L, Rinaldi F, Bonifazi E, Amati F, Biancolella M, Gambardella S, Mancinelli E, Angelini C, Meola G, Novelli G. Gene expression analysis in myotonic dystrophy: indications for a common molecular pathogenic pathway in DM1 and DM2. *Gene Expr* 2007;13(6):339-51.

- Braida C, Stefanatos RK, Adam B, Mahajan N, Smeets HJ, Niel F, Goizet C, Arveiler B, Koenig M, Lagier-Tourenne C, Mandel JL, Faber CG, de Die-Smulders CE, Spaans F, Monckton DG. Variant CCG and GGC repeats within the CTG expansion dramatically modify mutational dynamics and likely contribute toward unusual symptoms in some myotonic dystrophy type 1 patients. *Hum Mol Genet* 2010;19(8):1399-412.
- brainmap.wisc.edu/normalizeDARTELtoMNI
- Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, Aburatani H, Hunter K, Stanton VP, Thirion JP, Hudson T, Sohn R, Zemelman B, Snell RG, Rundle SA, Crow S, Davies J, Shelbourne P, Buxton J, Jones C, Juvonen V, Johnson K, Harper PS, Shaw DJ, Housman DE. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 1992;68:799-808.
- Brumback RA, Carlson KM. The depression of myotonic dystrophy: response to imipramine. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983;46(6):587-8.
- Brunner HG, Smeets HJ, Nillesen W, van Oost BA, van den Biezenbos JB, Joosten EM, Pinckers AJ, Hamel BC, Theeuwes AG, Wieringa B, et al. Myotonic dystrophy. Predictive value of normal results on clinical examination. *Brain* 1991;114(Pt 5):2303-11.
- Buj-Bello A, Furling D, Tronchère H, Laporte J, Lerouge T, Butler-Browne GS, Mandel JL. Muscle-specific alternative splicing of myotubularin-related 1 gene is impaired in DM1 muscle cells. *Hum Mol Genet* 2002;11(19):2297-307.
- Bungener C, Jouvent R, Delaporte C. Psychopathological and emotional deficits in myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65(3):353-6.
- Burke H. Raven Progressive Matrices: More on norms, reliability, and validity. *Journal of Clinical Psychology* 1985;41:231-235.
- Burns TM, Graham CD, Rose MR, Simmons Z. Quality of life and measures of quality of life in patients with neuromuscular disorders. *Muscle Nerve* 2012;46(1):9-25.
- Campbell C, Sherlock R, Jacob P, Blayney M. Congenital myotonic dystrophy: assisted ventilation duration and outcome. *Pediatrics* 2004;113(4):811-6.
- Caramia F, Mainero C, Gragnani F, Tinelli E, Fiorelli M, Ceschin V, Pantano P, Bucci E, Barra V, Bozzao L, Antonini G. Functional MRI changes in the central motor system in myotonic dystrophy type 1. *Magn Reson Imaging* 2010;28(2):226-34.
- Cardani R, Mancinelli E, Saino G, Bonavina L, Meola G: A putative role of ribonuclear inclusions and MBNL1 in the impairment of gallbladder smooth muscle contractility with cholelithiasis in myotonic dystrophy type1. *Neuromuscul Disord.*2008;18:641-5.
- Carey N, Johnson K, Nokelainen P, Peltonen L, Savontaus ML, Juvonen V, Anvret M, Grandell U, Chotai K, Robertson E, et al. Meiotic drive at the myotonic dystrophy locus? *Nat Genet* 1994;6(2):117-8.

- Carter JN, Steinbeck KS. Reduced adrenal androgens in patients with myotonic dystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;60(3):611-4.
- Catanzarite V, Gambling D, Bird LM, Honold J, Perkins E. Respiratory compromise after MgSO₄ therapy for preterm labor in a woman with myotonic dystrophy: a case report. *J Reprod Med* 2008;53(3):220-2.
- Censori B, Provinciali L, Danni M, Chiaramoni L, Maricotti M, Foschi N, Del Pesce M, Salvolini U. Brain involvement in myotonic dystrophy: MRI features and their relationship to clinical and cognitive conditions. *Acta Neurol Scand* 1994;90(3):211-7.
- Cerghet M, Tapos D, Serajee FJ, Mahbulul Huq AH. Homozygous myotonic dystrophy with craniosynostosis. *J Child Neurol* 2008;23(8):930-3.
- Chan JJ, Tey HL. Multiple pilomatricomas: case presentation and review of the literature. *Dermatol Online J* 2010;16(4):2.
- Chang L, Anderson T, Migneco OA, Boone K, Mehringer CM, Villanueva-Meyer J, Berman N, Mena I. Cerebral abnormalities in myotonic dystrophy. Cerebral blood flow, magnetic resonance imaging, and neuropsychological tests. *Arch Neurol* 1993;50(9):917-23.
- Chang L, Ernst T, Osborn D, Seltzer W, Leonido-Yee M, Poland RE. Proton spectroscopy in myotonic dystrophy: correlations with CTG repeats. *Arch Neurol* 1998;55(3):305-11.
- Charizanis K, Lee KY, Batra R, Goodwin M, Zhang C, Yuan Y, Shiue L, Cline M, Scotti MM, Xia G, Kumar A, Ashizawa T, Clark HB, Kimura T, Takahashi MP, Fujimura H, Jinnai K, Yoshikawa H, Gomes-Pereira M, Gourdon G, Sakai N, Nishino S, Foster TC, Ares M Jr, Darnell RB, Swanson MS. Muscleblind-like 2-mediated alternative splicing in the developing brain and dysregulation in myotonic dystrophy. *Neuron* 2012;75(3):437-50.
- Charlet-B N, Savkur RS, Singh G, Philips AV, Grice EA, Cooper TA. Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing. *Mol Cell* 2002;10(1):45-53.
- Chase TN, Fedio P, Foster NL, Brooks R, Di Chiro G, Mansi L. Wechsler Adult Intelligence Scale performance. Cortical localization by fluorodeoxyglucose F 18-positron emission tomography. *Arch Neurol* 1984;41(12):1244-7.
- Chen KM, Brody JA, Kurland LT. Patterns of neurologic diseases on Guam. *Arch Neurol* 1968;19(6):573-8.
- Ciafaloni E, Mignot E, Sansone V, Hilbert JE, Lin L, Lin X, Liu LC, Pigeon WR, Perlis ML, Thornton CA. The hypocretin neurotransmission system in myotonic dystrophy type 1. *Neurology* 2008;70(3):226-30.

- Cirignotta F, Mondini S, Zucconi M, Barrot-Cortes E, Sturani C, Schiavina M, Coccagna G, Lugaresi E. Sleep-related breathing impairment in myotonic dystrophy. *J Neurol* 1987;235(2):80-5.
- Cobo A, Martinez JM, Martorell L, Baiget M, Johnson K. Molecular diagnosis of homozygous myotonic dystrophy in two asymptomatic sisters. *Hum Mol Genet* 1993;2(6):711-5.
- Cobo AM, Poza JJ, Martorell L, López de Munain A, Emparanza JI, Baiget M. Contribution of molecular analyses to the estimation of the risk of congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 1995;32(2):105-8.
- Colombo G, Perini GI, Miotti MV, Armani M, Angelini C. Cognitive and psychiatric evaluation of 40 patients with myotonic dystrophy. *Ital J Neurol Sci* 1992;13(1):53-8.
- Connor JR, Boyer PJ, Menzies SL, et al. Neuropathological examination suggests impaired brain iron acquisition in restless legs syndrome. *Neurology* 2003;61:304–09.
- Cros D, Harnden P, Pouget J, Pellissier JF, Gastaut JL, Serratrice G. Peripheral neuropathy in myotonic dystrophy: a nerve biopsy study. *Ann Neurol* 1988;23(5):470-6.
- Curschmann H. Über familiar atrophische Myotonie. *Dtsch Z Nervenheilkd* 1912;45:161–202.
- Damian MS, Gerlach A, Schmidt F, Lehmann E, Reichmann H. Modafinil for excessive daytime sleepiness in myotonic dystrophy. *Neurology* 2001;56(6):794-6.
- Das M, Moxley RT 3rd, Hilbert JE, Martens WB, Letren L, Greene MH, Gadalla SM. Correlates of tumor development in patients with myotonic dystrophy. *J Neurol* 2012;259(10):2161-6.
- Day JW, Ranum LP. RNA pathogenesis of the myotonic dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2005;15(1):5-16.
- de Die-Smulders CE, Howeler CJ, Thijs C, Mirandolle JF, Anten HB, Smeets HJ, Chandler KE, Geraedts JP: Age and causes of death in adult-onset myotonic dystrophy. *Brain* 1998;121:1557-1563.
- de Die-Smulders CE, Smeets HJ, Loots W, Anten HB, Mirandolle JF, Geraedts JP, Höweler CJ. Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 1997;34(11):930-3.
- de Haro M, Al-Ramahi I, De Gouyon B, Ukani L, Rosa A, Faustino NA, Ashizawa T, Cooper TA, Botas J. MBNL1 and CUGBP1 modify expanded CUG-induced toxicity in a *Drosophila* model of myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2006;15(13):2138-45.
- de León MB, Cisneros B. Myotonic dystrophy 1 in the nervous system: from the clinic to molecular mechanisms. *J Neurosci Res* 2008;86(1):18-26.

- De Rademaeker M, Verpoest W, De Rycke M, Seneca S, Sermon K, Desmyttere S, Bonduelle M, Van der Elst J, Devroey P, Liebaers I. Preimplantation genetic diagnosis for myotonic dystrophy type 1: upon request to child. *Eur J Hum Genet* 2009;17(11):1403-10.
- de Swart BJ, van Engelen BG, van de Kerkhof JP, Maassen BA. Myotonia and flaccid dysarthria in patients with adult onset myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75(10):1480-2.
- Delaporte C. Personality patterns in patients with myotonic dystrophy. *Arch Neurol* 1998;55(5):635-40.
- Di Costanzo A, de Cristofaro M, Di Iorio G, Daniele A, Bonavita S, Tedeschi G. Paternally inherited case of congenital DM1: brain MRI and review of literature. *Brain Dev* 2009;31(1):79-82.
- Di Costanzo A, Di Salle F, Santoro L, Bonavita V, Tedeschi G. T2 relaxometry of brain in myotonic dystrophy. *Neuroradiology* 2001;43(3):198-204.
- Di Costanzo A, Di Salle F, Santoro L, Tessitore A, Bonavita V, Tedeschi G. Pattern and significance of white matter abnormalities in myotonic dystrophy type 1: an MRI study. *J Neurol* 2002;249(9):1175-82.
- Di Costanzo A, Santoro L, de Cristofaro M, Manganelli F, Di Salle F, Tedeschi G. Familial aggregation of white matter lesions in myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscul Disord* 2008;18(4):299-305.
- Dickinson CJ. Chronic fatigue syndrome--aetiological aspects. *Eur J Clin Invest* 1997;27(4):257-67.
- Douniol M, Jacquette A, Cohen D, Bodeau N, Rachidi L, Angeard N, Cuisset JM, Vallée L, Eymard B, Plaza M, Héron D, Guilé JM. Psychiatric and cognitive phenotype of childhood myotonic dystrophy type 1. *Dev Med Child Neurol* 2012;54(10):905-11.
- Douniol M, Jacquette A, Guilé JM, Tanguy ML, Angeard N, Héron D, Plaza M, Cohen D. Psychiatric and cognitive phenotype in children and adolescents with myotonic dystrophy. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2009;18(12):705-15.
- Du H, Cline MS, Osborne RJ, Tuttle DL, Clark TA, Donohue JP, Hall MP, Shiue L, Swanson MS, Thornton CA, Ares M Jr. Aberrant alternative splicing and extracellular matrix gene expression in mouse models of myotonic dystrophy. *Nat Struct Mol Biol* 2010;17(2):187-93.
- Duveneck MJ, Portwood MM, Wicks JJ, Lieberman JS. Depression in myotonic muscular dystrophy. *Arch Phys Med Rehabil* 1986;67(12):875-7.
- Echenne B, Rideau A, Roubertie A, Sébire G, Rivier F, Lemieux B. Myotonic dystrophy type I in childhood Long-term evolution in patients surviving the neonatal period. *Eur J Paediatr Neurol* 2008;12(3):210-23.

- Ekström AB, Hakenäs-Plate L, Samuelsson L, Tulinius M, Wentz E. Autism spectrum conditions in myotonic dystrophy type 1: a study on 57 individuals with congenital and childhood forms. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008;147B(6):918-26.
- Elliott R, Sahakian BJ, McKay AP, Herrod JJ, Robbins TW, Paykel ES. Neuropsychological impairments in unipolar depression: the influence of perceived failure on subsequent performance. *Psychol Med* 1996;26(5):975-89.
- Emery AE. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases – a world survey. *Neuromusc Disord* 1991;1:19-29.
- Epstein AE, Dimarco JP, Ellenbogen KA, Estes NA 3rd, Freedman RA, Gettes LS, Gillinov AM, Gregoratos G, Hammill SC, Hayes DL, Hlatky MA, Newby LK, Page RL, Schoenfeld MH, Silka MJ, Stevenson LW, Sweeney MO; American College of Cardiology; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; American Association for Thoracic Surgery; Society of Thoracic Surgeons. ACC/AHA/HRS 2008 Guidelines for device-based therapy of cardiac rhythm abnormalities. *Heart Rhythm* 2008;5(6):e1-62.
- Fardaei M, Rogers MT, Thorpe HM, Larkin K, Hamshere MG, Harper PS, Brook JD. Three proteins, MBNL, MBLL and MBXL, co-localize in vivo with nuclear foci of expanded-repeat transcripts in DM1 and DM2 cells. *Hum Mol Genet* 2002;11(7):805-14.
- Fernández-Real JM, Molina A, Broch M, Ricart W, Gutiérrez C, Casamitjana R, Vendrell J, Soler J, Gómez-Sáez JM. Tumor necrosis factor system activity is associated with insulin resistance and dyslipidemia in myotonic dystrophy. *Diabetes* 1999;48(5):1108-12.
- Fierro B, Daniele O, Aloisio A, Buffa D, La Bua V, Oliveri M, Manfre L, Brighina F. Neurophysiological and radiological findings in myotonic dystrophy patients. *Eur J Neurol* 1998;5(1):89-94.
- Foff EP, Mahadevan MS. Therapeutics development in myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* 2011;44(2):160-9.
- Fokstuen S, Myring J, Evans C, Harper PS. Presymptomatic testing in myotonic dystrophy: genetic counselling approaches. *J Med Genet* 2001;38(12):846-50.
- Folstein M, Folstein S, McHugh P. Mini-Mental State - A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12(3):189-98.
- Franzese A, Antonini G, Iannelli M, Leardi MG, Spada S, Vichi R, Millefiorini M, Lazzari R. Intellectual functions and personality in subjects with noncongenital myotonic muscular dystrophy. *Psychol Rep* 1991;68(3 Pt 1):723-32.
- fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/data/atlas-descriptions.html
- Fu YH, Pizzuti A, Fenwick RG Jr, King J, Rajnarayan S, Dunne PW, Dubel J, Nasser GA, Ashizawa T, de Jong P, et al. An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. *Science* 1992;255(5049):1256-8.

