

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Komorbiditások vizsgálata idiopathiás inflammatorikus
myopathiás betegekben**

Dr. Vincze Anett

Témavezető: Dr. Griger Zoltán



DEBRECENI EGYETEM
Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

Debrecen, 2023

Komorbiditások vizsgálata idiopathiás inflammatorikus myopathiás betegekben

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Vincze Anett okleveles orvos

Készült a Debreceni Egyetem Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori
Iskolája keretében

Témavezető: Dr. Griger Zoltán, PhD

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Bata-Csörgő Zsuzsanna, MTA doktora
Dr. Bhattoa Harjit Pal, MTA doktora

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal-Szalmás Péter, MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Bata-Csörgő Zsuzsanna, MTA doktora
Dr. Bhattoa Harjit Pal, MTA doktora
Dr. Kardos Zsófia, PhD
Dr. Gergely Lajos, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet "A"
épület, 2024.02.02., 13:00

Bevezetés

1. Az Idiopathiás inflammatorikus myopathiák általános ismertetése

Az idiopathiás inflammatorikus myopathiák (IIM) immun-mediált krónikus gyulladással járó kórképek, mely leginkább a proximális izomzatot érintve progresszív és szimmetrikus izomgyengeséget, izomfájdalmat okoznak. A fájdalom és a gyengeség gyakran immobilitás kialakulásához vezethet. Emellett megjelenhet dermatomyositisre jellemző karakterisztikus bőrelváltozás, valamint extramuszkuláris és extraszkeletális érintettség is, mint például bőrviszketés, tüdőérintettség. A betegség kórlefordása eltérő sajátossággal bír, vannak monofázisos, krónikus progresszív lefordású, illetve relapszusokkal, remissziókkal jellemezhető formák.

A pathomechanizmusában fontos szerepet játszanak a veleszületett és szerzett immunfolyamatok és a nem immun mechanizmusok egyaránt.

A betegségnek több formáját különböztetjük meg. Klinikai, immuno-pathológiai és demográfiai jellegzetességek alapján a következő alcsoportok ismertek: polymyositis, nekrotizáló autoimmun myopathia, dermatomyositis, amyopathiás dermatomyositis, juvenilis dermatomyositis/polymyositis, zárványtestes myositis. Az utóbbi időben egyre gyakrabban alkalmazzuk a betegség szerológiai osztályozását, ami a betegek szérumában jelen lévő myositis specifikus, illetve myositis asszociált autoantitestek jelenlétén alapul.

Az IIM diagnózisának felállításához a 2017-ben megjelent EULAR/ACR klasszifikációs kritériumrendszert alkalmazzuk. Különböző tényezők figyelembevételével egy pontrendszer segít a helyes diagnózis felállításában; az életkor, klinikai tünetek közül az izomgyengeség, a bőrtünetek, a nyelészavar, vagy a nyelőcső diszmotilitása, valamint laboratóriumi vizsgálatok (anti-Jo-1 antitest, CK, LDH, GOT, GPT), illetve, ha történt, akkor izombiopszia szövettani jellegzetességei alapján.

A betegség kezelésében elsődleges célunk az akut izomkárosodás, az ízületi kontraktúrák megakadályozása, a relapszusok megelőzése, ezáltal a betegek életminőségének javítása. A gyógyszeres kezelés mellett nem szabad megfedkezni a fizioterápia és a gyógytorna kiemelkedő szerepéről, mely az izomerő fokozásához, az ízületek mozgásterjedelmének megtartásához szükséges. Több kutatás is az aerob, illetve rezisztenciaedzéssel kombinált aerob torna jótékony hatását támasztja alá.

2. Az osteoporózis és az idiopathiás inflammatorikus myopathiák kapcsolata

A csonttrikulás (osteoporózis) egy gyakori csontrendszeri betegség, melyet csökkent csonttömeg és a csontszerkezet romlása jellemez, ezáltal fokozott csonttöréshez vezet. Mivel az átlagéletkor és az idős populáció aránya folyamatosan növekszik, az osteoporózis és a következményes csonttörés világszerte egészségügyi problémává vált. Széles körben ismert, hogy a rheumatoid arthritis (RA) az egyik leggyakoribb oka a szekunder osteoporózis kialakulásának. Az osteoporózis okozta csonttörések meghatározó fontossággal bírnak a betegek funkcionális státuszában és életminőségében. A csontvesztés pathogenezise az autoimmun betegségekben több tényezőtől is függ: a szérumban és szövetekben megnő a gyulladáskeltő mediátorok mennyisége, étrendi sajátosságok (csökkent kalcium és D3 vitamin bevitel), csökkent izomtömeg, izomerő és funkcionális kapacitás, immobilizáció, csökkent intesztinális kálium felszívódás, csökkent szexuális hormonszintek, napfény kerülése, napvédő krémek használata, és nem utolsósorban a glükokortikoidok (GC) alkalmazása. A krónikus GC használat megnövekedett csontfelszívódáshoz és csökkent csontépüléshez vezet. Rheumatoid arthritisben a szisztémás osteoporózis lokális csontfelszívódással jár együtt, ami a gyulladással szinovitisz következménye. Idiopathiás inflammatorikus myopathiás betegekben a csonttörések oka multifaktoriális. A dermatomyositises bőrtünetek fényérzékenyek, ezért a betegeket az UV-A és UV-B sugárzás kerülésére, és a napfényvédő krémek alkalmazására figyelmeztetjük, ami

elégtelen D3 vitamin-ellátottsághoz vezethet. Az immobilitás szintén fontos oka a csontvesztésnek, mert a csökkent mechanikai terhelés növeli az oszteoclastok aktivitását és csökkenti az oszteoblasztok tevékenységét, ezáltal a csont metabolizmus a formáció helyett a felszívódás irányába tolódik el. Hosszú távon ez vezet a csont mikrostruktúrájának a károsodásához és végül a megnövekedett törékenységhez, megnövekedett morbiditást és mortalitást eredményezve. A gyulladáscsökkentő citokinek (IL-1, IL-6, TNF- α) a betegek szérumában emelkedettek, ami szintén az oszteoclastok működését stimulálja, míg az oszteoblaszt aktivitást csökkenti. A csigolyatörések fontos, de sok esetben aluldiagnosztizált következményei az oszteoporózisnak. Lehetnek tünetmentesek is, ami tovább nehezíti a felismerését, így akár évekig észrevétlen maradhat.

Az oszteoporózis diagnózisának felállításában elsődleges szerepe a DEXA vizsgálatnak van, de a csonttörések rizikójának becslésében napjainkban több kalkuláció is elérhető. A legszélesebb körben elfogadott és alkalmazott becslés viszont a Kanis és munkatársai által 2008-ban kifejlesztett algoritmus, a Fracture Risk Assessment Tool (FRAX®), mely az oszteoporotikus törések 10 éven belüli előfordulásának valószínűségét mutatja. A FRAX a számítás során figyelembe veszi a csonttörések során releváns rizikófaktorokat, mint például a rheumatoid arthritis jelenléte, ugyanakkor a myositis jelenlétét nem. A számítás során lehetőség van a betegek BMD vagy T-score eredményeinek megadására, de a kalkuláció elvégezhető ezen adat megadása nélkül is. Az eredeti FRAX számításban a GC alkalmazása csak egy igen/nem tényezőként szerepel, de 2011-ben Kanis és munkatársai által kiegészült a szteroid dózissal való korrekció lehetőségével.

3. A viszketések általános összefoglalása

Az elmúlt évtizedekben az akut viszketés molekuláris mechanizmusának megismerése sokat fejlődött, azonban a krónikus viszketés továbbra sem teljesen tisztázott. A viszketés

létrehozásában a bőr pruriceptív rostjainak van szerepe, melyek endogén és exogén viszketést kiváltó mediatorok hatására a bőr idegvégződéseiben akciós potenciált hoznak létre (mely a fájdalomérzésben is szerepet játszik), majd a hátsó gyöki ganglionokban található neuronokon át a megfelelő receptorok aktivációja által kiváltják a viszketés érzését.

