

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ- СОФИЯ**

**КАТЕДРА ПО НЕВРОЛОГИЯ**

**Завеждащ Катедра- Проф. Д-р Юлия Петрова дмн**

---

**Д-р Василена Георгиева Петрова**

**МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНО СПЕКТРОСКОПСКИ И  
НЕВРОПСИХОЛОГИЧЕСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА  
ПРОЦЕСА НА НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С  
ПРИСТЪПНО-РЕМИТЕНТНА МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ  
НА ОНС „ДОКТОР“**

**Научна специалност: Неврология**

**Научен ръководител:  
Акад. проф. д-р Лъчезар Трайков, дмн**

**София, 2024г.**

Дисертационният труд е написан в обем от 247 страници и съдържа 71 фигури и 33 таблици. В библиографията са цитирани 252 източника (21 на кирилица и 231 на латиница).

Изследванията свързани с дисертацията са провеждани на територията на ВМА София, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“, Клиника „Компютърна и магнитно-резонансна томография“, София, Лаборатория Клинична Имунология, УМБАЛ „Александровска“, София

Докторантът работи в Клиника „Нервни болести“ на УМБАЛ-София при ВМА.

Консултант статистически анализи: Васил Бозев, д.

Дисертационният труд е обсъден, приет и насочен за защита пред научно жури от Катедрен съвет на Катедра по нервни болести, УМБАЛ „Александровска“, София.

Защитата на дисертацията ще се състои на 16.05.2024г. от 13.30 часа в аудиторията на УМБАЛ „Александровска“ на открито заседание на научното жури.

Авторефератът, рецензиите и становищата по дисертационният труд са на разположение на интернет страницата на МУ – София.

Номерата на таблиците и фигурите не съответстват на тези в дисертационния труд.

## СЪДЪРЖАНИЕ

---

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРЪЩЕНИЯ.....	5
ВЪВЕДЕНИЕ.....	6
ИЗВОДИ.....	8
ХИПОТЕЗА.....	9
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД.....	9
1.1. ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД.....	9
1.2. ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД.....	9
КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ.....	10
1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ.....	10
1.1. ДЕМОГРАФСКА ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗВАДКАТА.....	12
2.МЕТОДИ.....	15
2.1. КЛИНИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ.....	15
2.2. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ.....	15
2.2.1. PACED AUDITORY SERIAL ADDITION TEST.....	15
2.2.2. SYMBOL DIGIT MODALITIES TEST.....	16
2.2.3. ИЗСЛЕДВАНЕ НА УМОРА - FATIGUE SEVERITY SCALE.....	16
2.2.4. ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕМОЦИОНАЛНАТА СФЕРА- СКАЛИ ЗА ДЕПРЕСИЯ.....	17
2.2.4.1. BECK'S DEPRESSION INVENTORY.....	17
2.2.4.2. ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР ГОЛДБЪРГ.....	18
2.3. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КРЪВНА ПРОБА.....	18
2.4. ОБРАЗНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ.....	18
2.4.1. 3-Д Т1 МРТ ХИПОКАМП ВОЛУМЕТРИЯ.....	18
2.4.2. ПРОТОННА МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНА СПЕКТРОСКОПИЯ.....	19
2.5. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ.....	20
СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ.....	23
1. ХИПОКАМП ВОЛУМЕТРИЯ.....	23
1.1. ОБЕМ НА ХИПОКАМП И ПОЛ.....	23
1.2. ОБЕМ НА ХИПОКАМП И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ.....	25
ОБСЪЖДАНЕ.....	27
2. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	28
2.1. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ PASAT- 3 SEC.....	28
2.2. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ SDMT.....	29
2.3. ОЦЕНКА НА УМОРАТА ЧРЕЗ САМООЦЕНЪЧНА СКАЛА FSS.....	29
2.4. ОЦЕНКА НА ДЕПРЕСИЯ ЧРЕЗ СКАЛА ЗА САМООЦЕНКА GDI И VDI.....	30
ОБСЪЖДАНЕ.....	31
2.5. ВРЪЗКА МЕЖДУ ПОЛ И ДЕПРЕСИЯ.....	33
ОБСЪЖДАНЕ.....	36
3. АНАЛИЗ НА ВЗАИМООТНОШЕНИЯТА МЕЖДУ КОГНИТИВНОТО ФУНКЦИОНИРАНЕ, УМОРАТА И ДЕПРЕСИЯТА В ДВЕТЕ ИЗСЛЕДВАНИ ГРУПИ.....	37
3.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	38
3.2. БОЛНИ С МС.....	39
ОБСЪЖДАНЕ.....	42
4. ИЗСЛЕДВАНЕ НА НЯКОИ МОЗЪЧНИ МЕТАБОЛИТИ В ЗОНИ НА ИНТЕРЕС- NAWM ЧРЕЗ ПрМРС.....	43