- Fugier C, Klein AF, Hammer C, Vassilopoulos S, Ivarsson Y, Toussaint A, Tosch V, Vignaud A, Ferry A, Messaddeq N, Kokunai Y, Tsuburaya R, de la Grange P, Dembele D, Francois V, Precigout G, Boulade-Ladame C, Hummel MC, Lopez de Munain A, Sergeant N, Laquerrière A, Thibault C, Deryckere F, Auboeuf D, Garcia L, Zimmermann P, Udd B, Schoser B, Takahashi MP, Nishino I, Bassez G, Laporte J, Furling D, Charlet-Berguerand N. Misregulated alternative splicing of BIN1 is associated with T tubule alterations and muscle weakness in myotonic dystrophy. *Nat Med* 2011;17(6):720-5.
- Fukazawa H, Sakurada T, Yoshida K, Kaise N, Kaise K, Nomura T, Yamamoto M, Saito S, Takase S, Yoshinaga K. Thyroid function in patients with myotonic dystrophy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990;32(4):485-90.
- Fukuda H, Horiguchi J, Ono C, Ohshita T, Takaba J, Ito K. Diffusion tensor imaging of cerebral white matter in patients with myotonic dystrophy. *Acta Radiol* 2005;46(1):104-9.
- Furling D, Doucet G, Langlois MA, Timchenko L, Belanger E, Cossette L, Puymirat J. Viral vector producing antisense RNA restores myotonic dystrophy myoblast functions. *Gene Ther* 2003;10(9):795-802.
- Furling D, Lemieux D, Taneja K, Puymirat J. Decreased levels of myotonic dystrophy protein kinase (DMPK) and delayed differentiation in human myotonic dystrophy myoblasts. *Neuromuscul Disord* 2001;11(8):728-35.
- Furling D, Marette A, Puymirat J. Insulin-like growth factor I circumvents defective insulin action in human myotonic dystrophy skeletal muscle cells. *Endocrinology* 1999;140(9):4244-50.
- Gadalla SM, Lund M, Pfeiffer RM, Gørtz S, Mueller CM, Moxley RT 3rd, Kristinsson SY, Björkholm M, Shebl FM, Hilbert JE, Landgren O, Wohlfahrt J, Melbye M, Greene MH. Cancer risk among patients with myotonic muscular dystrophy. *JAMA* 2011;306(22):2480-6.
- Gagnon C, Chouinard MC, Laberge L, Veillette S, Bégin P, Breton R, Jean S, Brisson D, Gaudet D, Mathieu J; DMI Expert Panel. Health supervision and anticipatory guidance in adult myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscul Disord* 2010;20(12):847-51.
- Gagnon C, Mathieu J, Jean S, Laberge L, Perron M, Veillette S, Richer L, Noreau L. Predictors of disrupted social participation in myotonic dystrophy type 1. *Arch Phys Med Rehabil* 2008;89(7):1246-55.
- Garcia Filho CA, Prata TS, Sousa AK, Doi LM, Melo Jr LA. Intraocular pressure, corneal thickness, and corneal hysteresis in Steinert's myotonic dystrophy. *Arq Bras Oftalmol* 2011;74(3):161-2.

- García-López A, Llamusí B, Orzáez M, Pérez-Payá E, Artero RD. In vivo discovery of a peptide that prevents CUG-RNA hairpin formation and reverses RNA toxicity in myotonic dystrophy models. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(29):11866-71.
- Garrott HM, Walland MJ, O'Day J. Recurrent posterior capsular opacification and capsulorhexis contracture after cataract surgery in myotonic dystrophy. *Clin Experiment Ophthalmol* 2004;32(6):653-5.
- Gaul C, Schmidt T, Windisch G, Wieser T, Müller T, Vielhaber S, Zierz S, Leplow B. Subtle cognitive dysfunction in adult onset myotonic dystrophy type 1 (DM1) and type 2 (DM2). *Neurology* 2006;67(2):350-2.
- Geffen G, Hoar KJ, O'Hanlon AP, Clark CR, Geffen LB. Performance measures of 16- to 86-year-old males and females on the Auditory Verbal Learning Test. *Clin Neuropsychol* 1990;4:45-63.
- Geh JL, Moss AL. Multiple pilomatrixomata and myotonic dystrophy: a familial association. *Br J Plast Surg* 1999;52(2):143-5.
- Gennarelli M, Pavoni M, Amicucci P, Angelini C, Menegazzo E, Zelano G, Novelli G, Dallapiccola B. Reduction of the DM-associated homeo domain protein (DMAHP) mRNA in different brain areas of myotonic dystrophy patients. *Neuromuscul Disord* 1999;9(4):215-9.
- Giorgio A, Dotti MT, Battaglini M, Marino S, Mortilla M, Stromillo ML, Bramanti P, Orrico A, Federico A, De Stefano N. Cortical damage in brains of patients with adult-form of myotonic dystrophy type 1 and no or minimal MRI abnormalities. *J Neurol* 2006;253(11):1471-7.
- Glantz RH, Wright RB, Huckman MS, Garron DC, Siegel IM. Central nervous system magnetic resonance imaging findings in myotonic dystrophy. *Arch Neurol* 1988;45(1):36-7.
- Godau J, Klose U, Di Santo A, Schweitzer K, Berg D. Multiregional brain iron deficiency in restless legs syndrome. *Mov Disord* 2008;23:1184-87.
- Godau J, Schweitzer KJ, Liepelt I, Gerloff C, Berg D. Substantia nigra hypoechogenicity: definition and findings in restless legs syndrome. *Mov Disord* 2007;22(2):187-92.
- Godau J, Sojer M. Transcranial sonography in restless legs syndrome. *Int Rev Neurobiol* 2010;90:199-215.
- Goldman A, Krause A, Ramsay M, Jenkins T. Founder effect and prevalence of myotonic dystrophy in South Africans: molecular studies. *Am J Hum Genet* 1996;59(2):445-52.
- Gomes-Pereira M, Bidichandani SI, Monckton DG. Analysis of unstable triplet repeats using small-pool polymerase chain reaction. *Methods Mol Biol* 2004;277:61-76.

- Gomes-Pereira M, Monckton DG. Chemical modifiers of unstable expanded simple sequence repeats: what goes up, could come down. *Mutat Res* 2006;598(1-2):15-34.
- Goodglass H, Kaplan E. The assessment of aphasia and related disorders. Philadelphia: Lea and Febiger, 1983.
- Goossens E, Steyaert J, De Die-Smulders C, Willekens D, Fryns JP. Emotional and behavioral profile and child psychiatric diagnosis in the childhood type of myotonic dystrophy. *Genet Couns* 2000;11(4):317-27.
- Groh WJ, Groh MR, Saha C, Kincaid JC, Simmons Z, Ciafaloni E, Pourmand R, Otten RF, Bhakta D, Nair GV, Marashdeh MM, Zipes DP, Pascuzzi RM. Electrocardiographic abnormalities and sudden death in myotonic dystrophy type 1. *N Engl J Med* 2008;358(25):2688-97.
- Gruji V, Dragni N, Radi I, Harhaji S, Susnjevi S. Overweight and obesity among adults in Serbia: results from the National Health Survey. *Eat Weight Disord* 2010;15(1-2):e34-42.
- Halliday D, Ford GC, Edwards RH, Rennie MJ, Griggs RC. In vivo estimation of muscle protein synthesis in myotonic dystrophy. *Ann Neurol* 1985;17(1):65-9.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960;23:56-62.
- Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol* 1959;32:50-5.
- Hamshere MG, Harley H, Harper P, Brook JD, Brookfield JF Myotonic dystrophy: the correlation of (CTG) repeat length in leucocytes with age at onset is significant only for patients with small expansions. *J Med Genet* 1999;36(1):59-61.
- Hamshere MG, Newman EE, Alwazzan M, Athwal BS, Brook JD. Transcriptional abnormality in myotonic dystrophy affects DMPK but not neighboring genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(14):7394-9.
- Hao M, Akrami K, Wei K, De Diego C, Che N, Ku JH, Tidball J, Graves MC, Shieh PB, Chen F. Muscleblind-like 2 (Mbnl2) -deficient mice as a model for myotonic dystrophy. *Dev Dyn* 2008;237(2):403-10.
- Harper P. Myotonic dystrophy. 3rd ed. London: WB Saunders; 2001.
- Hartmann T, Bieger SC, Brühl B, Tienari PJ, Ida N, Allsop D, Roberts GW, Masters CL, Dotti CG, Unsicker K, Beyreuther K. Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's disease A beta40/42 amyloid peptides. *Nat Med* 1997;3(9):1016–20.
- Hashimoto T, Tayama M, Miyazaki M, Murakawa K, Kawai H, Nishitani H, Kuroda Y. Neuroimaging study of myotonic dystrophy. I. Magnetic resonance imaging of the brain. *Brain Dev* 1995;17(1):24-7.

- Hayasaka S, Kiyosawa M, Katsumata S, Honda M, Takase S, Mizuno K. Arch Ophthalmol 1984;102(1):88-93.
- Heaton RK. A manual for the Wisconsin Card Sorting Test. Odessa Fl: Psychological Assessment Resources Inc, 1981.
- Heatwole CR, Miller J, Martens B, Moxley RT 3rd. Laboratory abnormalities in ambulatory patients with myotonic dystrophy type 1. Arch Neurol 2006;63(8):1149-53. Heatwole C, Bode R, Johnson N, Quinn C, Martens W, McDermott MP, Rothrock N, Thornton C, Vickrey B, Victorson D, Moxley R 3rd. Patient-reported impact of symptoms in myotonic dystrophy type 1 (PRISM-1). Neurology 2012;79(4):348-57.
- Hermans MCE, Faber CG, Vanhoutte EK, Bakkers M, De Baets MH, de Die-Smulders CEM, Merkies ISJ. Peripheral neuropathy in myotonic dystrophy type 1. J Periph Nerv Syst 2011;16:24-29.
- Higham CF, Morales F, Cobbold CA, Haydon DT, Monckton DG. High levels of somatic DNA diversity at the myotonic dystrophy type 1 locus are driven by ultra-frequent expansion and contraction mutations. Hum Mol Genet 2012;21(11):2450-63.
- Hilton-Jones D, Bowler M, Lochmueller H, Longman C, Petty R, Roberts M, Rogers M, Turner C, Wilcox D. Modafinil for excessive daytime sleepiness in myotonic dystrophy type 1--the patients' perspective. Neuromuscul Disord 2012;22(7):597-603.
- Hilton-Jones D. Myotonic dystrophy--forgotten aspects of an often neglected condition. Curr Opin Neurol 1997;10(5):399-401.
- Ho TH, Bundman D, Armstrong DL, Cooper TA. Transgenic mice expressing CUG-BP1 reproduce splicing mis-regulation observed in myotonic dystrophy. Hum Mol Genet 2005;14(11):1539-47.
- Holmberg B, Johnels B, Blennow K, Rosengren L. Cerebrospinal fluid Abeta42 is reduced in multiple system atrophy but normal in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. Movement Disorders 2003;18:186-90.
- Hooper HE. The Hooper Visual Organization Test: manual. Beverly Hills: Western Psychological Services 1958.
- Hortas ML, Castilla JA, Gil MT, Molina J, Garrido ML, Morell M, Redondo M. Decreased sperm function of patients with myotonic muscular dystrophy. Hum Reprod 2000;15(2):445-8.
- Howard RS, Wiles CM, Hirsch NP, Spencer GT. Respiratory involvement in primary muscle disorders: assessment and management. Q J Med 1993;86(3):175-89.
- Hsiao KM, Chen SS, Li SY, Chiang SY, Lin HM, Pan H, Huang CC, Kuo HC, Jou SB, Su CC, Ro LS, Liu CS, Lo MC, Chen CM, Lin CC. Epidemiological and genetic studies of myotonic dystrophy type 1 in Taiwan. Neuroepidemiology 2003;22(5):283-9.