Újabb kutatások azt igazolták, hogy nem minden esetben az idegvégzések szintjén indul a viszketés kialakulása, hanem a bőrben lévő egyéb sejtek által termelt mediátorok is kiválthatják (keratinociták, immunsejtek).

4. A viszketés és a szisztémás bőrbetegségek, köztük a dermatomyositis kapcsolata

Irodalmi adatok alapján a bőrviszketést okozó leggyakoribb betegségekben az alábbi molekulák játszhatnak fontos szerepet: IL-31 és TSL atópiás dermatitisben, IL-17, IL-22 és PPAR- γ a pszoriázisban, IL-33 kontakt dermatitisben és IL-31 dermatomyositisben. Dermatomyositisben kérdőívek alapján a betegek nagy része tapasztal viszketést, mely szignifikánsan befolyásolja az életminőségüket, és irodalmi adatok alapján ezek a betegek nagyobb arányban szenvednek bőrviszketéstől, mint a szisztémás lupus erythematosusos betegek, és a viszketés súlyosabb fokú, mint psoriasisban, atópiás dermatitisben, Darier-kórban vagy vitiligóban.

A viszketés klinikai kezelése az egyik legnagyobb kihívás a mindennapi bőrgyógyászati gyakorlatban. A gyulladásos bőrbetegségekhez társuló akut és krónikus viszketésben szerepet játszó kulcsmolekulák az endothelin-1 (ET-1), interleukin 31 (IL-31), interleukin 6 (IL-6), interleukin 17 (IL-17), interleukin 33 (IL-33), tumor nekrosis faktor α (TNF- α), thymus stroma limfopoinetin (TSLP), és peroxiszóma proliferátor aktivátor γ (PPAR- γ), melyek képesek közvetlenül vagy közvetetten aktiválni az idegvégződéseket. Egerekben kimutatták, hogy a TNF- α meghatározó szerepet játszik az akut és krónikus viszketés kialakulásában, ezért ezen

molekulák célzott terápiája jótékony lehet a viszketés kezelésében. További kutatások pszoriázisban PPAR- γ agonisták alkalmazásával értek el csökkenést a viszketésben.

Az ioncsatornák a szenzoros neuronok kezdeti depolarizációjában játszanak szerepet, ezáltal felmerül a szerepük a viszketés érzésének felerősítésében is. A leginkább tanulmányozott ion csatornák a tranziens receptor potenciál (TRP) családba tartoznak.

Dermatomyositisben a viszketés érzékelése és a TRP ion csatornák, TNF- α , PPAR- γ és más molekulák közötti kapcsolat kevésbé vizsgált, és ritkák a primer humán bőrmintákból származó adatok.

Célkitűzések

Jelen munkánk során a tanszékünkön gondozott beteganyagból egy keresztmetszeti megfigyeléses vizsgálat során a következő kérdésekre kerestük a választ:

A csonttörés kockázat és csigolyatörések előfordulásának vizsgálata során:

1. Milyen arányban fordul elő az alacsonyabb BMD, a csigolyatörés és a magas csonttörés kockázat a myositises betegeink között, összehasonlítva egy rheumatoid arthritises betegcsoporttal?
2. Milyen rizikótényezők hozhatóak összefüggésbe a magasabb törési kockázattal myositisesben és rheumatoid arthritisesben?
3. Hogyan befolyásolja a csigolyatörés a betegek fizikai funkcióját és életminőségét?

A dermatomyositis asszociált viszketés feltérképezése során:

1. Van-e kapcsolat a viszketés és a bőrtünetek aktivitása között dermatomyositises betegeknél?
2. Milyen módon és mely dermatomyositis asszociált citokinek és gyulladásos mediátorok járulnak hozzá a viszketés kialakulásához?
3. Mely pruritogén molekulák expressziós mintázata mutat összefüggést a viszketéssel és a betegség aktivitással dermatomyositises betegek bőrmintáiban?

Betegek és módszerek

1. A csonttörés kockázat és csigolyatörések előfordulásának vizsgálata

Kutatásunk során a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Klinikai Immunológiai Tanszékén gondozott myositises és rheumatoid arthritises betegek adatait dolgoztuk fel retrospektív módon 2017. január és 2018. június között. A betegek a klinikai vizsgálatunkba beleegyezésüket adták, és megkaptuk az etikai engedélyeket. A beválasztás során kritérium volt a definitív vagy valószínű idiopathiás inflammatorikus myopathia diagnózisa a Bohan és Peter, valamint az EULAR/ACR myositis kritériumrendszer alapján és a rheumatoid arthritis diagnózisa a 2010-es American College of Rheumatology-European League Against Rheumatism (ACR-EULAR) klasszifikációs kritériuma alapján. A két betegség esetén nem volt beválasztáskor szempont a betegségfennállási idő és a kezelés (különösen a kumulatív szteroid dózisok) egymáshoz illesztése, a betegeket folyamatosan válogattuk be. Azok a betegek, akiknél a csontanyagcserét befolyásoló egyéb tényező állt fenn, kizárásra kerültek: csont ásványi anyag tartalmát befolyásoló gyógyszerek szedése (biszfoszfonát, thiazid típusú diuretikum, antikoaguláns, görcsoldó, gliazon, stb), kivéve D3 vitamin és calcium pótlás, valamint másodlagos osteoporosis, és malignus alapbetegség.

Összesen 121 beteg került bevonásra, melyből 26 beteg került kizárásra valamilyen fennálló kizárási kritérium vagy hiányzó BMD és/vagy FRAX adat miatt.

1.1 Rutinlaboratóriumi vizsgálatok

A rutinlaboratóriumi vizsgálatok során kalcium, alkalikus foszfatáz, C-reaktív protein (CRP), thyroidea stimuláló hormon, szérum totál 25-OH-D vitamin szintek, csont anyagcsere markerek: parathyreoid hormon (PTH), oszteocalcin (OC), I-es típusú kollagén C-terminális telopeptidje (CTX-I) meghatározása történt meg.

1.2 Csont ásványi tartalom meghatározása

A csontok ásványi anyag tartalmát (BMD) kettős energiájú röntgensugárzás (DEXA) segítségével mértük a lumbalis gerincen (L1-4 csigolyák), és a bal femurnyakon. A felvételek DPX Pro csont denzitométerrel készültek (GELunar Radiation Corporation, Madison, WI, USA). Azoknál a betegeknél, akiknél volt korábbi csípőcsonttörés, csípő protézis került beültetésre, vagy súlyos ízületi destrukció volt megfigyelhető, a jobb femurnyakon történt a mérés. Az osteoporózis és osteopénia diagnózisát a World Health Organization (WHO) Study Group definíciója alapján állítottuk fel.

1.3 Alkalmazott kérdőívek

FRAX, Health Assessment Questionnaire (HAQ) és Short Form 36 (SF-36) kérdőíveket személyes találkozás alkalmával töltöttük ki minden beteggel. A <http://www.shef.ac.uk/FRAX®> web-alapú algoritmus segítségével mértük a betegek FRAX score-ját, a magyarországi populációra vonatkoztatva. A rizikófaktorok megadásával minden beteg esetében megkaptuk a 10 éves törési valószínűséget a csípőcsont és egyéb csonttörések vonatkozásában (major törések; gerinc, alkar, váll). A betegek életminőségét, a mentális egészségét magyarországi populációra validált SF-36 kérdőívvel, a fizikai funkciót pedig HAQ kérdőív segítségével mértük fel.

1.4 A thoracolumbalis gerinc röntgen vizsgálatok értékelése

A csigolyatörések előfordulását kétirányú (anteroposterior és laterális) thoracalis és lumbalis gerinc röntgen vizsgálattal mértük fel. Összesen 40 myositises és 35 RA-s beteg vizsgálata készült el. A röntgenfelvételeket Genant szemi-quantitatív módszerrel elemezve mértük fel a csigolyatörések előfordulási gyakoriságát: a csigolyák alakja (ék, konkáv, nyomott) és a csökkent anterior-posterior vagy középső csigolyatest magasság (grade 0: nincs a

magasságban redukció; grade 1: minimalis törés, 20–25% magasságcsökkenés; grade 2: mérsékelt törés, 25–40% magasságcsökkenés; és grade 3: súlyos törés, nagyobb, mint 40% magasságcsökkenés) által.