ОБСЪЖДАНЕ.....	46
5. КОРЕЛАЦИИ НА СРЕДНИ СТОЙНОСТИ НА ИЗМЕРЕНИ МЕТАБОЛИТИ И СРЕДЕН ОБЕМ НА ХИПОКАМП.....	47
5.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	47
5.2. МС БОЛНИ.....	49
ОБСЪЖДАНЕ.....	50
6. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА ПРОМЕНЛИВА „СЪОТНОШЕНИЕ МЕЖДУ МЕТАБОЛИТИ“, ИЗМЕРЕНИ В NAWM ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	51
ОБСЪЖДАНЕ.....	53
7. ПОЛ И МЕТАБОЛИТИ ПРИ ЗДРАВИ КОНТРОЛИ И МС БОЛНИ.....	53
7.1. МЪЖЕ.....	53
7.2. ЖЕНИ.....	54
ОБСЪЖДАНЕ.....	56
8. КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ ОБЕМ НА ХИПОКАМП И ПАРАМЕТРИ НА НЕВРОПСИХОЛОГИЧНОТО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	57
8.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	57
8.2. МС БОЛНИ.....	58
ОБСЪЖДАНЕ.....	58
9. ПОЛ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	58
9.1. МЪЖЕ.....	59
9.1.1. МЪЖЕ БОЛНИ С МС.....	60
9.1.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ МЪЖЕ.....	62
9.2. ЖЕНИ.....	63
9.2.1 ЖЕНИ БОЛНИ С МС.....	64
9.2.2 ЗДРАВИ КОНТРОЛИ ЖЕНИ.....	67
ОБСЪЖДАНЕ.....	68
10. ДАВНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	69
11. УМОРА, ДЕПРЕСИЯ И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ.....	70
12. EDSS и НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	72
13. ВЪЗРАСТ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ В ДВЕТЕ ИЗСЛЕДВАНИ ГРУПИ.....	76
13.1. МС БОЛНИ.....	76
13.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	78
14. НИВО НА ОБРАЗОВАНИЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	81
15. КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ ОБЕМ НА ХИПОКАМП И EDSS.....	85
ОБСЪЖДАНЕ НА СОБСТВЕНИТЕ ПРОУЧВАНИЯ.....	86
5. ИЗВОДИ.....	95
6. ПРИНОСИ.....	97
7. ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	98
8. SUMMARY.....	100

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

---

ВПМС- Вторично-прогресивна форма на МС  
ИМТ- Имуномодулираща терапия  
кМРТ- Конвенционална магнитно-резонансна томография  
МРТ- Магнитно-резонансна томография  
МС- Множествена склероза  
ПКК- Пълна кръвна картина  
ПрМРС- Протонна магнитно-резонансна спектроскопия  
ПРМС- Пристъпно- ремитентна форма на множествена склероза  
СУЕ- Скорост на утаяване на еритроцити  
ЦНС- Централна нервна система  
Ach- Acetylcholine  
BDI- Beck's Depression Inventory  
Cho- Choline  
Cr- Creatine  
CRP- Ц- реактивен протеин  
EDSS- Expanded Disability Status Scale  
FSS- Fatigue Severity Scale  
GDI- Goldberg Depression Inventory  
LA- Lactate  
Myo- Myoinositol  
NAA- N-acetylaspartate  
NAWM- Normal Appearing White Matter  
PASAT- Paced Auditory Serial Addition Test  
SDMT- Symbol Digit Modalities Test

## ВЪВЕДЕНИЕ

---

Множествената склероза (МС) е аутоимунно хронично възпалително заболяване, с генетично предразположение, което в комбинация с фактори от околната среда активира каскада от имунни отговори и нарушава кръвно-мозъчната бариера (13,15).