- <http://www.qualitymetric.com> SF-36 Health Survey (Original version) Language Recalls.
- Huang CC, Kuo HC. Myotonic dystrophies. *Chang Gung Med J* 2005;28(8):517-26.
- Huang Y, Kotov R, de Girolamo G, Preti A, Angermeyer M, Benjet C, Demyttenaere K, de Graaf R, Gureje O, Karam AN, Lee S, Lépine JP, Matschinger H, Posada-Villa J, Suliman S, Vilagut G, Kessler RC. DSM-IV personality disorders in the WHO World Mental Health Surveys. *Br J Psychiatry* 2009;195(1):46-53.
- Huber H. Transcranial sonography–anatomy. *Int Rev Neurobiol* 2010;90:35–45.
- Huber SJ, Kissel JT, Shuttleworth EC, Chakeres DW, Clapp LE, Brogan MA. Magnetic resonance imaging and clinical correlates of intellectual impairment in myotonic dystrophy. *Arch Neurol* 1989;46(5):536-40.
- Huichalaf C, Sakai K, Jin B, Jones K, Wang GL, Schoser B, Schneider-Gold C, Sarkar P, Pereira-Smith OM, Timchenko N, Timchenko L. Expansion of CUG RNA repeats causes stress and inhibition of translation in myotonic dystrophy 1 (DM1) cells. *FASEB J* 2010;24(10):3706-19.
- Ikezoe K, Nakamori M, Furuya H, Arahata H, Kanemoto S, Kimura T, Imaizumi K, Takahashi MP, Sakoda S, Fujii N, Kira J. Endoplasmic reticulum stress in myotonic dystrophy type 1 muscle. *Acta Neuropathol* 2007;114(5):527-35.
- Ingelsson M, Fukumoto, H, Newell KL, Growdon JH, Hedley Whyte ET, Frosch MP, Albert MS, Hyman BT, Irizarry MC. Early Abeta accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain. *Neurology* 2004;62(6):925-31.
- Ishii S, Nishio T, Sunohara N, Yoshihara T, Takemura K, Hikiji K, Tsujino S, Sakuragawa N. Small increase in triplet repeat length of cerebellum from patients with myotonic dystrophy. *Hum Genet* 1996;98(2):138-40.
- Itoh H, Shimizu M, Horita Y, Ino H, Taguchi T, Kajinami K, Yagi K, Chujo D, Mabuchi H. Microvascular ischemia in patients with myotonic dystrophy. *Jpn Circ J* 2000;64(9):720-2.
- Itoh K, Mitani M, Kawamoto K, Futamura N, Funakawa I, Jinnai K, Fushiki S. Neuropathology does not Correlate with Regional Differences in the Extent of Expansion of CTG Repeats in the Brain with Myotonic Dystrophy Type 1. *Acta Histochem Cytochem* 2010;43(6):149-56.
- Jansen G, Bächner D, Coerwinkel M, Wormskamp N, Hameister H, Wieringa B. Structural organization and developmental expression pattern of the mouse WD-repeat gene DMR-N9 immediately upstream of the myotonic dystrophy locus. *Hum Mol Genet* 1995;4(5):843-52.
- Jansen G, Groenen PJ, Bächner D, Jap PH, Coerwinkel M, Oerlemans F, van den Broek W, Gohlsch B, Pette D, Plomp JJ, Molenaar PC, Nederhoff MG, van Echteld CJ, Dekker

M, Berns A, Hameister H, Wieringa B. Abnormal myotonic dystrophy protein kinase levels produce only mild myopathy in mice. *Nat Genet* 1996;13(3):316-24.

- Jiang H, Mankodi A, Swanson MS, Moxley RT, Thornton CA. Myotonic dystrophy type 1 is associated with nuclear foci of mutant RNA, sequestration of muscleblind proteins and deregulated alternative splicing in neurons. *Hum Mol Genet* 2004;13(24):3079-88.
- Johansson A, Carlström K, Ahrén B, Cederquist K, Krylberg E, Forsberg H, Olsson T. Abnormal cytokine and adrenocortical hormone regulation in myotonic dystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(9):3169-76.
- Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991;14:540-545.
- Johnson NE, Heatwole CR. Myotonic dystrophy: from bench to bedside. *Semin Neurol* 2012;32(3):246-54.
- Johnson NE, Luebke E, Eastwood E, Chin N, Moxley RT 3rd, Heatwole CR. The Impact of Congenital and Childhood Myotonic Dystrophy on Quality of Life: A Qualitative Study of Associated Symptoms. *J Child Neurol* 2013. [Epub ahead of print]
- Joyce E, Blumenthal S, Wessely S. Memory, attention, and executive function in chronic fatigue syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;60(5):495-503.
- Kaliman P, Llagostera E. Myotonic dystrophy protein kinase (DMPK) and its role in the pathogenesis of myotonic dystrophy 1. *Cell Signal* 2008;20(11):1935-41.
- Kalkman JS, Schillings ML, van der Werf SP, Padberg GW, Zwarts MJ, van Engelen BG, Bleijenberg G. Experienced fatigue in facioscapulohumeral dystrophy, myotonic dystrophy, and HMSN-I. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76(10):1406-9.
- Kalkman JS, Schillings ML, Zwarts MJ, van Engelen BG, Bleijenberg G. Psychiatric disorders appear equally in patients with myotonic dystrophy, facioscapulohumeral dystrophy, and hereditary motor and sensory neuropathy type I. *Acta Neurol Scand* 2007;115(4):265-70.
- Kaminsky P, Poussel M, Pruna L, Deibener J, Chenuel B, Brembilla-Perrot B. Organ dysfunction and muscular disability in myotonic dystrophy type 1. *Medicine (Baltimore)* 2011;90(4):262-8.
- Kamsteeg EJ, Kress W, Catalli C, Hertz JM, Witsch-Baumgartner M, Buckley MF, van Engelen BG, Schwartz M, Scheffer H. Best practice guidelines and recommendations on the molecular diagnosis of myotonic dystrophy types 1 and 2. *Eur J Hum Genet* 2012;20(12):1203-8.
- Kanadia RN, Johnstone KA, Mankodi A, Lungu C, Thornton CA, Esson D, Timmers AM, Hauswirth WW, Swanson MS. A muscleblind knockout model for myotonic dystrophy. *Science* 2003;302(5652):1978-80.

- Kanadia RN, Shin J, Yuan Y, Beattie SG, Wheeler TM, Thornton CA, Swanson MS. Reversal of RNA missplicing and myotonia after muscleblind overexpression in a mouse poly(CUG) model for myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(31):11748-53.
- Kaplan EF, Goodglass H, Weintraub S. *The Boston Naming Test*. Boston: E. Kaplan, H. Goodglass, 1978.
- Kassubek J, Juengling FD, Hoffmann S, Rosenbohm A, Kurt A, Jurkat-Rott K, Steinbach P, Wolf M, Ludolph AC, Lehmann-Horn F, Lerche H, Weber YG. Quantification of brain atrophy in patients with myotonic dystrophy and proximal myotonic myopathy: a controlled 3-dimensional magnetic resonance imaging study. *Neurosci Lett* 2003;348(2):73-6.
- Kempton S, Vance A, Maruff P, Luk E, Costin J, Pantelis C. Executive function and attention deficit hyperactivity disorder: stimulant medication and better executive function performance in children. *Psychol Med* 1999;29(3):527-38.
- Kilmer DD, McCrory MA, Wright NC, Aitkens SG, Bernauer EM. The effect of a high resistance exercise program in slowly progressive neuromuscular disease. *Arch Phys Med Rehabil* 1994;75(5):560-3.
- Kim US, Kim JS, Hwang JM. A case of myotonic dystrophy with pigmentary retinal changes. *Korean J Ophthalmol* 2009;23(2):121-3.
- Kimura T, Nakamori M, Lueck JD, Pouliquin P, Aoike F, Fujimura H, Dirksen RT, Takahashi MP, Dulhunty AF, Sakoda S. Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2005;14(15):2189-200.
- Kinoshita M, Komori T, Ohtake T, Takahashi R, Nagasawa R, Hirose K. Abnormal calcium metabolism in myotonic dystrophy as shown by the Ellsworth-Howard test and its relation to CTG triplet repeat length. *J Neurol* 1997;244(10):613-22.
- Klein AF, Gasnier E, Furling D. Gain of RNA function in pathological cases: Focus on myotonic dystrophy. *Biochimie* 2011;93(11):2006-12.
- Kley RA, Tarnopolsky MA, Vorgerd M. Creatine for treating muscle disorders. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(2):CD004760.
- Kobayakawa M, Tsuruya N, Kawamura M. Theory of mind impairment in adult-onset myotonic dystrophy type 1. *Neurosci Res* 2012;72(4):341-6.
- Kobayakawa M, Tsuruya N, Takeda A, Suzuki A, Kawamura M. Facial emotion recognition and cerebral white matter lesions in myotonic dystrophy type 1. *J Neurol Sci* 2010;290(1-2):48-51.

- Koebis M, Ohsawa N, Kino Y, Sasagawa N, Nishino I, Ishiura S. Alternative splicing of myomesin 1 gene is aberrantly regulated in myotonic dystrophy type 1. *Genes Cells* 2011;16(9):961-72.
- Kornblum C, Reul J, Kress W, Grothe C, Amanatidis N, Klockgether T, Schröder R. Cranial magnetic resonance imaging in genetically proven myotonic dystrophy type 1 and 2. *J Neurol* 2004;251(6):710-4.
- Kouki T, Takasu N, Nakachi A, Tamanaha T, Komiya I, Tawata M. Low-dose metformin improves hyperglycaemia related to myotonic dystrophy. *Diabet Med* 2005;22(3):346-7.
- Krahe R, Eckhart M, Ogunniyi AO, Osuntokun BO, Siciliano MJ, Ashizawa T. De novo myotonic dystrophy mutation in a Nigerian kindred. *Am J Hum Genet* 1995;56(5):1067-74.
- Krol J, Fiszer A, Mykowska A, Sobczak K, de Mezer M, Krzyzosiak WJ. Ribonuclease dicer cleaves triplet repeat hairpins into shorter repeats that silence specific targets. *Mol Cell* 2007;25(4):575-86.
- Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD. The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol* 1989;46:1121-3.
- Kuo HC, Hsieh YC, Wang HM, Chuang WL, Huang CC. Correlation among subcortical white matter lesions, intelligence and CTG repeat expansion in classic myotonic dystrophy type 1. *Acta Neurol Scand* 2008;117(2):101-7.
- Laberge L, Bégin P, Montplaisir J, Mathieu J. Sleep complaints in patients with myotonic dystrophy. *J Sleep Res* 2004;13(1):95-100.
- Laberge L, Dauvilliers Y, Bégin P, Richer L, Jean S, Mathieu J. Fatigue and daytime sleepiness in patients with myotonic dystrophy type 1: to lump or split? *Neuromuscul Disord* 2009;19(6):397-402.
- Laberge L, Gagnon C, Jean S, Mathieu J. Fatigue and daytime sleepiness rating scales in myotonic dystrophy: a study of reliability. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1403-5.
- Lam LT, Pham YC, Nguyen TM, Morris GE. Characterization of a monoclonal antibody panel shows that the myotonic dystrophy protein kinase, DMPK, is expressed almost exclusively in muscle and heart. *Hum Mol Genet* 2000;9(14):2167-73.
- Lane R, Carey N, Orrell R, Moxley RT 3rd. Claude Monet's vision. *Lancet* 1997;349(9053):734.
- Langlois MA, Boniface C, Wang G, Alluin J, Salvaterra PM, Puymirat J, Rossi JJ, Lee NS. Cytoplasmic and nuclear retained DMPK mRNAs are targets for RNA interference in myotonic dystrophy cells. *J Biol Chem* 2005;280(17):16949-54.

- Langlois MA, Lee NS, Rossi JJ, Puymirat J. Hammerhead ribozyme-mediated destruction of nuclear foci in myotonic dystrophy myoblasts. *Mol Ther* 2003;7(5 Pt 1):670-80.
- Lavedan C, Hofmann-Radvanyi H, Shelbourne P, Rabes JP, Duros C, Savoy D, Dehaupas I, Luce S, Johnson K, Junien C. Myotonic dystrophy: size- and sex-dependent dynamics of CTG meiotic instability, and somatic mosaicism. *Am J Hum Genet* 1993;52(5):875-83.
- Le Ber I, Martinez M, Campion D, Laquerrière A, Bétard C, Bassez G, Girard C, Saugier-Verber P, Raux G, Sergeant N, Magnier P, Maissonobe T, Eymard B, Duyckaerts C, Delacourte A, Frebourg T, Hannequin D. A non-DM1, non-DM2 multisystem myotonic disorder with frontotemporal dementia: phenotype and suggestive mapping of the DM3 locus to chromosome 15q21-24. *Brain* 2004;127(Pt 9):1979-92.
- Lee JE, Cooper TA. Pathogenic mechanisms of myotonic dystrophy. *Biochem Soc Trans* 2009;37(Pt 6):1281-6.
- Leroy O, Wang J, Maurage CA, Parent M, Cooper T, Buée L, Sergeant N, Andreadis A, Caillet-Boudin ML. Brain-specific change in alternative splicing of Tau exon 6 in myotonic dystrophy type 1. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762(4):460-7.
- Lezak MD. Neuropsychological assessment. New York: Oxford University Press, 1983.
- Lin X, Miller JW, Mankodi A, Kanadia RN, Yuan Y, Moxley RT, Swanson MS, Thornton CA. Failure of MBNL1-dependent post-natal splicing transitions in myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* 2006;15(13):2087-97.
- Lindeman E, Leffers P, Spaans F, Drukker J, Reulen J, Kerckhoffs M, Köke A. Strength training in patients with myotonic dystrophy and hereditary motor and sensory neuropathy: a randomized clinical trial. *Arch Phys Med Rehabil* 1995;76(7):612-20.
- Liquori CL, Ricker K, Moseley ML, Jacobsen JF, Kress W, Naylor SL, Day JW, Ranum LP. Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. *Science* 2001;293(5531):864-7.
- Logigian EL, Blood CL, Dilek N, Martens WB, Moxley RT 4th, Wiegner AW, Thornton CA, Moxley RT 3rd. Quantitative analysis of the "warm-up" phenomenon in myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* 2005;32(1):35-42.
- Logigian EL, Ciafaloni E, Quinn LC, Dilek N, Pandya S, Moxley RT 3rd, Thornton CA. Severity, type, and distribution of myotonic discharges are different in type 1 and type 2 myotonic dystrophy. *Muscle Nerve* 2007;35(4):479-85.
- Logigian EL, Martens WB, Moxley RT 4th, McDermott MP, Dilek N, Wiegner AW, Pearson AT, Barbieri CA, Annis CL, Thornton CA, Moxley RT 3rd. Mexiletine is an effective antimyotonia treatment in myotonic dystrophy type 1. *Neurology* 2010;74(18):1441-8.