1.5 Statisztikai elemzések

Statisztikai elemzéseket az SPSS szoftver segítségével végeztük el (26-os verzió, IBM Corp., Armonk, NY, USA). Az eloszlásvizsgálat folyamatos változók esetén Shapiro-Wilk teszttel történt. A normál eloszlású folytonos változókat átlag és standard deviáció (SD) segítségével írtuk le, a kategórikusan változó adatokat frekvenciával (esetszám) és százalékkal jellemeztük. A csoportok összehasonlításakor független mintás T-tesztet vagy Mann-Whitney tesztet alkalmaztunk az eloszlás függvényében. Spearman korrelációval többváltozós adatokat vizsgáltunk, Fisher-féle egzakt teszttel pedig kétváltozós adatokat. A csigolyatörések rizikófaktorainak felméréséhez Wilks-tesztet használtunk. Többváltozós lineáris regresszió segítségével vizsgáltuk a HAQ és SF-36 kérdőívekre ható faktorokat. A 0,05 alatti p-értéket tekintettük statisztikailag szignifikáns eredménynek.

2. A dermatomyositis asszociált viszketés vizsgálata

Kutatásunk második részében a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Klinikai Immunológiai Tanszékén gondozott 17 dermatomyositises beteg vizsgálatát végeztük el 2017. február és 2021. szeptember között. A betegek a klinikai vizsgálatunkba beleegyezésüket adták, és megkaptuk az etikai engedélyeket. A beválasztási kritérium volt a definitív vagy valószínű dermatomyositis diagnózisa Bohan és Peter, vagy a 2017-es EULAR/ACR klasszifikációs kritérium alapján, aktív bőrtünetekkel. A tumor-asszociált dermatomyositis vagy más viszketéssel összefüggő kórképek (kolesztatikus májbetegség, infekció, krónikus veseelégtelenség, vagy más szisztémás bőrbetegség) kizárásra kerültek.

A dermatomyositis betegségaktivitását vizuális analóg skála (VAS), a bőrtünetek aktivitását pedig a dermatomyositisben alkalmazott súlyossági score részeként ismert CDASI (Cutaneous Dermatomyositis Disease Area and Severity Index) segítségével kerültek felmérésre. A CDASI aktivitás egy 0-100 közötti pontszám, a károsodási index pedig 0-32 közötti.

Az izomgyengeséget manuális izomerő vizsgálattal (manual muscle test - MMT) mértük fel.

A viszketés súlyosságát 5-D viszketési skálával vizsgáltuk (5-25 közötti pontszám), melyet 3 csoportra osztottunk a további vizsgálatokhoz: nincs, vagy enyhe a viszketés (5-10), mérsékelt viszketés (11-15), és súlyos viszketés (16-25).

A rutinlaboratóriumi vizsgálatok során kreatin kináz (CK), laktát dehidrogenáz (LDH), aszpartát-aminotranszferáz (AST/GOT), glutamát-piruvát transzamináz (ALT/GPT), C-reaktív protein (CRP), vérsüllyedés (erythrocyte sedimentation rate - ESR) és kreatinin szintek kerültek meghatározásra.

2.1. Bőrbiopszia

A 17 betegtől egy aktív bőrterületről (erythematosus terület) és egy nem aktív területről 4-4 mm-es punch-biopsziás mintát vettünk. Az aktív lezióból vett minták 14 beteg esetén a hát felső régiójából származnak, 2 betegnél a felkarból és egy betegnél a felső comb laterális részéből. A nem lézionális mintákat dermatomyositises tünetektől mentes, de a fenti anatómiai területeknek megfelelő pozícióból vettük. A mintákat ezt követően 2 részre vágva egyik részüket real-time kvantitatív PCR vizsgálatra (szöveti homogenizáció, totál RNS izoláció, real-time kvantitatív PCR), másik részüket pedig immunhisztokémiai vizsgálatra használtuk fel.

2.2. Valós idejű kvantitatív polimeráz lánreakció (RT-qPCR)

A PCR vizsgálatok a Debreceni Egyetem Élettani Intézetében történtek LightCycler 384 System készülék segítségével (Roche, Bázél, Svájc). A teljes RNS izolálása TRIzol reagenssel történt (Life Technologies Corporation, Foster City, CA, USA), majd a gyártó protokollja alapján rekombináns RNase-free DNase-1 kezelést végeztünk (Life Technologies), ezáltal a genomi DNS szennyeződésekkel elimináltuk. A következő lépés során a teljes RNS-ből 1 µg high-capacity cDNA kit (Life Technologies, USA) segítségével cDNS-t állítottunk elő. A vizsgálatban szereplő gének (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM3, TRPC1, TRPC6, TRPA1, TNF- α , PPAR- γ , IL-6, and IL-33) amplifikációja specifikus TaqMan primerrel és próbával történt TaqMan Gene Expression Master Mix protokoll (Life Technologies, USA) alkalmazásával. Belső kontroll mind a lézionális és nem lézionális minta esetén a gliceraldehid-foszfát-dehidrogenáz (GAPDH) expresszió szintje volt.

2.3. Immunhisztokémia

Az immunhisztokémiai vizsgálatok a Debreceni Egyetem Kenézy Gyula Campus Patológia Osztályán történtek. A vizsgálat során az IL-6 (Novus Biologicals, Littleton, USA), IL-33 (Boster Biological Technology, CA, USA), TNF- α (Sigma-Aldrich, MO, USA), és PPAR- γ (LifeSpan BioSciences, WA, USA) jelenlétét vizsgáltunk formalinnal fixált paraffinba ágyazott bőr metszeteken. Összesen 15 beteg mintáját dolgoztuk fel. Az immunreakciót ugyanazon beteg lézionális és nem lézionális bőrmintáin végeztük el. A procedúra során 4 µm-es vékony metszeteket vágunk le a paraffinba ágyazott blokkokból és az antigénfeltárás hőindukcióval történt a lemezeken. Az endogén peroxidáz aktivitás blokkolására 10 percig 3%-os H₂O₂ oldatot használtunk. A blokkolás után a szövetszeleteket szobahőmérsékleten inkubáltuk a primer antitesttel, majd a szeleteket szobahőmérsékleten 30 percig sötétben inkubáltuk másodlagos immunjelölés és előhívás céljából EnVision FLEX Labeled polymer-HRP anti-nyúl és anti-egér rendszerben (DAKO, Glostrup, Dánia), valamint 3,3'-

diaminobenzidine (DAB) segítségével. A sejtmagok festése hematoxilinnel történt és a szövetszeletek pedig fedőmédiummal kerültek lefedésre (Histolab, Göteborg, Svédország). Egészséges bőr szeletek szolgálták a festési eljárás optimalizálásához pozitív kontrollként az IL-6, IL-33 és PPAR- γ detektálásához, a TNF- α expressziójának validálásához pedig colitis ulcerosával diagnosztizált vastagbél mintát alkalmaztunk. Negatív kontrollt a primer antitest kihagyásával nyertünk minden esetben. Az expressziók szemikvantitatív analizálásához ImageJ 1.48v szoftvert használtunk. Ezt követően az eredmények „dot plot” diagram segítségével kerültek ábrázolásra, ahol minden egyes pont a festődési intenzitást reprezentálja egy beteg bőrmintájánál.

2.4. Statisztikai elemzések

Statisztikai vizsgálatok SPSS szoftver segítségével történtek (28-os verzió, IBM Corp., Armonk, NY, USA). A normalitás eloszlásának vizsgálatához a folytonos változóknál Shapiro-Wilk tesztet alkalmaztunk. Normál eloszlás esetén az adatokat átlag és standard deviáció (SD) formájában tüntettük fel, minimum és maximum értékekkel. A nem normál eloszlású adatokat mediánnal és interquartilis tartománnyal (IQR), a kategorikus adatokat frekvenciával (esetszám) és átlaggal jellemeztük. Wilcoxon egzakt teszttel vizsgáltuk a génexpressziós változásokat. Kendall's tau segítségével a konkordáns és diszkonkordáns párok számát hasonlítottuk össze. Hochberg's korrelációval a páronkénti összehasonlítást végeztük el. Az immunhisztokémiai festődés mértékét független mintás T-teszttel hasonlítottuk össze. A különböző vizsgálati alcsoportok elemzéséhez Kruskal-Wallis egzakt tesztet és Jonckheere–Terpstra egzakt tesztet végeztünk. A vizsgálatok során szignifikáns eredménynek a 0,05 alatti p-értéket tekintettük.