В резултат настъпва възпалителна демиелинизация на бялото мозъчно вещество в централната нервна система с участието на Т- и В- лимфоцити и на макрофаги. Нарушава се провеждането на нервни импулси в ЦНС, което се извява клинично с неврологичен дефицит (15).

Заболяването се характеризира с географски и расови различия в световен мащаб. По – голяма честота се наблюдава в северните географски зони, както и сред индивиди от бялата раса. По данни от 1997 г. болестността в нашата страна е 44,5/100 000 население, а заболяемостта е 1,03/100 000 население (4,13). Според тези данни в България следва да боледуват около 3600 души. Всяка година се разболяват около 80 нови пациента (12, 13). Тези показатели се различават от данните за съседни страни, както и в сравнение с високо рискови средноевропейски зони, където болестността надвишава 100/100 000. Възможна причина за нарастване на болестността е по-добрата и ранна диагностика като следствие от развитие на диагностичните, в частност образни методики (13).

Заболяването засяга предимно млади хора, най-често във възрастов диапазон 30-34 годишна възраст. МС може да започне и в детско-юношеска възраст. Между 3-10% от случаите са в тази възрастова група. Отчита се двойно по-голямо предразположение за развитие на болестта при индивиди от женски пол. МС протича хронично със средна продължителност 10-15 години (средно 13 г.) в зависимост от клиничната форма (15). На всеки 8 – 10 лезии на демиелинизация, визуализирани с магнитно резонансна томография, обикновено се манифестира само една клинична проява. Пациентите с пристъпно – ремитентна множествена склероза имат средно 5-10 нови лезии годишно и 1 или 2 епизода на екзацербация – пристъп на заболяването.

При пациенти с МС често се манифестират невропсихологични нарушения години преди изява на огнищен неврологичен дефицит. Такива нарушения се установяват приблизително при от 1/3 до 2/3 от пациентите с МС. Доказват се и се проследяват с помощта на батерии тестове за невропсихологична оценка. Новите знания фокусираха вниманието на изследователите върху промените в когницията и поведението при МС болните, свързани със съответните морфологични промени. Пациентите с МС имат по-ниско качество на живот (HRQoL) поради прогресивния ход на заболяването и високата степен на инвалидизация, развиваща се вследствие

на натрупване във времето на неврологичен дефицит (4). Когнитивните нарушения при МС са най-честата причина за отрицателен ефект на заболяването върху качеството на живот. Установена е връзка между степента на атрофия и когнитивните промени при пациенти с малка степен на инвалидизация (EDSS < или =3.0).

Съвременните невроизобразяващи методики доказаха, че невродегенеративни промени се откриват рано в хода на МС (13). Тежестта на натрупване с лезии на демиелинизация не корелира със степента на атрофия, както и с тежестта на инвалидизация на пациентите. На преден план излязоха ранни промени не само в бялото, но и в сивото мозъчно вещество.

МРТ методики визуализират лезии на демиелинизация, като отчитат техния брой и обем, промени в обема на мозъчни структури, патологични промени в нормално изобразяван на конвенционална МРТ мозъчен паренхим (NAWM), както и в мозъчната кора. Протонната Магнитно резонансна Спектроскопия е неинвазивен диагностичен тест. Той установява и представя в количествен и качествен аспект биохимични промени в мозъчната тъкан. Изследването оценява тъканни метаболитни промени и е специфично за увреждане на определени клетъчни типове (13).

## ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ ОБЗОР

---

1. МС е сред най-честите причини за инвалидизация на млади хора. Заболяването е следствие от автоимуен възпалителен процес, медиран от погрешно насочена атака на Т-клетки срещу структури на ЦНС, в частност миелиновите обвивки на аксоните. МС е резултат от взаимодействието между процеси на прогресивна цитодегенерация и вариативна имунна активация.

2. Невродегенеративни промени се доказват рано в хода на развитие на МС. Те са следствие от процес на демиелинизация и дисконекция. Магнитно резонансната морфометрия се прилага за регистриране, оценка и проследяване на невродегенеративни промени при МС пациенти. Невропсихологичните тестове са надежден инструмент за оценка на невродегенеративни промени.