- Logullo F, Censori B, Danni M, Del Pesce M, Di Bella P, Provinciali L. Peripheral neuropathy in myotonic dystrophy: electrophysiological and clinical features. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1992;32(10-11):515-20.
- López de Munain A, Blanco A, Empananza JI, Poza JJ, Martí Massó JF, Cobo A, Martorell L, Baiget M, Martínez Lage JM. Prevalence of myotonic dystrophy in Guipúzcoa (Basque Country, Spain). *Neurology* 1993;43(8):1573-6.
- Lou JS. Techniques in assessing fatigue in neuromuscular diseases. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2012;23(1):11-22.
- Lowe C, Rabbitt P. Test/re-test reliability of the CANTAB and ISPOCD neuropsychological batteries: theoretical and practical issues. Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction. *Neuropsychologia* 1998;36(9):915-23.
- MacDonald JR, Hill JD, Tarnopolsky MA. Modafinil reduces excessive somnolence and enhances mood in patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 2002;59(12):1876-80.
- Machuca-Tzili LE, Buxton S, Thorpe A, Timson CM, Wigmore P, Luther PK, Brook JD. Zebrafish deficient for Muscleblind-like 2 exhibit features of myotonic dystrophy. *Dis Model Mech* 2011;4(3):381-92.
- Mahadevan M, Tsilfidis C, Sabourin L, Shutler G, Amemiya C, Jansen G, Neville C, Narang M, Barceló J, O'Hoy K, et al. Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science* 1992;255(5049):1253-5.
- Mahadevan MS, Yadava RS, Yu Q, Balijepalli S, Frenzel-McCardell CD, Bourne TD, Phillips LH. Reversible model of RNA toxicity and cardiac conduction defects in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 2006;38(9):1066-70.
- Mahadevan MS. Myotonic dystrophy: is a narrow focus obscuring the rest of the field? *Curr Opin Neurol* 2012;25(5):609-13.
- Mankodi A, Lin X, Blaxall BC, Swanson MS, Thornton CA. Nuclear RNA foci in the heart in myotonic dystrophy. *Circ Res* 2005;97(11):1152-5.
- Mankodi A, Logigian E, Callahan L, McClain C, White R, Henderson D, Krym M, Thornton CA. Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. *Science* 2000;289(5485):1769-73.
- Mankodi A, Takahashi MP, Jiang H, Beck CL, Bowers WJ, Moxley RT, Cannon SC, Thornton CA. Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of CIC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol Cell* 2002;10(1):35-44.
- Mankodi A, Teng-Umuay P, Krym M, Henderson D, Swanson M, Thornton CA. Ribonuclear inclusions in skeletal muscle in myotonic dystrophy types 1 and 2. *Ann Neurol* 2003;54(6):760-8.

- Manzon S, Philbert R. Orthognathic surgery in a patient with myotonic dystrophy: review of literature and report of a case. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(12):2575-9.
- Marinkovi Z, Prelevi G, Würzburger M, Nogi S. Gonadal dysfunction in patients with myotonic dystrophy. *Exp Clin Endocrinol* 1990;96(1):37-44.
- Marteyn A, Maury Y, Gauthier MM, Lecuyer C, Vernet R, Denis JA, Pietu G, Peschanski M, Martinat C. Mutant human embryonic stem cells reveal neurite and synapse formation defects in type 1 myotonic dystrophy. *Cell Stem Cell* 2011;8(4):434-44.
- Martínez-Rodríguez JE, Lin L, Iranzo A, Genis D, Martí MJ, Santamaria J, Mignot E. Decreased hypocretin-1 (Orexin-A) levels in the cerebrospinal fluid of patients with myotonic dystrophy and excessive daytime sleepiness. *Sleep* 2003;26(3):287-90.
- Martorell L, Cobo AM, Baiget M, Naudó M, Poza JJ, Parra J. Prenatal diagnosis in myotonic dystrophy type 1. Thirteen years of experience: implications for reproductive counselling in DM1 families. *Prenat Diagn* 2007;27(1):68-72.
- Martorell L, Gámez J, Cayuela ML, Gould FK, McAbney JP, Ashizawa T, Monckton DG, Baiget M. Germline mutational dynamics in myotonic dystrophy type 1 males: allele length and age effects. *Neurology* 2004;62(2):269-74.
- Martorell L, Illa I, Rosell J, Benitez J, Sedano MJ, Baiget M. Homozygous myotonic dystrophy: clinical and molecular studies of three unrelated cases. *J Med Genet* 1996;33(9):783-5.
- Martorell L, Monckton DG, Gamez J, Baiget M. Complex patterns of male germline instability and somatic mosaicism in myotonic dystrophy type 1. *Eur J Hum Genet* 2000;8(6):423-30.
- Martorell L, Monckton DG, Gamez J, Johnson KJ, Gich I, Lopez de Munain A, Baiget M. Progression of somatic CTG repeat length heterogeneity in the blood cells of myotonic dystrophy patients. *Hum Mol Genet* 1998;7(2):307-12.
- Martorell L, Monckton DG, Sanchez A, Lopez De Munain A, Baiget M. Frequency and stability of the myotonic dystrophy type 1 premutation. *Neurology* 2001;56(3):328-35.
- Maruff P, Burns CB, Tyler P, Currie BJ, Currie J. Neurological and cognitive abnormalities associated with chronic petrol sniffing. *Brain* 1998;121(Pt 10):1903-17.
- Masaoka Y, Kawamura M, Takeda A, Kobayakawa M, Kuroda T, Kasai H, Tsuruya N, Futamura A, Homma I. Impairment of odor recognition and odor-induced emotions in type 1 myotonic dystrophy. *Neurosci Lett* 2011;503(3):163-6.
- Mastrogiacomo I, Bonanni G, Menegazzo E, Santarossa C, Pagani E, Gennarelli M, Angelini C. Clinical and hormonal aspects of male hypogonadism in myotonic dystrophy. *Ital J Neurol Sci* 1996;17:59-65.

- Mathieu J, Allard P, Gobeil G, Girard M, De Braekeleer M, Bégin P. Anesthetic and surgical complications in 219 cases of myotonic dystrophy. *Neurology* 1997;49(6):1646-50.
- Mathieu J, Allard P, Porvin P, Prevost C, Begin P. A 10-year study of mortality in a cohort of patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 1999; 52:1658-62.
- Mathieu J, Boivin H, Meunier D, Gaudreault M, Begin P. Assessment of a disease-specific muscular impairment rating scale in myotonic dystrophy. *Neurology* 2001;56:336-340.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28(7):412-9.
- Mattsson N, Zetterberg H, Bianconi S, Yanjanin NM, Fu R, Månsson JE, Porter FD, Blennow K. Gamma-secretase-dependent amyloid-beta is increased in Niemann-Pick type C: a cross-sectional study. *Neurology* 2011;76(4):366-72.
- Mauraage CA, Udd B, Ruchoux MM, Vermersch P, Kalimo H, Krahe R, Delacourte A, Sergeant N. Similar brain tau pathology in DM2/PROMM and DM1/Steinert disease. *Neurology* 2005;65(10):1636-8.
- Mayberg HS, Lozano AM, Voon V, McNeely HE, Seminowicz D, Hamani C, Schwalb JM, Kennedy SH. Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron* 2005;45(5):651-60.
- McLaren DG, Kosmatka KJ, Kastman EK, Bendlin BB, Johnson SC. Rhesus macaque brain morphometry: a methodological comparison of voxel-wise approaches. *Methods* 2010;50:157-165.
- McNally EM, Sparano D. Mechanisms and management of the heart in myotonic dystrophy. *Heart* 2011;97(13):1094-100.
- Medical Research Council. Aids to the investigation of peripheral nerve injuries. London: HMSO 1976.
- Meola G, Sansone V, Perani D, Colleluori A, Cappa S, Cotelli M, Fazio F, Thornton CA, Moxley RT. Reduced cerebral blood flow and impaired visual-spatial function in proximal myotonic myopathy. *Neurology* 1999;53(5):1042-50.
- Meola G, Sansone V, Perani D, Scarone S, Cappa S, Dragoni C, Cattaneo E, Cotelli M, Gobbo C, Fazio F, Siciliano G, Mancuso M, Vitelli E, Zhang S, Krahe R, Moxley RT. Executive dysfunction and avoidant personality trait in myotonic dystrophy type 1 (DM-1) and in proximal myotonic myopathy (PROMM/DM-2). *Neuromuscul Disord* 2003;13(10):813-21.
- Meola G, Sansone V. Cerebral involvement in myotonic dystrophies. *Muscle Nerve* 2007;36:294-306.

- Messier C. Impact of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes on cognitive aging. *Neurobiol Aging* 2005;26(Suppl 1):26-30.
- Miaux Y, Chiras J, Eymard B, Lauriot-Prevost MC, Radvanyi H, Martin-Duverneuil N, Delaporte C. Cranial MRI findings in myotonic dystrophy. *Neuroradiology* 1997;39(3):166-70.
- Mielke R, Herholz K, Fink G, Ritter D, Heiss WD. Positron emission tomography in myotonic dystrophy. *Psychiatry Res* 1993;50(2):93-9.
- Mijajlovic M, Petrovic I, Stojkovic T, Svetel M, Stefanova E, Kostic VS. Transcranial parenchymal sonography in Parkinson's disease. *Vojnosanit Pregl* 2008; 65:601–605.
- Mijajlovic MD. Transcranial sonography in depression. *Int Rev Neurobiol* 2010;90:259-72.
- Miller TM. Differential diagnosis of myotonic disorders. *Muscle Nerve* 2008;37(3):293-9.
- Millon T. Millon clinical multiaxial inventory. Minneapolis MN: Interpretive Scoring Systems, 1983.
- Minis MA, Kalkman JS, Akkermans RP, Engels JA, Huijbregts PA, Bleijenberg G, Oostendorp RA, van Engelen BG. Employment status of patients with neuromuscular diseases in relation to personal factors, fatigue and health status: a secondary analysis. *J Rehabil Med* 2010;42(1):60-5.
- Minnerop M, Weber B, Schoene-Bake JC, Roeske S, Mirbach S, Anspach C, Schneider-Gold C, Betz RC, Helmstaedter C, Tittgemeyer M, Klockgether T, Kornblum C. The brain in myotonic dystrophy 1 and 2: evidence for a predominant white matter disease. *Brain* 2011;134(12):3530-46.
- Mioshi E, Dawson K, Mitchell J, Arnold R, Hodges JR. The Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R): a brief cognitive test battery for dementia screening. *Int J Geriatr Psychiatry* 2006;21:1078-1085.
- Mizukami K, Sasaki M, Baba A, Suzuki T, Shiraishi H. An autopsy case of myotonic dystrophy with mental disorders and various neuropathologic features. *Psychiatry Clin Neurosci* 1999;53(1):51-5.
- Mladenovic J, Pekmezovic T, Todorovic S, Rakocevic-Stojanovic V, Savic D, Romac S, Apostolski. Survival and mortality of myotonic dystrophy type 1 (Steinert's disease) in the population of Belgrade. *Eur J Neurol* 2006;13:451-4.
- Mladenovic J, Pekmezovic T, Todorovic S, Rakocevic-Stojanovic V, Savic D, Romac S, Apostolski S. Epidemiology of myotonic dystrophy type 1 (Steinert disease) in Belgrade (Serbia). *Clin Neurol Neurosurg* 2006;108(8):757-60.

- Modoni A, Silvestri G, Pomponi MG, Mangiola F, Tonali PA, Marra C. Characterization of the pattern of cognitive impairment in myotonic dystrophy type 1. *Arch Neurol* 2004;61: 1943–7.
- Modoni A, Silvestri G, Vita MG, Quaranta D, Tonali PA, Marra C. Cognitive impairment in myotonic dystrophy type 1 (DM1): a longitudinal follow-up study. *J Neurol* 2008;255(11):1737-42.
- Molina L, Touchon J, Herpe M, Lefranc D, Duplan L, Cristol JP et al. Tau and apoE in CSF: potential aid for discriminating Alzheimer's disease from other dementias. *Neuro Report* 1999; 10:3491–5.
- Monckton DG, Wong LJ, Ashizawa T, Caskey CT. Somatic mosaicism, germline expansions, germline reversions and intergenerational reductions in myotonic dystrophy males: small pool PCR analyses. *Hum Mol Genet* 1995;4(1):1-8.
- Mondelli M, Rossi A, Malandrini A, Della Porta P, Guzaai GC. Axonal motor and sensory neuropathy in myotonic dystrophy. *Acta Neurol Scand* 1993;88(2):141-8.
- Morales F, Couto JM, Higham CF, Hogg G, Cuenca P, Braidia C, Wilson RH, Adam B, del Valle G, Brian R, Sittenfeld M, Ashizawa T, Wilcox A, Wilcox DE, Monckton DG. Somatic instability of the expanded CTG triplet repeat in myotonic dystrophy type 1 is a heritable quantitative trait and modifier of disease severity. *Hum Mol Genet* 2012;21(16):3558-67.
- Motlagh B, MacDonald JR, Tarnopolsky MA. Nutritional inadequacy in adults with muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2005;31(6):713-8.
- Moxley RT 3rd. Potential for growth factor treatment of muscle disease. *Curr Opin Neurol* 1994;7(5):427-34.
- Mueller CM, Hilbert JE, Martens W, Thornton CA, Moxley RT 3rd, Greene MH. Hypothesis: neoplasms in myotonic dystrophy. *Cancer Causes Control* 2009;20(10):2009-20.
- Mulders SA, van den Broek WJ, Wheeler TM, Croes HJ, van Kuik-Romeijn P, de Kimpe SJ, Furling D, Platenburg GJ, Gourdon G, Thornton CA, Wieringa B, Wansink DG. Triplet-repeat oligonucleotide-mediated reversal of RNA toxicity in myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(33):13915-20.
- Mulders SA, van Engelen BG, Wieringa B, Wansink DG. Molecular therapy in myotonic dystrophy: focus on RNA gain-of-function. *Hum Mol Genet* 2010;19(R1):R90-7.
- Naka H, Imon Y, Ohshita T, Honjo K, Kitamura T, Mimori Y, Nakamura S. Magnetization transfer measurements of cerebral white matter in patients with myotonic dystrophy. *J Neurol Sci* 2002;193(2):111-6.
- Nakagawa M, Nakahara K, Yoshidome H, Suehara M, Higuchi I, Fujiyama J, Nakamura A, Kubota R, Takenaga S, Arahata K, et al. Epidemiology of progressive muscular

dystrophy in Okinawa, Japan. Classification with molecular biological techniques. *Neuroepidemiology*. 1991;10(4):185-91.