Eredmények

1. A csonttörés kockázat és csigolyatörések előfordulásának vizsgálata

A kutatásban 121 kaukázusi beteg vett részt, akik teljesítették a beválasztási kritériumokat, de 26 beteg kizárásra került valamilyen kizárási kritérium fennállása, vagy hiányzó BMD vagy FRAX érték miatt. A végleges betegcsoport 52 myositises beteget (9 férfi, 43 nő, átlagéletkor 57,46 év), és 43 rheumatoid arthritises (2 férfi és 41 nő, 58,58 év átlagos életkorral) beteget foglalt magába. A két csoport alapvető klinikai paramétereit és laborértékeit között (kálcium, alkalikus foszfatáz, CRP, thyroidea stimuláló hormon, szérum totál 25-OH-D vitamin, PTH, OC, CTX-I) nem volt szignifikáns különbség. Ehhez hasonlóan szintén nem volt különbség a két csoportban előforduló kalcium és D vitamin pótlás előfordulásának tekintetében sem (34/52 vs. 29/43 beteg).

Megvizsgálva az átlagos BMD értékeket, nem találtunk a két betegpopuláció között szignifikáns eltérést. A FRAX® score rizikófaktorai között (korábbi csonttörés, szülőknél előforduló combnyaktörés, dohányzás, alkoholfogyasztás, glükokortikoid terápia) nem volt szignifikáns különbség a két betegcsoport között, kivéve természetesen a rheumatoid arthritis jelenlétét. Ennek ellenére az osteodenzitometriai leletek alapján azt találtuk, hogy a myositises betegek csontsűrűségi eredményei rosszabbak az RA-s betegekéhez képest (Fisher féle egzakt teszt, $p=0,045$). Nevezetesen a myositises betegcsoportban normál BMD 27%-ban, osteopenia 60%-ban, az osteoporózis 13,5%-ban fordult elő, míg az RA-s kohorszban a normál BMD előfordulása 53,5%-nak, az osteopenia 39,5%-nak, az osteoporosis pedig 7%-nak mutatkozott.

A következő lépésben kiszámoltuk a betegek 10 éves csonttörési rizikóit a FRAX score segítségével. A csonttörés kockázat kalkulációja először a BMD értékek megadása nélkül történt meg. Ez alapján a rheumatoid arthritises betegcsoportban mind a major törések, mind pedig a combnyaktörés előfordulási kockázata magasabb volt a myositises betegekhez képest (15.58% vs. 9.68 és 6.23% vs 3.06%; $p=0,008$ és $p=0,022$). Másodsorban megismételtük a

kalkulációt a BMD eredmények figyelembevételével, és a szignifikáns különbség a két betegcsoport között eltűnt (13.25% vs. 9.44 és 3.57% vs. 2.77%; $p=0,053$ és $p=0,811$). Végezetül a csonttörési rizikót az alkalmazott szteroid dózis korrekciójával is elvégeztük. Ezzel a korrekcióval a két csoport közötti különbség nagysága tovább csökkent: 9.96% vs 9.54% ($p=0,884$) illetve 2.46% vs. 2.87% ($p=0,128$).

Ahogy korábban említettük, a bevont betegekből 75 esetben (40 myositises: 8 férfi, 32 nő, átlag életkor 60,97 év, és 35 rheumatoid arthritises: 35 nő, átlagéletkor 59,71 év) készült kétirányú gerinc röntgen vizsgálat. A myositises betegcsoportban szignifikánsan hosszabb volt a betegség fennállási idő (13 vs. 7 év, $p=0,021$) és magasabb volt a kezelés során alkalmazott szteroid kumulatív dózisa (17,6 g vs. 4,1 g, $p=0,009$) az RA-s betegcsoporthoz viszonyítva. A röntgen eredményeket megvizsgálva 54 beteg esetében találtunk valamilyen vertebrális törést, összesen 194-et. A myositises betegek 75%-ban (115 törés 30 beteg esetében) és az RA-s betegek 68%-ban (79 törés 24 beteg esetében) fordult elő valamilyen csonttörés, amely statisztikailag nem különbözött szignifikánsan.

Következő lépésben a betegcsoportokon belül létrehoztunk 2-2 csoportot a csigolyatörések jelenléte alapján, majd összehasonlítottuk a törést nem szenvedett, illetve törést elszenvedett betegek adatait. Az átlagéletkor a törést szenvedett betegek körében szignifikánsan magasabb volt mindkét betegcsoportban Mann-Whitney teszt alkalmazásával (62,83 vs. 55,4; $p=0,034$ a myositises csoportban, és 63,25 vs. 52,0; $p=0,022$ a RA-s csoportban). Ennek megfelelően az életkor és a törések szignifikáns összefüggését igazolta a lépcsőzetes diszkriminancia analízis is myositisben ($p=0,042$), de az életkor nem volt független rizikótényező a törések tekintetében a RA-es betegcsoportban. Ezzel ellentétben a RA-es betegcsoportban szignifikánsan alacsonyabb lumbális és femurnyak BMD volt észlelhető a törést szenvedett (1,0 g/cm² vs 1,19 g/cm² és 0,83 g/cm² vs 0,94 g/cm²; $p=0,008$ és $p=0,01$) betegek esetében. A myositissel ellentétben RA-ben a legszorosabb korrelációt a törésekkel az alacsony lumbális BMD mutatott a lépcsőzetes diszkriminancia analízissel ($p=0,001$), míg a femurnyak BMD és az életkor nem

bizonyult független rizikófaktoroknak, az egymástól való függésük miatt. Az átlagos totál 25-OH-D vitamin szint nem mutatott korrelációt a csigolyatörések előfordulásával.

Végezetül megvizsgáltuk a csigolyatörések hatását a betegek életminőségére és fizikális funkcióira az SF-36 és HAQ kérdőívek segítségével. A teljes vizsgálati betegpopulációt vizsgálva a betegek fizikai funkcióit felmérő HAQ érték és az SF36-tal mért életminőség csökkenése szignifikánsan korrelált a vertebrális törések számával. Mindemellett a női nem szignifikánsan összefüggött a rosszabb SF-36 eredményekkel ($p=0,015$). A romló fizikai aktivitás a myositis csoportban kifejezettebb volt, mint az RA-s betegek körében ($R = 0,457$; $p=0,008$ vs. $R = 0,376$; $p=0,041$). Meglepő módon nem találtunk szignifikáns korrelációt a törések és az RA-s betegek SF-36 értékeinél, de myositisben és az összes beteg esetén is a csonttörések erős összefüggést mutattak az alacsonyabb SF-36 eredményekkel. Ezen túlmenően lineáris modell analízis vizsgálattal a RA-s csoportban a korábban előforduló csonttörés ($p=0,024$) és az egyidejű szteroid terápia ($p=0,032$) szignifikánsan összefüggött a rosszabb SF-36 eredménnyel. Hasonló eredményeket találtunk, amikor külön vizsgáltuk a kérdőív mentális és fizikális komponenseit.

2. A dermatomyositis asszociált viszketés vizsgálata

Összesen 17 dermatomyositises beteg (6 férfi és 11 nő) vett részt a vizsgálatban. A betegek klinikai és laboratóriumi paraméterei, szervi manifesztáció és az autoantitestek előfordulása nem különbözött szignifikánsan. Az átlag életkor a vizsgálat elvégzésekor $58,82 \pm 9,78$ év volt (43–76), és a betegség fennállási idő 46 hónap (20-78). Minden beteg a dermatomyositis standard terápiáját kapta, beleértve a glükokortikoidot és az immunszuppresszív terápiát. A globális betegségaktivitás enyhe-mérsékeltnek mutatkozott a legtöbb beteg esetében (átlag: $2,85 \pm 0,99$ /1–4/), ugyanakkor az átlagos CDASI aktivitási score $26,24 \pm 12,64$ (8–49) volt. A viszketés mértékének felmérése során azt találtuk, hogy a betegek medián 5-D viszketési

pontszáma 8 volt (5-14). Ennek alapján a betegek 59%-a (10/17) enyhe viszketésben szenvedett, 23,5%-ban (4/17) mérsékelt viszketés, és 17,65%-ban (3/17) súlyos viszketés fordult elő.