3. Хипокамп е мозъчна структура с персистираща невrogenеза. Явява се релейна станция с проекции към множество мозъчни области. Хипокамп е мозъчна структура, отговорна за процесите на когнициия. Изпълнява роля в емоционалната регулация. 3-D MRT хипокамп волуметрия се прилага за оценка на мозъчната атрофия

4. При пациентите с МС се установяват невропсихологични промени- нарушена краткосрочна памет, скорост на обработка на информация, разпределяемост и поддържане на внимание, хронична умора, депресия. Хипокамп волуметрията установява промени в обема на хипокам, корелиращи с невропсихологични промени- когнитивни нарушения и депресия.

5. Протонната магнитнорезонансна спектроскопия допълва информацията за физиологични промени при МС чрез регистриране на мозъчни метаболити и промени в техните концентрации. Доказани са характерни промени в метаболитния спектър в зони на демиелинизация и в нормално изглеждащо бяло мозъчно вещество.

Всички тези изводи ни дават основание за провеждане на настоящото проучване.

## ХИПОТЕЗА

---

Нашата хипотеза е, че при пациенти с ПРМС със срок на заболяване до 10 години и степен на инвалидност EDSS до 3.5 е налице връзка между някои морфометрични промени – атрофия на хипокампа, метаболитните промени в области с нормално изглеждащо бяло мозъчно вещество (зони без плаки на демиелинизация) и невропсихологичното функциониране като прояви на функционална и анатомична дисконекция.

## ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

---

### 1. ЦЕЛ

Да се оценят невродегенеративните промени при пациенти с пристъпно-ремитентна форма на множествена склероза с давност до 10 години от началото на болестта посредством 3-D T1 MRT хипокамповолуметрия и се потърсят значими корелации с промените в обема на хипокампа, когнитивните функции и някои мозъчни метаболити, оценявани с MRT спектроскопия.

2. Осъществяването на поставената цел налага изпълнението на следните ЗАДАЧИ:

1. Да се изследват промените в ляв хипокамп чрез 3-D T1 MRT хипокамपालна волуметрия при здрави контроли и болни с МС.
2. Да се измерят метаболитните маркери холин, N-ацетиласпартат и креатин в зони на NAWM (мозъчни области в бялото мозъчно вещество без лезии на демиелинизация) чрез Протонна Магнитнорезонансна Спектроскопия (ПрМРС).
3. Да се изследват промените в когнитивния статус при болни с ПРМС и давност на болестта до 10 години с помощта на батерия от психологични тестове, емоционалният статус и синдрома на умора при тези болни.
4. Да се потърсят полово-детерминирани разлики за изследваните параметри, както и корелации с давността на заболяването, и тежестта на инвалидност, оценена с EDSS скала при болни с МС.
5. Да се потърси корелация между обема на хипокампа, невропсихологичните тестове и метаболитните маркери, оценявани с ПрМРС, и да се сравнят получените резултати с тези от контролна група здрави индивиди в същата възрастова група.

## КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ

---

### 1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

Проучването включва 50 пациента с уточнена диагноза множествена склероза, съобразно ревизираните критерии на McDonald. Подбрани са пациенти с под 10 години продължителност на заболяването поради установено преминаване на ПРМС във ВПМС при около 70% от ПРМС за 6-10 год. след началото на болестта. Изследваната група болни е сравнена с група здрави индивиди – 30 на брой, подбрани в съответствие с кореспондиращи демографски критерии. Критериите за включване в проучването са следните:

Група на пациентите с МС:

Включващи критерии:

- пациенти с клинично сигурна множествена склероза;
- възраст между 20-40 години;
- пристъпно-ремитентна форма на болестта;
- продължителност на заболяването от уточняване на диагнозата до 10 години;
- включени на лечение с имуномодулираща терапия- интерферон бета- 1a.
- EDSS до 3.5.
- без данни за пристъп на заболяването през последните шест месеца;
- без приложение на кортикостероид поне два месеца преди изследването;

Исключващи критерии:

- пристъп на заболяването в последните шест месеца преди изследването;
- приложение на кортикостероид през последните два месеца преди изследването;
- наличие на друго аутоимунно заболяване;
- анамнеза за уточнена диагноза депресия, тежък депресивен епизод и/или провеждано лечение с антидепресанти за установена депресивна симптоматика;
- наличие на активен възпалителен процес;
- провеждано лечение с друг вид имуномодулираща терапия;
- наличие на двигателен дефицит, зрителни или слухови нарушения;

- употреба на алкохол или други психотропни медикаменти и вещества.