- Nakagawa M, Yamada H, Higuchi I, Kaminishi Y, Miki T, Johnson K, Osame M. A case of paternally inherited congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 1994;31(5):397-400.
- Nakazora H, Kurihara T. The effect of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) on myotonia: intracellular studies. *Intern Med* 2005;44(12):1247-51.
- Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* 2005;53(4):695-9.
- Neville CE, Mahadevan MS, Barceló JM, Korneluk RG. High resolution genetic analysis suggests one ancestral predisposing haplotype for the origin of the myotonic dystrophy mutation. *Hum Mol Genet* 1994;3(1):45-51.
- Nguyen HH, Wolfe JT 3rd, Holmes DR Jr, Edwards WD. Pathology of the cardiac conduction system in myotonic dystrophy: a study of 12 cases. *J Am Coll Cardiol* 1988;11(3):662-71.
- Nichols TE, Holmes AP. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: a primer with examples. *Hum Brain Mapp* 2002;15:1-25.
- Nicole S, Topaloglu H, Fontaine B. 102nd ENMC International Workshop on Schwartz-Jampel syndrome, 14-16 December, 2001, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* 2003;13(4):347-51.
- Nishi M, Itoh H, Tsubokawa T, Taniguchi T, Yamamoto K. Effective doses of vecuronium in a patient with myotonic dystrophy. *Anaesthesia* 2004;59(12):1216-8.
- O'Coilain DF, Perez-Terzic C, Reyes S, Kane GC, Behfar A, Hodgson DM, Strommen JA, Liu XK, van den Broek W, Wansink DG, Wieringa B, Terzic A. Transgenic overexpression of human DMPK accumulates into hypertrophic cardiomyopathy, myotonic myopathy and hypotension traits of myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* 2004;13(20):2505-18.
- Ogata A, Terae S, Fujita M, Tashiro K. Anterior temporal white matter lesions in myotonic dystrophy with intellectual impairment: an MRI and neuropathological study. *Neuroradiology* 1998;40(7):411-5.
- Ohya K, Tachi N, Chiba S, Sato T, Kon S, Kikuchi K, Imamura S, Yamagata H, Miki T. Congenital myotonic dystrophy transmitted from an asymptomatic father with a DM-specific gene. *Neurology* 1994;44(10):1958-60.
- Olofsson BO, Niklasson U, Forsberg H, Bjerle P, Andersson S, Henriksson A: Assessment of autonomic nerve function in myotonic dystrophy. *J Auton Nerv Syst* 1990; 29:187-92.

- Onishi H, Kino Y, Morita T, Futai E, Sasagawa N, Ishiura S. MBNL1 associates with YB-1 in cytoplasmic stress granules. *J Neurosci Res* 2008;86(9):1994-2002.
- Ono S, Inoue K, Mannen T, Mitake S, Shirai T, Kanda F, Jinnai K, Takahashi K. Intracytoplasmic inclusion bodies of the thalamus and the substantia nigra, and Marinesco bodies in myotonic dystrophy: a quantitative morphological study. *Acta Neuropathol* 1989;77(4):350-6.
- Ono S, Kanda F, Takahashi K, Fukuoka Y, Jinnai K, Kurisaki H, Mitake S, Inagaki T, Nagao K. Neuronal loss in the medullary reticular formation in myotonic dystrophy: a clinicopathological study. *Neurology* 1996;46(1):228-31.
- Ono S, Kurisaki H, Sakuma A, Nagao K. Myotonic dystrophy with alveolar hypoventilation and hypersomnia: a clinicopathological study. *J Neurol Sci* 1995;128(2):225-31.
- Ono S, Takahashi K, Fukuoka Y, Jinnai K, Kanda F, Kurisaki H, Mitake S, Inagaki T, Nagao K. Intracytoplasmic inclusion bodies of the substantia nigra in myotonic dystrophy. Immunohistochemical observations. *J Neurol Sci* 1997;148(2):193-8.
- Ono S, Takahashi K, Jinnai K, Kanda F, Fukuoka Y, Kurisaki H, Mitake S, Inagaki T, Yamano T, Nagao K. Loss of serotonin-containing neurons in the raphe of patients with myotonic dystrophy: a quantitative immunohistochemical study and relation to hypersomnia. *Neurology* 1998;50(2):535-8.
- Ono S, Takahashi K, Jinnai K, Kanda F, Fukuoka Y, Kurisaki H, Mitake S, Inagaki T, Yamano T, Shimizu N, Nagao K. Loss of catecholaminergic neurons in the medullary reticular formation in myotonic dystrophy. *Neurology* 1998;51(4):1121-4.
- Ono S, Takahashi K, Kanda F, Jinnai K, Fukuoka Y, Mitake S, Inagaki T, Kurisaki H, Nagao K, Shimizu N. Decrease of neurons in the medullary arcuate nucleus in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 2001;102(1):89-93.
- Orengo JP, Ward AJ, Cooper TA. Alternative splicing dysregulation secondary to skeletal muscle regeneration. *Ann Neurol* 2011;69(4):681-90.
- Ørngreen MC, Arlien-Soborg P, Duno M, Hertz JM, Vissing J. Endocrine function in 97 patients with myotonic dystrophy type 1. *J Neurol* 2012;259:912-20.
- Ørngreen MC, Olsen DB, Vissing J. Aerobic training in patients with myotonic dystrophy type 1. *Ann Neurol* 2005;57(5):754-7.
- Osanai R, Kinoshita M, Hirose K. Eye movement disorders in myotonic dystrophy type 1. *Acta Otolaryngol Suppl* 2007;(559):78-84.
- Osanai R, Kinoshita M, Hirose K. Stapedial reflex in myotonic dystrophy type 1 and CTG repeat expansion. *J Neurol* 2001;248(12):1056-61.

- Osborne RJ, Lin X, Welle S, Sobczak K, O'Rourke JR, Swanson MS, Thornton CA. Transcriptional and post-transcriptional impact of toxic RNA in myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* 2009; 18:1471-81.
- Osborne RJ, Thornton CA. RNA-dominant diseases. *Hum Mol Genet* 2006;15(Spec No 2):R162-9.
- Osterrieth PA. Le test de copie d'une figure complexe: Contribution à l'étude de la perception de la mémoire. *Archives de Psychologie* 1944;30:286-356.
- Ota M, Sato N, Ohya Y, Aoki Y, Mizukami K, Mori T, Asada T. Relationship between diffusion tensor imaging and brain morphology in patients with myotonic dystrophy. *Neurosci Lett* 2006;407(3):234-9.
- Otto M, Wiltfang J, Tumani H, Zerr I, Lantsch M, Kornhuber J et al. Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 1997;225:210-2.
- Oyamada R, Hayashi M, Katoh Y, Tsuchiya K, Mizutani T, Tominaga I, Kashima H. Neurofibrillary tangles and deposition of oxidative products in the brain in cases of myotonic dystrophy. *Neuropathology* 2006;26(2):107-14.
- Palmer BW, Boone KB, Chang L, Lee A, Black S. Cognitive deficits and personality patterns in maternally versus paternally inherited myotonic dystrophy. *J Clin Exp Neuropsychol* 1994;16(5):784-95.
- Park JD, Radtke RA. Hypersomnolence in myotonic dystrophy: demonstration of sleep onset REM sleep. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;58(4):512-3.
- Park JH, Kim JM, Roh JK. Hypoplastic vertebral artery: frequency and associations with ischaemic stroke territory. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78(9):954-8.
- Pavlovi D. Dijagnosticki testovi u neuropsihologiji. II izdanje. Beograd: Grafos, 2003.
- Pavlovi D. Neuropsihologija sa osnovama bihevioralne neurologije. Beograd: Kaligraf, 2011.
- Pelargonio G, Dello Russo A, Sanna T, De Martino G, Bellocchi F. Myotonic dystrophy and the heart. *Heart* 2002;88(6):665-70.
- Pénişon-Besnier I, Devillers M, Porcher R, Orlikowski D, Doppler V, Desnuelle C, Ferrer X, Bes MC, Bouhour F, Tranchant C, Lagrange E, Vershueren A, Uzenot D, Cintas P, Solé G, Hogrel JY, Laforêt P, Vial C, Vila AL, Sacconi S, Pouget J, Eymard B, Chevret S, Annane D. Dehydroepiandrosterone for myotonic dystrophy type 1. *Neurology* 2008;71(6):407-12.
- Peric S, Rakocevic-Stojanovic V, Stevic Z, Basta I, Pavlovic S, Vujanac V, Marjanovic L, Lavrnic D. Health-related quality of life in patients with myotonic dystrophy type 1 and amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Belg* 2010;110(1):71-7.

- Peric S, Sansone V, Lavrnica D, Meola G, Basta I, Miljkovic M, Rakocevic Stojanovic V. Serbian validation of the Individualized Neuromuscular Quality of Life questionnaire (INQoL) in adults with myotonic dystrophy type 1. *J Neurol Res* 2011;1(4):153-60.
- Peric S, Stojanovic VR, Basta I, Peric M, Milicev M, Pavlovic S, Lavrnica D. Influence of multisystemic affection on health-related quality of life in patients with myotonic dystrophy type 1. *Clin Neurol Neurosurg* 2013;115(3):270-5.
- Peric S, Stojanovic VR, Nikolic A, Kacar A, Basta I, Pavlovic S, Lavrnica D. Peripheral neuropathy in patients with myotonic dystrophy type 1. *Neurol Res* 2013;35(4):331-5.
- Perini GI, Menegazzo E, Ermani M, Zara M, Gemma A, Ferruzza E, Gennarelli M, Angelini C. Cognitive impairment and (CTG)_n expansion in myotonic dystrophy patients. *Biol Psychiatry* 1999;46(3):425-31.
- Pfeilsticker BHM, Bertuzzo CS, Nucci A. Electrophysiological evaluation in myotonic dystrophy – correlation with CTG length expansion. *Arq Neuropsiquiatr* 2001;59(2-A):186-91.
- Philips AV, Timchenko LT, Cooper TA. Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy. *Science* 1998;280(5364):737-41.
- Phillips MF, Steer HM, Soldan JR, Wiles CM, Harper PS. Daytime somnolence in myotonic dystrophy. *J Neurol* 1999;246(4):275-82.
- Phylactou LA. Repair of myotonic dystrophy protein kinase (DMPK) transcripts by trans-splicing ribozymes. *Methods Mol Biol* 2004;252:373-83.
- Pisani V, Tirabasso A, Mazzone S, Terracciano C, Botta A, Novelli G, Bernardi G, Massa R, Di Girolamo S. Early subclinical cochlear dysfunction in myotonic dystrophy type 1. *Eur J Neurol* 2011;18(12):1412-6.
- Pistoni M, Ghigna C, Gabellini D. Alternative splicing and muscular dystrophy. *RNA Biol* 2010;7(4):441-52.
- Prior TW; American College of Medical Genetics (ACMG) Laboratory Quality Assurance Committee. Technical standards and guidelines for myotonic dystrophy type 1 testing. *Genet Med* 2009;11(7):552-5.
- Quera Salva MA, Blumen M, Jacqueline A, Durand MC, Andre S, De Villiers M, Eymard B, Lofaso F, Heron D. Sleep disorders in childhood-onset myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscul Disord* 2006;16(9-10):564-70.
- Quintero-Mora ML, Depardon F, James Waring, Robert G Korneluk, Cisneros B. Expanded CTG repeats inhibit neuronal differentiation of the PC12 cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;295(2):289-94.

- Rakocevic Stojanovic V, Pavlovic S, Lavrnica D, Trikić R, Savić D, Romac S, Dozić S, Apostolski S. Peripheral neuropathy in patients with myotonic dystrophy. *Acta Myol* 2002;21:36-7.
- Rakocevic Stojanovic V, Perić S, Lavrnica D, Popović S, Ille T, Stević Z, Basta I, Apostolski S. Leptin and the metabolic syndrome in patients with myotonic dystrophy type 1. *Acta Neurol Scand* 2010;121(2):94-8.
- Rakocevic Stojanovic V, Perić S, Paunić T, Pavlovic S, Cvitan E, Basta I, Perić M, Milicev M, Lavrnica D. Cardiological predictors of sudden death in patients with myotonic dystrophy type 1. *J Clin Neurosci* 2013; dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2012.09.014.
- Rakocević Stojanović V. Miotoni na distrofija i srčani poremećaji. Zadužbina Andrejević 1997.
- Rakocević Stojanović V. Mišićne distrofije. CIBID, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu 2011.
- Rakocević-Stojanović V, Milovanović B, Ivić N, Ille T, Marjanović I, Stević Z, Pavlović S, Lavrnica D. Cardiac autonomic nervous system in patients with myotonic dystrophy type 1. *Acta Myol* 2007;26(2):112-4.
- Rakocević-Stojanović V, Savić D, Pavlović S, Lavrnica D, Stević Z, Basta I, Romac S, Apostolski S. Intergenerational changes of CTG repeat depending on the sex of the transmitting parent in myotonic dystrophy type 1. *Eur J Neurol* 2005;12(3):236-7.
- Ranum LP, Rasmussen PF, Benzow KA, Koob MD, Day JW. Genetic mapping of a second myotonic dystrophy locus. *Nat Genet* 1998;19(2):196-8.
- Rau F, Freyermuth F, Fugier C, Villemin JP, Fischer MC, Jost B, Dembele D, Gourdon G, Nicole A, Duboc D, Wahbi K, Day JW, Fujimura H, Takahashi MP, Auboeuf D, Dreumont N, Furling D, Charlet-Berguerand N. Misregulation of miR-1 processing is associated with heart defects in myotonic dystrophy. *Nat Struct Mol Biol* 2011;18(7):840-5.
- Raven JC. Guide to the Standard Progressive Matrices. London: H.K. Lewis, 1960.
- Reitan RM, Wolfson D. The Halstead-Reitan Neuropsychological Test Battery: Theory and clinical interpretation. Tucson, AZ: Neuropsychology Press 1993.
- Rey A. L'examen Clinique en psychologie. Paris: Presses Universitaires de France, 1964.
- Rey A. L'examen psychologique dans les cas d'encephalopathie traumatique. *Archives de Psychologie* 1941;286-340.
- Rhodes JD, Lott MC, Russell SL, Moulton V, Sanderson J, Wormstone IM, Broadway DC. Activation of the innate immune response and interferon signalling in myotonic dystrophy type 1 and type 2 cataracts. *Hum Mol Genet* 2012;21(4):852-62.