Vizsgálatunk első részében megvizsgáltuk a viszketés és a dermatomyositis aktivitásának összefüggését. Eredményeink alapján a viszketés súlyosságát jelző 5-D viszketési score pozitívan korrelált a betegség után aktivitását jelző CDASI aktivitási pontszámmal (Kendall's tau-b=0,571; p=0,003), de a károsodási pontszámmal nem (p=0,021). Nem találtunk ugyanakkor szignifikáns kapcsolatot a betegség globális aktivitását jelző VAS pontszám és az 5-D viszketési score között (Kendall's tau-b=0,27).

Következő lépésben a viszketésben potenciálisan szerepet játszó pruritogén molekulák célzott génexpressziós analízisét végeztük el. Az aktív dermatomyositises betegekből vételezett bőrbioptziás mintákból elvégzett Q-PCR eredmények értékelése során minden beteg esetében a lézionális minták eredményeit ugyanazon beteg nem-lézionális mintájának eredményeire normáltuk.

A legfontosabb eredményeket kiemelve igazoltuk, hogy a TNF- α mRNS szintje szignifikánsan magasabb volt a lézionális bőrmintákban, a nem lézionális mintákhoz képest (Wilcoxon exact; p=0,009). Ezzel párhuzamban szignifikáns különbséget találtunk a lézionális TNF- α mRNS szintjeiben a viszketés mértéke alapján besorolt különböző alcsoportokban (Kruskal–Wallis exact; p=0,038); ugyanakkor a normalizált TNF- α szintje nem korrelált az 5-D viszketési pontszámmal (Kendall's tau-b=0,127; p>0,1). Az IL-6 mRNS szintje a lézionális dermatomyositises bőrmintákban nem különbözött szignifikánsan a nem lézionális mintákhoz képest (Wilcoxon exact; p>0,1). Ugyanakkor a lézionális IL-6 mRNS szintje pozitívan korrelált az 5-D viszketési skála mértékével és a CDASI aktivitási pontszámával is (Kendall's tau-b=0,585; p=0,008 and 0,45; p=0,013).

A PPAR- γ mRNS szintje numerikusan alacsonyabb volt az aktív lézionális DM-es bőrben, azonban statisztikailag nem érte el a szignifikancia szintjét (Wilcoxon exact; $p > 0.1$). Továbbá a normalizált PPAR- γ mRNS szintje nem mutatott szignifikáns összefüggést a viszketéssel (Kendall's tau-b = $-0,362$; $p = 0,058$), és ehhez hasonlóan a különböző mértékű viszketési kategóriákban sem volt különbség a szintjében (Jonckheere–Terpstra egzakt; $p = 0,053$). Érdekes módon az IL-33 mRNS szintje szintén nem különbözött szignifikánsan a lézionális és nem lézionális bőrmintákban.

A korábbi irodalmi adatok alapján viszketésben fontos szereppel bíró TRP család tagjainak mRNS szintje (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM3, TRPC1, TRPC6, és TRPA1) vizsgálatunkban nem különbözött szignifikánsan a lézionális és nem lézionális mintákban, és nem találtunk korrelációt sem a TRP-csatornák sem az 5-D viszketési skála, sem pedig a csatornák és a CDASI aktivitási pontszám között. Ezzel ellentétben szignifikánsan pozitív korreláció volt levonható a normalizált TRPV4 mRNS szintje és a CDASI károsodási pontszáma között (Hochberg's correction; Kendall's tau-b = $0,626$; $p < 0,001$).

Az immunhisztokémiai analízis során a TNF- α , PPAR- γ , IL-6 és IL-33 festődési intenzitását vizsgáltuk. A szövettani vizsgálat során subepidermalis és perivascularis gyulladással infiltrációt találtunk a lézionális dermatomyositis mintákban.

A TNF- α expressziója leginkább a keratonocyták citoplazmájában, dendritikus sejtekben és endothel sejtekben volt megfigyelhető, ugyanakkor a festődés szemi-quantitatív vizsgálata során a lézionális és nem lézionális minták között nem találtunk eltérést (független mintás T-teszt, $p > 0,1$).

PPAR- γ a dendritikus sejtekben, endothel sejtekben volt látható az epidermisben, de itt sem volt különbség a lézionális és nem lézionális minták között.

Az IL-6 expressziója erős citoplazmatikus reakciót mutatott az epidermisben, az endothelben és a dendritikus sejtekben, továbbá az IL-6 kimutatható volt a verejték- és

faggyúmirigyekben is, de a lézionális és nem lézionális minták között itt sem találtunk szignifikáns eltérést az expresszió mértékében.

Az IL-33 esetén pozitív reakciót láttunk az endothelben, de itt sem volt szignifikáns különbség a területek között.

Megbeszélés

1. A csonttörés kockázat és csigolyatörések előfordulásának vizsgálata

Kutatásunk során csonttörés kockázatot mértünk fel és hasonlítottunk össze idiopathiás inflammatorikus myopathiás és rheumatoid arthritises betegek között, és tudomásunk szerint először hasonlítottuk össze a két csoport BMD és FRAX adatait, valamint a csigolyatöréseik előfordulását.

Alapvetően a BMD nélkül végzett törési rizikóbecslés során a rheumatoid arthritises betegeknek volt magasabb esélyük a csonttörésre, a myositishez képest, azonban, ha a BMD adatokat is megadtuk a kalkuláció során, a korábbi szignifikáns eltérés eltűnt a két csoport között. Ez arra enged következtetni, hogy a myositiszes betegek alacsonyabb BMD értéke úgymond kikerüli a rheumatoid arthritis, mint rizikótényező hatását a FRAX számítása során. Ha a glükokortikoid korrekciót is figyelembe vesszük a FRAX meghatározása során, akkor az eddig meglévő, nem szignifikáns különbség mértéke még tovább csökken. Mindezek alapján, figyelembe véve a kutatásunkban mért törések előfordulását, a BMD érték nélkül elvégzett FRAX rizikó myositisben jelentősen alulbecsli a valódi törési rizikót, így myositis esetében mindenképpen a BMD értékek ismeretében és a steroid dózis korrigálásával szükséges a törési rizikót megállapítani.

Tekintettel a myositiszes betegek magas oszteopénia és oszteoporózis előfordulási arányára, mindezek alapján logikusnak tűnik, hogy bevezetésre kerüljön a FRAX score-ba egy, a rheumatoid arthritishez hasonló szorzó, mint rizikótényező, melyet akár más szisztémás muszkuloszkeletális betegség esetén is alkalmazhatunk (SLE, Sjögren szindróma, vasculitis). Természetesen ennek a megalapozásához nagyobb betegpopulációk követéses vizsgálata szükséges.

Kutatásunk során kimutattuk, hogy myositisben a törésekkel a legszorosabb összefüggést az idősebb életkor mutatta, míg RA-ban az alacsonyabb lumbalis BMD szint bizonyult a

legmeghatározóbb tényezőnek. Mindkét betegcsoportban a csigolyatörések igen gyakoriak voltak, és nagymértékben befolyásolta a betegek életminőségét, fizikai funkcióját, különösen a többszörös törések esetében. A HAQ kérdőívek alapján a myositises nőbetegek tapasztaltak nagyobb funkciókiesést. Érdekes módon a RA-es betegeknél nem volt a törés szignifikáns tényező a HAQ-ot illetően, melynek oka lehet a kérdőíveket befolyásoló egyéb tényező, például a betegség alapmechanizmusából adódó ízületi károsodás és szekunder fibromialgia is.