Контролна група:

Включващи критерии:

- възраст между 20-40 години;
- клинично здрави индивиди.

Исключващи критерии:

- анамнеза за друго неврологично заболяване в миналото – епилепсия, инсулт, енцефалит, менингит, нарушения в развитието на ЦНС;
- наличие на друго аутоимунно заболяване;
- анамнеза за уточнена диагноза депресия, тежък депресивен епизод и/или провеждано лечение с антидепресанти за депресивна симптоматика;
- наличие на активен възпалителен процес;
- употреба на алкохол или други психотропни медикаменти и вещества.

Статистически анализ на получените данни бе проведен въз основа на резултатите от изследванията при 50 МС пациента и 28 здрави контроли. От статистическа обработка на данните отпаднаха двама от изследваните индивиди в групата на здравите контроли поради неизпълнение на протокола.

Пациентите са селектирани от база данни на болни с множествена склероза при клиника „Нервни болести“, ВМА, София, като и Клиника „Нервни болести“, УМБАЛ „Свети Георги“, Пловдив.

Изследванията са провеждани на територията на ВМА София, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“, Клиника „Компютърна и магнитнорезонансна томография“, София, Лаборатория Клинична Имунология, УМБАЛ „Александровска“, София.

### 1.1. ДЕМОГРАФСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ИЗВАДКАТА

В представеното проучване са включени 50 пациента (n=50) с клинично сигурна диагноза на множествена склероза пристъпно-ремитентна форма. Паралелно с пациентите са изследвани 30 здрави лица използвани като контроли, като в обработка на данните са включени резултати за 28 (n=28) от тях, понеже двама не са изпълнили протокола. При всички включени в проучването пациенти и контроли са изследвани ПКК, СУЕ и CRP, с цел изключване на индивиди с наличие на активен възпалителен процес. Посочените клинични параметри са в референтни граници при всички изследвани. Пациентите с МС са в ремисия с минимален период без регистриран нов пристъп на болестта от 2 месеца. Нито един от тях не е преминавал курс на лечение с кортикостероид (Methylprednisolon i.v. инфузия) в интервала 2 месеца преди момента на изследванията. Всички тестове – попълване на анкетна карта, неврологичен статус, кръвни проби, невропсихологично тестване, МРТ и ПрМРС се проведеха в рамките на един ден за съответното лице. Разпределението на пациентите с МС по пол е с лек превес на жените, както е по литературни данни. Изследвани са 29 жени (58% от изследваните ) и 21 мъже (42%). Съотношението жени/мъже в МС групата е 1,4 към 1. Разпределението на здравите контроли по пол е 1:1. Жените са 14 и представляват 50% от изследваните лица. Мъжете също са 14 (50% от изследваните).

Тежестта на когнитивни нарушения се влияе от изходния когнитивен резерв. Той се определя от индивидуалната интелигентност и изходното ниво на образование в начало на заболяването (39). В групата на здравите контроли 25% от изследваните лица са със средно и 75% - с висше образование. В групата на пациентите с МС 40% са със средно образование и 60% са с висше образование. Преобладаващи и в двете групи са хора с висше образование.

Друга важна демографска характеристика е трудовата заетост. Тя е важен фактор при оценка на умората в групата на МС пациентите. Субективното оценяване на умората при това заболяване варира в зависимост от часовия диапазон. Оценката на умората е осъществена при всички изследвани лица в първата половина на деня, в часовия интервал 09.00 – 14.00 часа. Всички изследвани лица в групата на здравите контроли работят на пълен работен ден с нормирано работно време. В групата на МС пациентите – всички изследвани лица работят на пълен работен ден при различни договорни отношения.

Заболяването МС засяга лица предимно в млада възраст, най – често във възрастов диапазон 30 – 34 години. Проучването включва пациенти на възраст между 20 и 40 години, със средна възраст при здравите пациенти

33±5 години, а при МС пациентите 33±7 години, и средна продължителност на заболяване 4,85±2,68 години.