- Ricker K, Koch MC, Lehmann-Horn F, Pongratz D, Otto M, Heine R, Moxley RT 3rd. Proximal myotonic myopathy: a new dominant disorder with myotonia, muscle weakness, and cataracts. *Neurology* 1994;44(8):1448-52.
- Rinaldi F, Terracciano C, Pisani V, Massa R, Loro E, Vergani L, Di Girolamo S, Angelini C, Gourdon G, Novelli G, Botta A. Aberrant splicing and expression of the non muscle myosin heavy-chain gene MYH14 in DM1 muscle tissues. *Neurobiol Dis* 2012;45(1):264-71.
- Robbins TW, James M, Owen AM, Sahakian BJ, Lawrence AD, McInnes L, Rabbitt PM. A study of performance on tests from the CANTAB battery sensitive to frontal lobe dysfunction in a large sample of normal volunteers: implications for theories of executive functioning and cognitive aging. *Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery. J Int Neuropsychol Soc* 1998;4(5):474-90.
- Rohde GK, Barnett AS, Basser PJ, Marengo S, Pierpaoli C. Comprehensive approach for correction of motion and distortion in diffusion-weighted MRI. *Magn Reson Med* 2004;51:103-114.
- Rolander A, Floderus S. Dystrophia myotonica in the Norbotten district. *Sven Lakartidn* 1961;58:648-52.
- Romeo V, Pegoraro E, Ferrati C, Squarzanti F, Sorarù G, Palmieri A, Zucchetta P, Antunovic L, Bonifazi E, Novelli G, Trevisan CP, Ermani M, Manara R, Angelini C. Brain involvement in myotonic dystrophies: neuroimaging and neuropsychological comparative study in DM1 and DM2. *J Neurol* 2010;257(8):1246-55.
- Romeo V. Myotonic Dystrophy Type 1 or Steinert's disease. *Adv Exp Med Biol* 2012;724:239-57.
- Romigi A, Izzi F, Pisani V, Placidi F, Pisani LR, Marciani MG, Corte F, Panico MB, Torelli F, Uasone E, Vitrani G, Albanese M, Massa R. Sleep disorders in adult-onset myotonic dystrophy type 1: a controlled polysomnographic study. *Eur J Neurol* 2011;18(9):1139-45.
- Rönnblom A, Andersson S, Hellström PM, Danielsson A. Gastric emptying in myotonic dystrophy. *Eur J Clin Invest* 2002;32(8):570-4.
- Rönnblom A, Danielsson A. Hereditary muscular diseases and symptoms from the gastrointestinal tract. *Scand J Gastroenterol* 2004;39(1):1-4.
- Rönnblom A, Forsberg H, Danielsson A: Gastrointestinal symptoms in myotonic dystrophy. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 654-657.
- Rosa N, Lanza M, Borrelli M, De Bernardo M, Palladino A, Di Gregorio MG, Pascotto F, Politano L. Low intraocular pressure resulting from ciliary body detachment in patients with myotonic dystrophy. *Ophthalmology* 2011;118(2):260-4.

- Rossi B, Sartucci F, Stefanini A, Pucci G, Bianchi F. Measurement of motor conduction velocity with Hopf's technique in myotonic dystrophy. *J Neurol Neuros Psychiatr* 1983;46:93-95.
- Rubinsztein JS, Rubinsztein DC, Goodburn S, Holland AJ. Apathy and hypersomnia are common features of myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64(4):510-5.
- Rubinsztein JS, Rubinsztein DC, McKenna PJ, Goodburn S, Holland AJ. Mild myotonic dystrophy is associated with memory impairment in the context of normal general intelligence. *J Med Genet* 1997;34(3):229-33.
- Rudnik-Schöneborn S, Zerres K. Outcome in pregnancies complicated by myotonic dystrophy: a study of 31 patients and review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;114(1):44-53.
- Sahakian BJ, Owen AM. Computerized assessment in neuropsychiatry using CANTAB: discussion paper. *J R Soc Med* 1992;85(7):399-402.
- Samuels MH. Cognitive function in untreated hypothyroidism and hyperthyroidism. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008;15(5):429-33.
- Sansone VA, Panzeri M, Montanari M, Apolone G, Gandossini S, Rose MR, Politano L, Solimene C, Siciliano G, Volpi L, Angelini C, Palmieri A, Toscano A, Musumeci O, Mongini T, Vercelli L, Massa R, Panico MB, Grandi M, Meola G. Italian validation of INQoL, a quality of life questionnaire for adults with muscle diseases. *Eur J Neurol* 2010;17(9):1178-87.
- Sarkar PS, Appukuttan B, Han J, Ito Y, Ai C, Tsai W, Chai Y, Stout JT, Reddy S. Heterozygous loss of Six5 in mice is sufficient to cause ocular cataracts. *Nat Genet* 2000;25(1):110-4.
- Sarkar PS, Paul S, Han J, Reddy S. Six5 is required for spermatogenic cell survival and spermiogenesis. *Hum Mol Genet* 2004;13(14):1421-31.
- Savi D, Rakocevic-Stojanovic V, Keckarevic D, Culjkovic B, Stojkovic O, Mladenovic J, Todorovic S, Apostolski S, Romac S. 250 CTG repeats in DMPK is a threshold for correlation of expansion size and age at onset of juvenile-adult DM1. *Hum Mutat* 2002;19(2):131-9.
- Savkur RS, Philips AV, Cooper TA. Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 2001;29(1):40-7.
- Scarpalezos S, Lygidakis C, Papageorgiou C, Maliara S, Koukoulommati AS, Koutras DA. Neural and muscular manifestations of hypothyroidism. *Arch Neurol* 1973;29(3):140-4.

- Schneider-Gold C, Timchenko LT. CCUG repeats reduce the rate of global protein synthesis in myotonic dystrophy type 2. *Rev Neurosci* 2010;21(1):19-28.
- Schoonenboom NS, Mulder C, Vanderstichele H, Van Elk EJ, Kok A, Van Kamp GJ et al. Effects of processing and storage conditions on amyloid beta (1-42) and tau concentration in cerebrospinal fluid: implications for use in clinical practice. *Clin Chem* 2005;51(1):189-95.
- Sergeant N, Sablonniere B, Schraen-Maschke S, Ghestem A, Maurage CA, Wattez A, et al. Dysregulation of human brain microtubule-associated tau mRNA maturation in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2001;10:2143–55.
- Sermon K, Lissens W, Joris H, Seneca S, Desmyttere S, Devroey P, Van Steirteghem A, Liebaers I. Clinical application of preimplantation diagnosis for myotonic dystrophy. *Prenat Diagn* 1997;17(10):925-32.
- Seznec H, Lia-Baldini AS, Duros C, Fouquet C, Lacroix C, Hofmann-Radvanyi H, Junien C, Gourdon G. Transgenic mice carrying large human genomic sequences with expanded CTG repeat mimic closely the DM CTG repeat intergenerational and somatic instability. *Hum Mol Genet* 2000;9(8):1185-94.
- Shieh K, Gilchrist JM, Promrat K. Frequency and predictors of nonalcoholic fatty liver disease in myotonic dystrophy. *Muscle Nerve* 2010;41(2):197-201.
- Sicot G, Gourdon G, Gomes-Pereira M. Myotonic dystrophy, when simple repeats reveal complex pathogenic entities: new findings and future challenges. *Hum Mol Genet* 2011;20(R2):R116-23.
- Simmons Z, Thornton CA, Seltzer WK, Richards CS. Relative stability of a minimal CTG repeat expansion in a large kindred with myotonic dystrophy. *Neurology* 1998;50(5):1501-4.
- Sinclair JL, Reed PW. Risk factors for perioperative adverse events in children with myotonic dystrophy. *Paediatr Anaesth* 2009;19(8):740-7.
- Sistiaga A, Urreta I, Jodar M, Cobo AM, Emparanza J, Otaegui D, Poza JJ, Merino JJ, Imaz H, Martí-Massó JF, López de Munain A. Cognitive/personality pattern and triplet expansion size in adult myotonic dystrophy type 1 (DM1): CTG repeats, cognition and personality in DM1. *Psychol Med* 2010;40(3):487-95.
- Sjogren M, Davidsson P, Wallin A, et al. Decreased CSF beta-amyloid 42 in Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis may reflect mismetabolism of beta-amyloid induced by disparate mechanisms. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002;13: 112–118.
- Smith PJ, Blumenthal JA. Diet and neurocognition: review of evidence and methodological considerations. *Curr Aging Sci* 2010;3(1):57-66.
- Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, et al. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 2006;31:1487-1505.

- Soifer HS, Rossi JJ, Saetrom P. MicroRNAs in disease and potential therapeutic applications. *Mol Ther* 2007;15(12):2070-9.
- Sovari AA, Bodine CK, Farokhi F. Cardiovascular manifestations of myotonic dystrophy-1. *Cardiol Rev* 2007;15(4):191-4.
- Spreen O, Strauss E. A compendium of neuropsychological tests. Administration, norms and commentary. New York: Oxford University Press 1991.
- Staley RN, Bishara SE, Hanson JW, Nowak AJ. Craniofacial development in myotonic dystrophy. *Cleft Palate Craniofac J* 1992;29(5):456-62.
- Steinbeck KS, Carter JN. Thyroid abnormalities in patients with myotonic dystrophy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1982;17(5):449-56.
- Steinert H. Über das klinische und anatomische Bild des Muskelschwunds der Myotoniker. *Dtsch Z Nervenheilkd* 1909;37:58–104.
- Steyaert J, de Die-Smulders C, Fryns JP, Goossens E, Willekens D. Behavioral phenotype in childhood type of dystrophia myotonica. *Am J Med Genet* 2000;96(6):888-9.
- Steyaert J, Umans S, Willekens D, Legius E, Pijkels E, de Die-Smulders C, Van den Berghe H, Fryns JP. A study of the cognitive and psychological profile in 16 children with congenital or juvenile myotonic dystrophy. *Clin Genet* 1997;52(3):135-41.
- Suenaga K, Lee KY, Nakamori M, Tatsumi Y, Takahashi MP, Fujimura H, Jinnai K, Yoshikawa H, Du H, Ares M Jr, Swanson MS, Kimura T. Muscleblind-like 1 knockout mice reveal novel splicing defects in the myotonic dystrophy brain. *PLoS One* 2012;7(3):e33218.
- Sugino M, Ohsawa N, Ito T, Ishida S, Yamasaki H, Kimura F, Shinoda K. A pilot study of dehydroepiandrosterone sulfate in myotonic dystrophy. *Neurology* 1998;51(2):586-9.
- Svetel M, Mijajlovi M, Tomi A, Kresojevi N, Pekmezovi T, Kosti VS. Transcranial sonography in Wilson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2012;18(3):234-8.
- Swainson R, Hodges JR, Galton CJ, Semple J, Michael A, Dunn BD, Iddon JL, Robbins TW, Sahakian BJ. Early detection and differential diagnosis of Alzheimer's disease and depression with neuropsychological tasks. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12(4):265-80.
- Takaba J, Abe N, Fukuda H. Evaluation of brain in myotonic dystrophy using diffusion tensor MR imaging. *Nihon Hoshasen Gijutsu Gakkai Zasshi* 2003;59(7):831-8.
- Talbot K, Stradling J, Crosby J, Hilton-Jones D. Reduction in excess daytime sleepiness by modafinil in patients with myotonic dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2003;13(5):357-64.