Az elmúlt években csak egy pár tanulmány jelent meg a myositises betegek csontjainak egészségéről. Egy irodalmi áttekintő vizsgálat az oszteopénia előfordulását 7-75% közé, az oszteoporózist 13-27% közé sorolta, a csigolyatörések pedig 11-75 fordultak elő. Egy brazil eset tanulmányban bebizonyították, hogy az oszteoporózis gyakoribb volt dermato- és polymyositises nőkben, mint egészséges kontrollokban combnyakon és lumbális gerincen végzett DEXA vizsgálat alapján egyaránt, továbbá magasabb volt a csonttörések gyakorisága is (17,9 vs. 5,1%, $p=0,040$; OR = 3,92; CI 95%: 1,07–14,33). Egy népesség alapú tajvani retrospektív vizsgálat szintén igazolta, hogy 2,99-szer gyakoribb az oszteoporózis prevalenciája dermatomyositises/polymyositises betegek esetében, mint az egészséges populációban, és 13 éves követéses periódus után pedig 5,35%-kal volt magasabb. Érdekes módon az oszteoporózis rizikója független volt a glükokortikoidoktól és immunszuppresszív kezelésektől. Fontos ugyanakkor kiemelni, hogy a vizsgálatban néhány fontos adat, úgymint a dohányzás, alkoholfogyasztás, BMI, társadalmi-gazdasági státusz, fizikai aktivitás, D vitaminhiány, kalcium és D vitamin pótlás, egyéb antiporotikus terápiák, nem voltak vizsgálva. Egy hongkong-i egy centrumos vizsgálat azt találta, hogy a női nem, a csökkent szérumszint, a kezdeti magas betegségaktivitás (MYOACT által vizsgálva), és a magas kumulatív prednizolon dózis összefügg az alacsonyabb BMD eredményekkel. Hasonlóan, az Egyesült Királyságban azoknál az IIM-es betegeknél, akik hosszú távon, napi 5 mg feletti prednizolon dózist kaptak, szignifikánsan hamarabb alakult ki oszteopénia vagy oszteoporózis ($p<0,0001$), mint azoknál, akik kevesebb, mint 5 mg-ot kaptak. Egy nemrégiben Gupta

és munkatársai, egy relatív fiatal, indiai myositises kohorszban a betegek közel felében találtak tünetmentes csigolyatörést. Ez sokkal magasabbnak mutatkozott, mint az ugyanebben a centrumban, etnikai és környezeti különbség nélküli SLE-s betegek között mért eredmény, ennél fogva valószínű, hogy a magasabb csonttörési rizikó a myositis betegség sajátosságainak köszönhető. Gupta és munkatársai vizsgálatában a betegek életkora és a myositis átlagos fennállási ideje a mi betegpopulációnkhoz képest alacsonyabb volt, de ennek ellenére mi nem tapasztaltunk magasabb törési előfordulást a betegeinknél, ami azt sugallja, hogy a törések a betegség kezdeti szakaszán jelennek meg leginkább, amikor a magasabb glükokortikoid dózisok alkalmazása is jellemzőbb. Ez a munkacsoport végezte el az eddig egyedül elérhető longitudinális követést is a fenti vizsgálat betegein. A kezdeti betegcsoport egy kisebb populációját követve 3 év alatt a csonttörés aránya 46%-ról 61,29%-ra nőtt. Ezen kívül azon betegek, akik korábban csigolyatörést szenvedtek, magasabb kockázattal szenvedtek el újabb törést összehasonlítva azokkal a betegekkel, ahol nem volt korábban törés (76,5% vs. 14,28%; RR: 5,35). A törések száma szignifikánsan korrelált az életkorral, a lumbális 4-es csigolya és a rádus alsó harmadának szintjében mért T-score-ral, és a myositis károsodási index pontszámával (MDI). Sem a hagyományos, sem pedig a betegséggel kapcsolatos változók nem különböztek, és sem a betegségaktivitás, sem pedig a glükokortikoid dózisa nem volt befolyásoló tényező. A leggyakrabban érintett csigolyák az indiai kohorszban a 11-es és 12-es háti csigolyák voltak (30,4%), a mi beteganyagunkban pedig a 7-es és 8-as háti csigolyák, valamint az 5-ös ágyéki csigolya. A különbség oka lehet a populációk különböző életkora, illetve az eltérő etnikum.

Vizsgálatunk korlátjaként meg kell említenünk, hogy ez egy egycentrumos, magyar myositises kutatás volt, emiatt a résztvevő betegek száma kevés volt. Nem minden beteg esetén volt lehetőség a gerinc röntgen vizsgálat elvégzésére, ami szelekciós torzítást okozhatott. Mivel keresztmetszeti vizsgálatot végeztünk, nem volt lehetőség a becsült és a valós törési rizikó összehasonlítására.

Összességében elmondható, hogy az osteoporózis előfordulása és kockázata IIM-es betegeknél magasabb, mint egészséges populációkban, és hogy a csonttörések szignifikánsan befolyásolják a betegek életminőségét. A különböző országokban elvégzett kutatások eredményei is ehhez hasonlítanak, utalva arra, hogy a magas csonttörési prevalencia egy világméretű jelenség a myositises betegekben. Fontos kiemelni, hogy még a fiatalabb betegek esetén is előfordulnak tünetmentes törések, főleg a betegség korai szakaszában, ami emeli a rizikóját egy bekövetkezendő további törésnek. Az eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy a törések megelőzése érdekében nagyon fontos a betegek edukálása is, hiszen vizsgálatunkban csak a betegek kétharmada alkalmazta a kezelés mellett a D-vitamin és kalcium pótlást, és a farmakológiai és nem farmakológiai preventív terápia alkalmazásával csökkenthető a törések kialakulása. A munkánk eredményei alapján készítettünk egy betegtájékoztatót, mellyel a betegek éberségét és a preventív farmakológiai és nem farmakológiai antiporotikus terápia alkalmazását szorgalmazzuk.

2. A dermatomyositis asszociált viszketés vizsgálata

A munkánk másik részében célzott génexpressziós vizsgálatokat végeztünk, mely során a viszketésben szerepet játszó mediátorokat és receptorokat vizsgáltuk dermatomyositisises betegeink körében. Összességében elmondhatjuk, hogy igazoltuk, hogy [1] a viszketés érzése szignifikánsan összefüggött a dermatomyositisises betegek bőrtüneteinek aktivitásával a CDASI alapján, [2] az általunk vizsgált legtöbb pruritogén mediátor mRNS expressziója és az immunohisztokémiával vizsgált kifejeződése nem különbözött a lézionális és nem lézionális mintákban, valamint, hogy [3] a TNF- α és IL-6 szerepet játszhat a dermatomyositisises betegek viszketésének kialakulásában.

A dermatomyositis egyike a leggyakoribb viszketéssel járó szisztémás autoimmun betegségeknek. Egy 191 dermatomyositisises beteg bevonásával készült vizsgálat során a

résztevők 90,6%-a tapasztalt legalább enyhe viszketést, és több, mint 50%-uk mérsékelt vagy súlyos viszketést jelzett vizuális analóg skála alapján. Egy másik vizsgálat során a dermatomyositis betegek 84,6%-a tapasztalt bőrvizketést, mely a mindennapi életükre is hatással volt, annak ellenére, hogy nem volt a betegségnek izomérintettség a vizsgálat idején.

Irodalmi adatok alapján a dermatomyositis asszociált viszketés pathomechanizmusa nem teljesen ismert, különösen a humán vizsgálatok ritkák. Feltételezhető, hogy a bőrtünetek aktivitása és a következményes bőrgyulladás van kapcsolatban a viszketés érzésének kialakulásával, mely a közvetlen kapcsolatot támasztja alá a betegség pathogenezise és a viszketés között.

Az eredményeink azt mutatják, hogy a betegek viszketés érzése összefüggésben van az érintett területen lévő bőrtünetek manifesztációjának súlyosságával (CDASI), nem befolyásolja viszont a teljes betegség aktivitás és a CDASI károsodási score. Az eredmények a korábbi irodalmi adatoknak megfelelőek, és azt sugallják, hogy a viszketés döntően a betegség bőrtüneteinek aktivitásával és nem a teljes betegségaktivitással (beleértve az izom, tüdő, szív, és más érintettséget), vagy bőr károsodással függenek össze.