- Tanaka H, Arai M, Harada M, Hozumi A, Hirata K. Cognition and event-related potentials in adult-onset non-demented myotonic dystrophy type 1. *Clin Neurophysiol* 2012;123(2):261-9.
- Tanaka Y, Suzuki Y, Shimosawa N, Nanba E, Kondo N. Congenital myotonic dystrophy: report of paternal transmission. *Brain Dev* 2000;22(2):132-4.
- Taneja KL, McCurrach M, Schalling M, Housman D, Singer RH. Foci of trinucleotide repeat transcripts in nuclei of myotonic dystrophy cells and tissues. *J Cell Biol* 1995;128(6):995-1002.
- Tang ZZ, Yarotsky V, Wei L, Sobczak K, Nakamori M, Eichinger K, Moxley RT, Dirksen RT, Thornton CA. Muscle weakness in myotonic dystrophy associated with misregulated splicing and altered gating of Ca(V)1.1 calcium channel. *Hum Mol Genet* 2012;21(6):1312-24.
- Tarnopolsky M, Mahoney D, Thompson T, Naylor H, Doherty TJ. Creatine monohydrate supplementation does not increase muscle strength, lean body mass, or muscle phosphocreatine in patients with myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* 2004;29(1):51-8.
- The International Myotonic Dystrophy Consortium (IDMC). New nomenclature and DNA testing guidelines for myotonic dystrophy type 1 (DM1). *Neurology* 2000;54(6):1218-21.
- Themistocleous GS, Sapkas GS, Papagelopoulos PJ, Stilianessi EV, Papadopoulos ECh, Apostolou CD. Scoliosis in Steinert syndrome: a case report. *Spine J* 2005;5(2):212-6.
- Thornton CA, Griggs RC, Moxley RT 3rd. Myotonic dystrophy with no trinucleotide repeat expansion. *Ann Neurol* 1994;35(3):269-72.
- Tieleman AA, Jenks KM, Kalkman JS, Borm G, van Engelen BG. High disease impact of myotonic dystrophy type 2 on physical and mental functioning. *J Neurol* 2011;258(10):1820-6.
- Timchenko NA, Iakova P, Cai ZJ, Smith JR, Timchenko LT. Molecular basis for impaired muscle differentiation in myotonic dystrophy. *Mol Cell Biol* 2001;21(20):6927-38.
- Trip J, Drost G, van Engelen BG, Faber CG. Drug treatment for myotonia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Jan 25;(1):CD004762.
- Tsilfidis C, MacKenzie AE, Mettler G, Barceló J, Korneluk RG. Correlation between CTG trinucleotide repeat length and frequency of severe congenital myotonic dystrophy. *Nat Genet* 1992;1(3):192-5.
- Turner C, Hilton-Jones D. The myotonic dystrophies: diagnosis and management. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81(4):358-67.

- Turnpenny P, Clark C, Kelly K. Intelligence quotient profile in myotonic dystrophy, intergenerational deficit, and correlation with CTG amplification. *J Med Genet* 1994;31(4):300-5.
- Udd B, Krahe R, Wallgren-Pettersson C, Falck B, Kalimo H. Proximal myotonic dystrophy--a family with autosomal dominant muscular dystrophy, cataracts, hearing loss and hypogonadism: heterogeneity of proximal myotonic syndromes? *Neuromuscul Disord* 1997;7(4):217-28.
- Udd B, Krahe R. The myotonic dystrophies: molecular, clinical, and therapeutic challenges. *Lancet Neurol* 2012;11(10):891-905.
- Udd B, Meola G, Krahe R, Thornton C, Ranum LP, Bassez G, Kress W, Schoser B, Moxley R. 140th ENMC International Workshop: Myotonic Dystrophy DM2/PROMM and other myotonic dystrophies with guidelines on management. *Neuromuscul Disord* 2006;16(6):403-13.
- Ugalde V, Walsh S, Abresch RT, Bonekat HW, Breslin E. Respiratory abdominal muscle recruitment and chest wall motion in myotonic muscular dystrophy. *J Appl Physiol* 2001;91(1):395-407.
- van der Werf S, Kalkman J, Bleijenberg G, van Engelen B, Schillings M, Zwarts M; Netherlands Fatigue Research Group. The relation between daytime sleepiness, fatigue, and reduced motivation in patients with adult onset myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74(1):138-9.
- Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, Van de Voorde A, Martin JJ et al. Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 1993;61(5):1828-34.
- Vanderstichele H, Blenow K, Wallin A, Andreasen N, Buyse M, Van de Voorde A et al. Development of a specific diagnostic test for measurement of β -amyloid(1-42) in CSF. In: A. Fisher, I. Hanin and M. Yoshida (Eds). *Alzheimer's disease and Parkinson's diseases*. Plenum Press, New York, 1988, 773-8.
- Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson, Van Kercshaver, Van Der Perre B, Sjogren M et al. Quantification of tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid: a sandwich ELISA with a synthetic phosphopeptide for standardization. *Neurosci Lett* 2000;285(1):49-52.
- Velázquez-Bernardino P, García-Sierra F, Hernández-Hernández O, Bermúdez de León M, Gourdon G, Gomes-Pereira M, Cisneros B. Myotonic dystrophy type 1-associated CTG repeats disturb the expression and subcellular distribution of microtubule-associated proteins MAP1A, MAP2, and MAP6/STOP in PC12 cells. *Mol Biol Rep* 2012;39(1):415-24.

- Verhagen WI, ter Brugge JP, Huygen PL. Oculomotor, auditory, and vestibular responses in myotonic dystrophy. *Arch Neurol* 1992;49(9):954-60.
- Vermersch P, Sergeant N, Ruchoux MM, Hofmann-Radvanyi H, Wattez A, Petit H, et al. Tau variants in the brains of patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 1996;47:711–7.
- Versino M, Rossi B, Beltrami G, Sandrini G, Cosi V. Ocular motor myotonic phenomenon in myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;72(2):236-40.
- Vielhaber S, Jakubiczka S, Gaul C, Schoenfeld MA, Debska-Vielhaber G, Zierz S, Heinze HJ, Niessen HG, Kaufmann J. Brain 1H magnetic resonance spectroscopic differences in myotonic dystrophy type 2 and type 1. *Muscle Nerve* 2006;34(2):145-52.
- Vihola A, Bachinski LL, Sirito M, Olufemi SE, Hajibashi S, Baggerly KA, Raheem O, Haapasalo H, Suominen T, Holmlund-Hampf J, Paetau A, Cardani R, Meola G, Kalimo H, Edström L, Krahe R, Udd B. Differences in aberrant expression and splicing of sarcomeric proteins in the myotonic dystrophies DM1 and DM2. *Acta Neuropathol* 2010;119(4):465-79.
- Vincent KA, Carr AJ, Walburn J, Scott DL, Rose MR. Construction and validation of a quality of life questionnaire for neuromuscular disease (INQoL). *Neurology* 2007;68(13):1051-7.
- Vlachopapadopoulou E, Zachwieja JJ, Gertner JM, Manzione D, Bier DM, Matthews DE, Slonim AE. Metabolic and clinical response to recombinant human insulin-like growth factor I in myotonic dystrophy--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80(12):3715-23.
- Voet NB, van der Kooi EL, Riphagen II, Lindeman E, van Engelen BG, Geurts ACh. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;(1):CD003907.
- Wagner A, Steinberg H. Hans Steinert (1875–1911). *J Neurol* 2008;255:1607–8.
- Wakimoto H, Maguire CT, Sherwood MC, Vargas MM, Sarkar PS, Han J, Reddy S, Berul CI. Characterization of cardiac conduction system abnormalities in mice with targeted disruption of Six5 gene. *J Interv Card Electrophysiol* 2002;7(2):127-35.
- Walter MC, Reilich P, Lochmüller H, Kohnen R, Schlotter B, Hautmann H, Dunkl E, Pongratz D, Müller-Felber W. Creatine monohydrate in myotonic dystrophy: a double-blind, placebo-controlled clinical study. *J Neurol* 2002;249(12):1717-22.
- Walter U, Dressler D, Wolters A, Wittstock M, Benecke R. Overactive bladder in Parkinson's disease: alteration of brainstem raphe detected by transcranial sonography. *Eur J Neurol* 2006;13(12):1291-7.

- Walter U, Horowski S, Benecke R, Zettl U. Transcranial brain sonography findings related to neuropsychological impairment in multiple sclerosis. *J Neurol* 2007;254 (Suppl. 2):49–52.
- Walter U, Prudente-Morrissey L, Herpertz SC, Benecke R, Hoepfner J. Relationship of brainstem raphe echogenicity and clinical findings in depressive states. *Psychiatry Res* 2007; 155: 67–73.
- Wang JF, Schroder JM. Comparative morphometric evaluation of peripheral nerves and muscle fibers in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 2000;99:39-47.
- Ward AJ, Rimer M, Killian JM, Dowling JJ, Cooper TA. CUGBP1 overexpression in mouse skeletal muscle reproduces features of myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2010;19(18):3614-22.
- Warf MB, Nakamori M, Matthys CM, Thornton CA, Berglund JA. Pentamidine reverses the splicing defects associated with myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(44):18551-6.
- Watanabe T, Sasagawa N, Usuki F, Koike H, Saitoh N, Sorimachi H, Maruyama K, Nakase H, Takagi A, Ishiura S, Suzuki K. Overexpression of myotonic dystrophy protein kinase in C2C12 myogenic culture involved in the expression of ferritin heavy chain and interleukin-1 α mRNAs. *J Neurol Sci* 1999;167(1):26-33.
- Weber YG, Roebeling R, Kassubek J, Hoffmann S, Rosenbohm A, Wolf M, Steinbach P, Jurkat-Rott K, Walter H, Reske SN, Lehmann-Horn F, Mottaghy FM, Lerche H. Comparative analysis of brain structure, metabolism, and cognition in myotonic dystrophy 1 and 2. *Neurology* 2010;74(14):1108-17.
- Wechsler D. WAIS-R. Wechsler Intelligence Scale – Revised. Manual. San Antonio: Psychological Corporation, 1981.
- Westerlaken JH, Van der Zee CE, Peters W, Wieringa B. The DMWD protein from the myotonic dystrophy (DM1) gene region is developmentally regulated and is present most prominently in synapse-dense brain areas. *Brain Res* 2003;971(1):116-27.
- Wheeler TM, Lueck JD, Swanson MS, Dirksen RT, Thornton CA. Correction of CIC-1 splicing eliminates chloride channelopathy and myotonia in mouse models of myotonic dystrophy. *J Clin Invest* 2007;117(12):3952-7.
- Wheeler TM, Sobczak K, Lueck JD, Osborne RJ, Lin X, Dirksen RT, Thornton CA. Reversal of RNA dominance by displacement of protein sequestered on triplet repeat RNA. *Science* 2009;325(5938):336-9.
- white.stanford.edu/newlm/index.php/DTI_Preprocessing#dti
- Widiger T. *The Oxford Handbook of Personality Disorders*. Oxford University Press, 2012.

- Winblad S, Jensen C, Månsson JE, Samuelsson L, Lindberg C. Depression in myotonic dystrophy type 1: clinical and neuronal correlates. *Behav Brain Funct* 2010;6:25.
- Winblad S, Lindberg C, Hansen S. Cognitive deficits and CTG repeat expansion size in classical myotonic dystrophy type 1 (DM1). *Behav Brain Funct* 2006;2:16.
- Winblad S, Lindberg C, Hansen S. Temperament and character in patients with classical myotonic dystrophy type 1 (DM-1). *Neuromuscul Disord* 2005;15(4):287-92.
- Winblad S, Månsson JE, Blennow K, Jensen C, Samuelsson L, Lindberg C. Cerebrospinal fluid tau and amyloid beta 42 protein in patients with myotonic dystrophy type 1. *Eur J Neurol* 2008;15(9):947-52.
- Wintzen AR, Lammers GJ, van Dijk JG. Does modafinil enhance activity of patients with myotonic dystrophy? a double-blind placebo-controlled crossover study. *J Neurol* 2007;254(1):26-8.
- Wong LJ, Ashizawa T, Monckton DG, Caskey CT, Richards CS. Somatic heterogeneity of the CTG repeat in myotonic dystrophy is age and size dependent. *Am J Hum Genet* 1995;56(1):114-22.
- World Health Organization and International Diabetes Federation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications 1999.
- World Health Organization and International Society of Hypertension. Guidelines for the Management of Hypertension 1999.
- World Health Organization. BMI Classification 2004.
- Wozniak JR, Mueller BA, Ward EE, Lim KO, Day JW. White matter abnormalities and neurocognitive correlates in children and adolescents with myotonic dystrophy type 1: a diffusion tensor imaging study. *Neuromuscul Disord* 2011;21(2):89-96.
- Wright RB, Glantz RH, Butcher J. Hearing loss in myotonic dystrophy. *Ann Neurol* 1988;23(2):202-3.
- www.cantab.com
- www.fmrib.ox.ac.uk/fsl
- www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/tbss/index.html
- www.heart.org
- www.myotonic.org
- www.qualitymetric.com
- www.xinapse.com
- Yamagata H, Nakagawa M, Johnson K, Miki T. Further evidence for a major ancient mutation underlying myotonic dystrophy from linkage disequilibrium studies in the Japanese population. *J Hum Genet* 1998;43(4):246-9.

- Yoshimura N, Otake M, Igarashi K, Matsunaga M, Takebe K, Kudo H. Topography of Alzheimer's neurofibrillary change distribution in myotonic dystrophy. *Clin Neuropathol* 1990;9(5):234-9.
- Yotova V, Labuda D, Zietkiewicz E, Gehl D, Lovell A, Lefebvre JF, Bourgeois S, Lemieux-Blanchard E, Labuda M, Vézina H, Houde L, Tremblay M, Toupance B, Heyer E, Hudson TJ, Laberge C. Anatomy of a founder effect: myotonic dystrophy in Northeastern Quebec. *Hum Genet* 2005;117(2-3):177-87.
- Yu H, Laberge L, Jaussent I, Bayard S, Scholtz S, Raoul M, Pages M, Dauvilliers Y. Daytime sleepiness and REM sleep characteristics in myotonic dystrophy: a case-control study. *Sleep* 2011;34(2):165-70.
- Zaki M, Boyd PA, Impey L, Roberts A, Chamberlain P. Congenital myotonic dystrophy: prenatal ultrasound findings and pregnancy outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;29(3):284-8.
- Zalonis I, Bonakis A, Christidi F, Vagiakis E, Papageorgiou SG, Kalfakis N, Manta P, Vassilopoulos D. Toward understanding cognitive impairment in patients with myotonic dystrophy type 1. *Arch Clin Neuropsychol* 2010;25(4):303-13.
- Zanoteli E, Yamashita HK, Suzuki H, Oliveira AS, Gabbai AA. Temporomandibular joint and masticatory muscle involvement in myotonic dystrophy: a study by magnetic resonance imaging. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;94(2):262-71.
- Zecca L, Berg D, Arzberger T, Ruprecht P, Rausch WD, Musicco M, Tampellini D, Riederer P, Gerlach M, Becker G. In vivo detection of iron and neuromelanin by transcranial sonography: a new approach for early detection of substantia nigra damage. *Mov Disord* 2005;20:1278–1285.
- Zeesman S, Carson N, Whelan DT. Paternal transmission of the congenital form of myotonic dystrophy type 1: a new case and review of the literature. *Am J Med Genet*. 2002 Jan 22;107(3):222-6.
- Zimo M, Baets J, Almeida-Souza L, De Vriendt E, Nikodinovic J, Parman Y, Battalo lu E, Matur Z, Guerguelcheva V, Tournev I, Auer-Grumbach M, De Rijk P, Petersen BS, Müller T, Fransen E, Van Damme P, Löscher WN, Bariši N, Mitrovic Z, Previtali SC, Topalo lu H, Bernert G, Beleza-Meireles A, Todorovic S, Savic-Pavicevic D, Ishpekova B, Lechner S, Peeters K, Ooms T, Hahn AF, Züchner S, Timmerman V, Van Dijck P, Rasic VM, Janecke AR, De Jonghe P, Jordanova A. Loss-of-function mutations in HINT1 cause axonal neuropathy with neuromyotonia. *Nat Genet* 2012;44(10):1080-3.
- Zu T, Gibbens B, Doty NS, Gomes-Pereira M, Huguet A, Stone MD, Margolis J, Peterson M, Markowski TW, Ingram MA, Nan Z, Forster C, Low WC, Schoser B, Somia NV, Clark HB, Schmechel S, Bitterman PB, Gourdon G, Swanson MS, Moseley M,

Ranum LP. Non-ATG-initiated translation directed by microsatellite expansions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(1):260-5.