A tumor necrosis faktor α sok szisztémás gyulladásoz betegség pathogenezisében játszik főszerepet, melyek kezelésében egyre szélesebb körben alkalmazunk TNF inhibitorokat. Az eredményeink, miszerint a TNF- α mRNS szint szignifikánsan magasabb a lezionális mintákban arra enged következtetni, hogy TNF- α a dermatomyositis pathomechanizmusában is fontos szereppel bír. Az, hogy a különböző súlyosságú viszketési kategóriákban is volt eltérés a TNF- α mRNS expressziójának szintjében arra utal, hogy akár közvetlen kapcsolat lehet a TNF- α szintje és a viszketés között is, ugyanakkor ezt nem sikerült statisztikailag alátámasztanunk, amikor a TNF- α szintjét a viszketési score-ral hasonlítottuk össze. Mivel a dermatomyositis betegek szérumában, és izomrostjaiban is magasabb TNF- α szintek észlelhetőek, több klinikai vizsgálat is volt TNF gátlókkal a DM-es betegek esetében. Az eddigi eredmények

ellentmondásosak. Néhány esetben a bőrtünetek romlását írták le, vagy bizonyos esetekben a TNF gátló kezelés mellett új DM-es tünetcsoport kialakulását is észlelték míg egy nagyobb kohorszban, ahol 60 juvenilis, terápiarefrakter DM-es beteget vizsgáltak, a 3 hónapos adalimumab vagy infliximab terápia mellett a bőrtünetek (beleértve a subcutan calcinosist is) javulását tapasztalták.

Ezek az irodalmi adatok, valamint a mi eredményeink együtt azt sugallják, hogy további ismeretlen tényezők is szerepet játszanak a betegség kialakításában, és valószínűleg a dermatomyositisen belül eltérő alcsoportok léteznek eltérő pathomechanizmussal, ami miatt a TNF gátlókkal történő kezelés hatékonysága is különböző DM-ben. A bőrmintákban a TNF- α protein expressziója és a normalizált TNF- α mRNS szintek között ellentmondás van, ami a TNF- α poszttranszkripció szabályozását, vagy az ubiquitin rendszeren keresztüli fehérje lebontást vagy más, ismeretlen mechanizmust feltételez.

Az IL-6 egy proinflammatorikus citokin, melynek az expressziója a dermatomyositises betegek szérumában szignifikánsan magasabb, mint az egészséges kontrollok esetében. Kutatásunk során nem volt magasabb az IL-6 mRNS szint a lézionális mintákban, ugyanakkor a normalizált IL-6 mRNS szintje összefüggést mutatott az 5-D viszketési skálával és a CDASI aktivitási pontszámmal, ami az IL-6 kitüntetett szerepére utal a gyulladás és a dermatomyositishez kapcsolt viszketés kialakulásában. Ezt támasztja alá az is, hogy egy másik vizsgálatban a szérum IL-6 szint szignifikánsan korrelált a dermatomyositises betegségaktivitással, tovább erősítve az IL-6 pathogenezisben betöltött szerepét. Ehhez kapcsolódóan magasabb IL-6 szintek észlelhetőek súlyos urémiás viszketésben is, összehasonlítva viszketést nem tapasztaló urémiás betegekkel. Érdekes módon egy nemrég publikált 2-es fázisú vizsgálat során terápia refrakter dermato- és polymyositises betegekben alkalmazott IL-6 gátló tocilizumab biztonságosnak és jól tolerálhatónak bizonyult, de egyik elsődleges, illetve másodlagos hatásosságot igazoló végpont sem teljesült. Hozzá kell tenni,

hogy csak 8 dermatomyositises beteg kapott tocilizumabot, és a viszketésre gyakorolt hatását nem vizsgálták.

Irodalmi adatok támasztják alá a bőrbetegségek pathogenezisében a PPAR- γ receptorok szerepét. Úgy tűnik, hogy a gyulladásos interleukinek (IL-1b, IL-2, and IL-6) és a TNF- α szintjének alulszabályozásában van meghatározó funkciójuk. A viszketést illetően több bőrbetegség esetében is klinikai kutatás támasztotta alá, hogy a PPAR- γ agonisták jótékony hatással bírnak. Bizonyos PPAR- γ agonistákról, melyeket antidiabetikus gyógyszerként alkalmaznak, bebizonyosodott, hogy nem csak állatmodelleken, hanem psoriasisban szenvedő betegekben is csökkenti a viszketést. Az eredményeink alapján a viszketés és a lézionális PPAR- γ mRNS szint között nem volt inverz szignifikáns összefüggés, de a statisztikai adatok megközelítették a szignifikancia szintjét ($p=0,053$). Ezért úgy gondoljuk, hogy a PPAR- γ negatív szabályozó szereppel bírhat a dermatomyositis asszociált viszketésben, de nagyobb esetszámmal elvégzett további kutatások szükségesek, hogy a PPAR- γ viszketés pathogenezisében betöltött szerepét pontosan megállapítsuk.

Az IL-31 egy kulcsmolekula, mely szerepet játszhat a dermatomyositis asszociált viszketésben. Egy korábbi kutatásban emelkedett IL-31 szinteket találtak dermatomyositises bőrmintákban, és ez korrelációt mutatott a viszketéssel. A jelenlegi tudásunk szerint nincs irodalmi adat a TRP család dermatomyositis asszociált viszketésben betöltött szerepéről. A kutatásunk alapján úgy tűnik nincs közvetlen kapcsolat a viszketés vagy a bőrtünetek aktivitása és a különböző TRP ion csatornák mennyisége között az érintett bőrterületeken, mivel az mRNS szintek sem a betegségaktivitási markerekkel, sem pedig az 5-D viszketési skálával nem függtek össze. Ezzel ellentétben kutatásunkban azt találtuk, hogy a normalizált TRPV4 mRNS expressziója összefüggött a CDASI károsodási pontszámmal, ami arra enged következtetni, hogy ez a csatorna szerepet játszik a bőrgyulladást követő regenerációs folyamatokban. Ezt a hipotézist támasztja alá az a tényező, hogy a TRPV4 aktivációja felgyorsítja a barrier felépülését és az intercellularis junkciók képződését a keratinocyták között, mivel ezek a

csatornák co-lokalizációt mutatnak olyan adherens junkciós proteinekkel, mint az E-cadherin és b-catenin.

Vizsgálatunk korlátjaként meg kell említenünk, hogy ez egy egycentrumos, magyar myositises kutatás volt, emiatt a résztvevő betegek száma kevés volt, és szelektív torzítást okozhatott az elvégzett mRNS vizsgálatok kisebb száma. A fehérjeexpressziók meghatározása szemi-kvantitatív módon történt, emellett a kutatásban részt vevő betegek immunszuppresszív kezelésben részesültek, ami hatással lehetett az eredményekre.

Összefoglalva dermatomyositisben a viszketés egy, a betegség kutan aktivitásával asszociált gyakori, és alulértékelt tünet. Úgy tűnik, hogy a TRP család tagjainak nincs szerepe a dermatomyositis asszociált viszketésben, de a TRPV4 hatással lehet a bőrregenerálódás folyamatára. A kutatásunk alapján a TNF- α és az IL-6 szerepet játszanak a viszketésben, de további vizsgálatok szükségesek a PPAR- γ funkciójának tisztázására. Úgy gondoljuk, hogy az eredményeink segítségül szolgálhatnak a dermatomyositis asszociált viszketés terápiájának fejlődéséhez, melyhez természetesen szintén további kutatásokra van szükség.

Összegzés

Munkánk során idiopathiás inflammatorikus myopathiás betegek között mértük fel a csonttörési rizikót és a csigolyatörések előfordulási gyakoriságát, valamint a csonttörések hatását a funkcionális képességekre és az életminőségre. Emellett a dermatomyositises betegek körében célzott génexpressziós vizsgálatokat végeztünk a bőrviszketés hátterének kutatására, korrelációkat keresve a vizsgált molekula, a betegség aktivitása és a viszketés súlyossága között.

Első vizsgálatunkban 52 myositises és 43 rheumatoid arthritises beteg vizsgálatával igazoltuk, hogy myositisben gyakoribb az oszteoporózis előfordulása, de a BMD eredmények felhasználásával és a glükokortikoid dózis korrekcióval a FRAX által mért csonttörési rizikó hasonló a vizsgálatba bevont RA-s betegek csonttörési kockázatával. A vertebrális csonttörések előfordulása mindkét csoportban igen gyakori volt (75-68 %), ami szignifikánsan rontotta a betegek életminőségét és fizikai képességeit. A törések myositisben az életkorral, míg RA-ban a BMD eredményekkel mutatták a legszorosabb összefüggést.

Második vizsgálatunkban 17 aktív dermatomyositises beteg vizsgálatával igazoltuk, hogy a viszketés súlyossága pozitívan korrelál a DM bőrtüneteinek súlyosságával. A TNF- α génexpresszió szignifikánsan magasabb volt a lézionális mintákban a nem lézionálisokhoz viszonyítva, és a normalizált mRNS expresszió pozitívan korrelált a viszketés súlyosságával. A lézionális IL-6 mRNS szintje a viszketéssel és a CDASI aktivitással korrelált. A TRP-csatornák kifejeződése nem különbözött a lézionális és nem lézionális mintákban, ugyanakkor a normalizált TRPV4 mRNS expressziója pozitívan korrelált a CDASI károsodási pontszámmal.

Eredményeink arra utalnak, hogy a myositisekben nagyon magas az oszteoporózis és a csonttörések rizikója, ami jelentős betegségterhet eredményez, ezért már a diagnózis felállításától kezdődően minden lehetséges eszközzel küzdeni kell a betegek csontegészségéért. A dermatomyositis asszociált viszketésben a betegség cutan aktivitása mellett a TNF- α és az

IL-6 játszhat meghatározó szerepet, melyek a jövőben újabb terápiás célpontként szolgálhatnak, hogy hatékonyabban kontrollálhassuk a betegséget.

Új tudományos megállapítások

1. Az oszteoporózis előfordulása és a csonttörési kockázat IIM-es betegeknél igen magas, a rheumatoid arthritishez hasonló mértékű.
2. Az IIM-es betegek esetében a törési rizikó számítása a DEXA vizsgálat eredményével és a szteroid dózissal való korrigálással együtt javasolt a valós rizikó alulbecslésének elkerülése érdekében.
3. A vertebrális csonttörések előfordulása mind myositisben, mind rheumatoid arthritisben igen gyakoriak és jelentősen befolyásolják a betegek életminőségét.
4. A törések myositisben leginkább az idősebb életkorral, míg rheumatoid arthritisben az alacsonyabb lumbális BMD értékkel hozhatók összefüggésbe.
5. A dermatomyositises betegek viszketése összefüggést mutat a betegség bőrtünetinek aktivitásával.
6. A TRP receptor család mRNS expressziói nem különböztek a dermatomyositises betegek lézionális és nem lézionális bőrmintáiban, így valószínűleg nincs meghatározó szerepük a betegség pathomechanizmusában.
7. A TNF- α és az IL-6 expressziós mintázatai és viszketési skálával való összefüggései alapján valószínűleg fontos szerepet játszanak a dermatomyositis asszociált viszketésben.

Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek, **Dr. Griger Zoltán** Tanár Úrnak, aki szakmai, tudományos és magánjellegetű témákban egyetemi éveim óta segítséget nyújtott. Köszönöm a támogatást a PhD munkám megtervezésében, az eredmények értékelésében és a disszertáció elkészítésében.

Köszönetemet fejezem ki **Dr. Tarr Tünde** Tanárnőnek és †**Dr. Zeher Margit** Professzor Asszonynak, a Klinikai Immunológiai Tanszék jelenlegi és korábbi vezetőinek, hogy munkámat lehetővé tették.

Köszönöm a támogatást és a segítséget a tanszék myositis munkacsoportjának, †**Dr. Dankó Katalin** Professzor Asszonynak, **Dr. Bodoki Leventének**, **Dr. Nagy-Vincze Melindának**, **Dr. Szabó Katalinnak**, **Dr. Béldi Tibor Gábornak**, **Dr. Szinay Dorottyának**.

Köszönetemet fejezem ki az Élettani Intézet munkatársainak, különösen **Dr. Herczeg-Lisztes Erikának** és **Dr. Tóth István Balázsnak**, valamint a Pathológiai Osztály munkatársainak, különösen **Dr. Pór Ágnesnek** a PCR és immunhisztokémiai vizsgálatokban, valamint ezen eredmények kiértékelésében nyújtott segítségükért.

Köszönettel tartozom cikkeim társszerzőinek a segítségükért: **Dr. Gaál Jánosnak**, **Dr. Szalmás Orsolyának**, **Dr. Biró Tamásnak**.

Hálásan köszönöm **Tanka Chocholova Anitának** és **Nagy Mónikának** a betegek vizsgálatainak szervezésében nyújtott segítségüket.

Köszönöm **Hodosi Katalinnak** és **Varga Józsefnek** a statisztikai elemzésekben nyújtott segítségüket.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm **Férjemnek** és **Családomnak** a sok-sok türelmet és támogatást, amit munkám során tanúsítottak.



Nyilvántartási szám: DEENK/432/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Vincze Anett

Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Vincze, A.**, Lisztes, E., Szabó, K., Béldi, T., Nagy-Vincze, M., Pór, Á., Varga, J., Dankó, K., Bíró, T., Tóth, I. B., Griger, Z.: Pruritogenic molecules in the skin of patients with dermatomyositis. *Front. Med. 10*, 1168359, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2023.1168359>
IF: 3.9 (2022)
2. **Vincze, A.**, Gaál, J., Griger, Z.: Bone Health in Idiopathic Inflammatory Myopathies: diagnosis and Management. *Curr. Rheumatol. Rep. 23 (7)*, 1-11, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11926-021-01016-8>
IF: 4.686
3. **Vincze, A.**, Bodoki, L., Szabó, K., Nagy-Vincze, M., Szalmás, O., Varga, J., Dankó, K., Gaál, J., Griger, Z.: The risk of fracture and prevalence of osteoporosis is elevated in patients with idiopathic inflammatory myopathies: cross-sectional study from a single Hungarian center. *BMC Musculoskelet. Disord. 21 (1)*, 1-8, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12891-020-03448-2>
IF: 2.362

További közlemények

4. Nagy-Vincze, M., Béldi, T., Szabó, K., **Vincze, A.**, Miltényi-Szabó, B., Varga, Z., Varga, J., Griger, Z.: Incidence, features and outcome of disease relapse after Covid-19 vaccination in patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Muscle Nerve. 67 (5)*, 371-377, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/mus.27811>
IF: 3.4 (2022)





5. Béldi, T., **Vincze, A.**, Miltényi-Szabó, B., Varga, Z., Szabó, K., Griger, Z., Nagy-Vincze, M.: The effect of COVID-19 pandemic on idiopathic inflammatory myositis patients: a single centre experience.
Clin. Exp. Rheumatol. 41 (2), 254-260, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.55563/clinexprheumatol/eisexh>
IF: 3.7 (2022)
6. Szabó, K., Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Béldi, T., **Vincze, A.**, Zilahi, E., Varga, J., Szűcs, G., Dankó, K., Griger, Z.: Clinical, Serological, and Genetic Characteristics of a Hungarian Myositis-Scleroderma Overlap Cohort.
Biomed Res. Int. 2022, 1-9, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2022/6251232>
7. Szabó, K., **Vincze, A.**, Nagy-Vincze, M., Dankó, K., Griger, Z.: Multiplex tüdőtályoggal társuló súlyos polymyositis esete.
Lege Artis Med. 29 (6-7), 313-316, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.33616/lam.29.032>
8. **Vincze, A.**, Griger, Z.: Anti-CD20 és egyéb monoklonális készítmények okozta iatrogén hypogammaglobulinaemia.
Focus. Med. 20 (3), 23-27, 2018.
9. Szabó, K., Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., **Vincze, A.**, Zilahi, E., Szodoray, P., Dankó, K., Griger, Z.: Effect of Genetic and Laboratory Findings on Clinical Course of Antisynthetase Syndrome in a Hungarian Cohort.
Biomed Res. Int. 2018, 1-9, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2018/6416378>
IF: 2.197

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 20,245

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
10,948**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2023.09.18.