- Zühlke C, Roeder E, Purmann S, Wieczorek D, Curry C, Loustalet C, Hellenbroich Y, Richardt HH, Gillessen-Kaesbach G. Homozygous myotonic dystrophy: clinical findings in two patients and review of the literature. *Am J Med Genet A* 2007;143A(17):2058-61.

8. SPISAK SKRA ENICA

ABP1	<i>amiloride binding protein 1</i>
ACE-R	<i>Addenbrooke's Cognitive Examination</i>
ACLA	antikardiolipinska antitela
ACTH	adrenokortikotropni hormon
ADHD	poreme aj hiperaktivnosti i deficita pažnje
Ag	agresivna skala li nosti
Al	zloupotreba alkohola
aMD1	adultna miotoni na distrofija tipa 1
An	anksioznost
ANA	antinuklearna IgG antitela
ANCA	antineutrofilna citoplazmatska IgG antitela
ANOVA	analiza varijanse
AON	antisens oligonukleotidi
APCR	<i>activated protein C ratio</i>
APP	amiloidni prekursorski protein
As	antisocijalna skala li nosti
ATG	adenin-timin-guanin
ATP	adenozin trifosfat
AV	atrioventrikularni
Av	izbegavaju a skala li nosti
AVI	atrioventrikularni blok prvog stepena
AVII	atrioventrikularni blok drugog stepena
AVIII	atrioventrikularni blok tre eg stepena
axD	aksijalna difuzivnost
A 42	amiloid beta 42
BBRVT	<i>bundle branch re-entry ventricular tachycardia</i>
BDAE	Bostonski test za ispitivanje afazija
BM	bela masa
BMI	indeks telesne mase
BNT	Bostonski test imenovanja
Bo	grani na skala li nosti
BP	telesni bol
BP-3	vezuju i protein insulinu sli nog faktora rasta 1
CAG	citozin-adenin-guanin
CANTAB	<i>Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery</i>
CaV1.1	kalcijumski kanal
CK	kreatin kinaza
CLCN1	protein hloridnog kanala skeletnog miši a
CMIA	karbonilmetaloimunoeseja
Co	kompulsivna skala li nosti
CRH	kortikotropni osloba aju i hormon
CTG	citozin-guanin-timin
CTG _{max}	broj CTG ponovaka na najve em identifikovanom alelu
CTG _{min}	broj CTG ponovaka na najmanjem identifikovanom alelu

CUG	citozin-uracil-guanin
CUGBP1	CUG vezuju i protein 1
CUGBP2	CUG vezuju i protein 2
DARTEL	<i>Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie algebra</i>
ddUTP	2',3'-dideoksiuridin-5'-trifosfat
DE	dual eho
De	zavisna skala li nosti
DHEA	dehidroepiandrosteron
DHEAS	dehidroepiandrosteron sulfat
DICER1	Dcr-1 homolog, ribonukleaza III
DIG-ddUTP	digoksinen-2',3'-dideoksiuridin-5'-trifosfat
DI	psihotične deluzije
DMAHP	<i>DM associated homeodomain protein</i>
DMPK	protein kinaza miotonične distrofije
DMS	<i>Delayed Matching to Sample</i>
DMWD	<i>dystrophia myotonica WD repeat-containing protein</i>
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
Dp	psihotična depresija
DSM IV	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV</i>
DSS	<i>Daytime Sleepiness Scale</i>
DTI	difuzijski tenzorski imidžing
Dy	distimija
ECLIA	elektrohemiluminiscentni imunoesej
EF	ejekcijska frakcija
eiF2A	eukariotski faktor inicijacije translacije 2A
EKG	elektrokardiografija
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EMG	elektromiografija
ESS	<i>Epworth Sleepiness Scale</i>
FA	frakcijska anizotropija
FDG-PET	pozitronska emisijska tomografija sa fluorodeoksiglukozom
FOV	polje snimanja
FSH	folikulostimulirajući hormon
FSS	Kruppova skala za težinu zamora
FT3	slobodni trijodtironin
FT4	slobodni tiroksin
FVC	forsirani vitalni kapacitet
FWHM	<i>full-width half-maximum</i>
GGT	gamaglutamil transferaza
GH	hormon rasta
GH	opšte zdravlje
HamA	Hamiltonova skala anksioznosti
HamD	Hamiltonova skala depresivnosti
HDL	lipoprotein visoke gustine
Hi	histrioni na skali li nosti
HINT1	<i>histidine triad nucleotide binding protein 1</i>

HLBM	hiperintenzne lezije bele mase
HLPC-FL	te na hromatografija visokih performansi sa fluorescentnom detekcijom
HOMA	<i>Homeostatis model assessment</i>
HV	<i>Hiss-ventricle interval</i>
HVOT	Hooperov test vizuelne organizacije
Hy	hipondrija
ICD	implantabilni kardioverter defibrilator
IED	<i>Intra/Extradimensional Set Shift</i>
IGF1	insulinu sličan faktor rasta 1
IIF	indirektna imunofluorescencija
INQoL	Individualizovani neuromišićni upitnik za procenu kvaliteta života
jMD1	juvenilna miotonična distrofija tipa 1
KF	Test kategorijalne fluentnosti
kMD1	kongenitalna miotonična distrofija tipa 1
LBBB	blok leve grane
LDH	laktata dehidrogenaza
LDL	lipoprotein niske gustine
LH	luteinizirajući hormon
LK	leva komora
LR-SP-PCR	<i>Long-range small-pool polymerase chain reaction</i>
MBNL1	<i>muscle blind like protein 1</i>
MBNL2	<i>muscle blind like protein 2</i>
MCMi	Milonov multiaksijalni klinički upitnik
MCS	mentalni kompozitni skor
MD	srednja difuzivnost
MD1	miotonična distrofija tipa 1
MD2	miotonična distrofija tipa 2
MH	mentalno zdravlje
miR	mikroRNK
MIRS	<i>Muscular Impairment Rating Scale</i>
MMSE	<i>Mini Mental State Examination</i>
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MoCA	<i>Montreal Cognitive Assessment</i>
MOT	<i>Motor Screening Test</i>
MR	magnetna rezonancija
MTS	<i>Match to Sample Visual Search</i>
Na	narcisoidna skaličnost
NAA	N-acetilaspartat
Ne	negativitetska skaličnost
NMDA	N-metil-D-aspartat receptor
OGTT	test na oralnu toleranciju glukoze
oMD1	oligosimptomatska, kasna adultna miotonična distrofija tipa 1
p	nivo statističke značajnosti
Pa	paranoidna skaličnost
PAL	<i>Paired Associates Learning</i>
PCAT	zgrušavanje krvi zavisno od aktivnosti proteina C

PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PCS	fizi ki kompozitni skor
PDP	prekomerna dnevna pospanost
PF	fizi ko funkcionisanje
PKR	protein kinaza zavisna od dvostrukog lanca RNK
PLHB	prednji levi hemiblok
PRM	<i>Pattern Recognition Memory</i>
PROMD	proksimalna miotoni na distrofija
PROMM	proksimalna miotoni na miopatija
P-tau	hiperfosforilisani tau protein
PTH	paratireoidni hormon
QoL	kvalitet života
QTc	korigovani QT interval
radD	radijalna difuzivnost
RAVLT	Reyov test verbalnog u enja
RBBB	blok desne grane
RE	emocionalno funkcionisanje i obavljanje dužnosti
RNK	ribonukleinska kiselina
ROCF	Rey-Osterriethova složena figura
RP	fizi ko funkcionisanje i obavljanje dužnosti
RSPM	Ravenove standardne progresivne matrice
SAD	Sjedinjene Ameri ke Države
Sc	shizotipi na skala li nosti
SD	standardna devijacija
SE	spin eho
SERCA	kalcijska ATPaza sarkoplazmatskog/endoplazmatskog retikuluma
SF	socijalno funkcionisanje
SF-36	Mera zdravlja kratke forme
siRNA	<i>small interfering RNA</i>
SIX5	<i>sine oculis homeobox homolog 5</i> gen
SKL	Test kontrolisanih usmenih asocijacija re i
SM	siva masa
SN	<i>substantia nigra</i>
So	somatizacija
SOC	<i>Stockings of Cambridge</i>
SPECT	<i>single-photon emission computed tomography</i>
SPM	<i>Statistical Parametric Mapping</i>
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SRM	<i>Spatial Recognition Memory</i>
SSP	<i>Spatial Span</i>
SVES	supraventrikularne ekstrasistole
SWM	<i>Spatial Working Memory</i>
SZO	Svetska zdravstvena organizacija
T3	trijodtironin
T4	tiroksin
TBSS	<i>Tract-based spatial statistics</i>

TCS	transkranijalna sonografija
TDI	<i>tissue Doppler imaging</i>
TE	vreme eha
TFE	<i>transient field echo</i>
Th	psihoti no mišljenje
TMT-A	<i>Trail Making Test A</i>
TMT-B	<i>Trail Making Test B</i>
TNT	sr ani troponin
TR	vreme repeticije
TSH	tireoidni stimulišu i hormon
T-tau	totalni tau protein
UV	ultravioletno
VBM	morfometrija zasnovana na vokselu
VDRL	<i>venereal disease research laboratory test</i>
VES	ventrikularne ekstrasistole
VITI	Wechslerov individualni test inteligencije
VT	vitalnost
w/v	masa po zapremini
WAIS-R	<i>Wechsler Adult Intelligence Scale – Revised</i>
WCST	Wisconsinski test sortiranja karata
\bar{x}	srednja vrednost
ZASP	protein povezan sa Z diskom
ZLHB	zadnji levi hemiblok
ZNF9	<i>zink finger protein 9</i> koeficijent korelacije

9. BIOGRAFIJA

Dr Stojan Peri je rođen 23.04.1983. godine u Šapcu. Završio je Šabačku gimnaziju 2002. godine kao član generacije. Tokom redovnih studija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu bio je stipendista Republičke fondacije za razvoj nauke i umetničkog podmlatka i dobitnik stipendije Univerziteta u Beogradu. Diplomirao je 2008. godine sa prosečnom ocenom 9,83.

Doktorske studije iz molekularne medicine upisao je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu školske 2008/2009. godine. Od januara 2009. godine do novembra 2010. godine bio je angažovan na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije pod nazivom „Istraživanje kliničkih i genetičkih korelacija motornih i nemotornih ispoljavanja bolesti nevoljnih pokreta“ rukovodioca akademika prof. dr Vladimira S. Kostića. Zaposlen je kao lekar na Klinici za neurologiju od novembra 2010. godine a specijalizaciju iz neurologije je završio u novembru 2012. godine.

Dr Peri je do sada objavio 19 naučnih radova u celini, od toga 8 kao prvi autor. Imajući zvanje istraživačkog saradnika u oblasti neurologije. Angažovan je kao spoljni saradnik na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije pod nazivom *Ispitivanje molekularno-genetskih, patohistoloških i biohemijskih karakteristika neuromišićnih bolesti* pod rukovodstvom prof. dr Vidosave Rakočević Stojanović.

Dr Stojan Peri je 2011. godine bio na šestonedeljnom usavršavanju iz oblasti miotonične distrofije, mišićnih kanalopatija i fluorescentne *in situ* hibridizacije na Odeljenju neurologije Univerziteta u Milanu kod prof. dr Giovannija Meolae. Dobitnik je međunarodne nagrade Američke akademije neurologa za 2011. godinu.

Član je Srpskog lekarskog društva, Društva neurologa Srbije, Evropske federacije neuroloških društava i evropske neuromišićne mreže TREAT-NMD. Aktivan je član Društva mladih neurologa Srbije kao predsednik Odbora za strane odnose.

Dr Peri govori engleski i služi se francuskim jezikom.

Прилог 1

Изјава о ауторству

Потписани-а Стојан Перућ

број уписа 08-DS-MM-06

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Испитивање функционалних и морфолошких поремећаја централног нервног система код болесника са миотоничном дистрофијом типа 1“

- 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, 02. Септембра 2013.



Прилог 2

**Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Стојан Перић

Број уписа 08-DS-MM-06

Студијски програм молекуларна медицина

Наслов рада „Испитивање функционалних и морфолошких поремећаја
централног нервног система код болесника са миотоничном
дистрофијом типа 1“

Ментор проф. др Видосава Ракочевић Стојановић

Коментор проф. др Ивана Новаковић

Потписани Стојан Перић

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, 02. Септембра 2013.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

„Испитивање функционалних и морфолошких поремећаја централног нервног система код болесника са миотоничном дистрофијом типа 1“

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).

У Београду, 02. Септембра 2013.

Потпис докторанда