Таблица 1. Демографски променливи на изследваните лица

Демографска характеристика	Статус		p	Статистически значима разлика
	Здрави контроли	Болни пациенти		
Пол (М/Ж) (бр. и %)	14/14 (50%/50%)	21/29 (42%/58%)	0.502	Не
Образование (Средно/Висше) (бр. и %)	7/21 (25%/75%)	20/30 (40%/60%)	0.182	Не
Работна заетост (1/2) (бр. и %)	28/0 (100%/0%)	44/6 (88%/12%)	0.728	Не
Възраст (г.)	33±5	33±7	1.000	Не

1- нормирано работно време

2- гъвкаво работно време

След тестване за статистически значима разлика по демографските фактори между двете групи пациенти (таблица 4) не са открити съществени различия. Това дава основание да се направи извода, че двете групи са сходни по отношение на пол, образование, работна заетост и възраст, и те не оказват влияние в тестваните по-долу анализи.

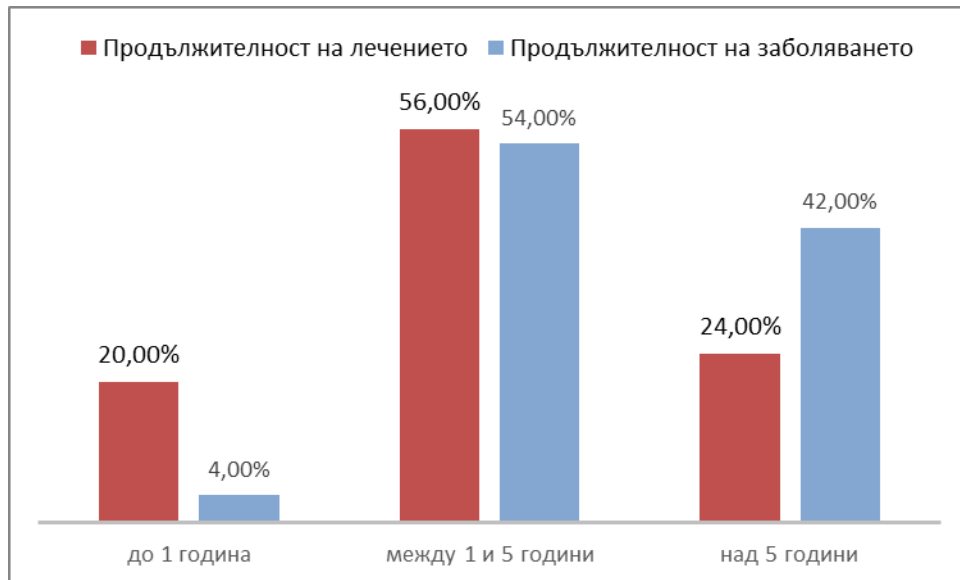
Според данните от неврологичния статус на болните с МС и разпределението по ангажиране на функционална система, най – много са болните с МС със симптоми от пирамидната система (74%). Следват тези със симптоми от церебеларната (32%) и сетивната (30%) системи. Не се установи ангажиране на зрителна или психична система (0%).

Таблица 2. Засегнати функционални системи при МС болните (Kurtzke-EDSS)

ФУНКЦИОНАЛНИ СИСТЕМИ	БРОЙ МС БОЛНИ
ПИРАМИДНИ	37
ЦЕРЕБЕЛАРНИ	16
ФУНКЦИИ НА МОЗЪЧЕН СТОЛ	10
СЕТИВНИ	15
ТАЗОВОРЕЗЕРВОАРНИ	12
ЗРИТЕЛНИ	0
ПСИХИЧНИ	0

Продължителността на заболяването е изчислена според момента на уточняване на диагнозата и времето на изследванията. Средна продължителност на заболяването, изчислена спрямо момента на уточняване на диагнозата 4,85±2,68 години. Пациентите са разделени в три групи – с продължителност до 1 година, между 1 и 5 години и над 5 години. Около

половината от болните попадат в групата с продължителност между 1 и 5 години (54%). Двама пациенти (4%) са с продължителност под 1 година. Останалите 42% са с продължителност на заболяване над 5 години. Максималната продължителност на заболяването е 10 години.

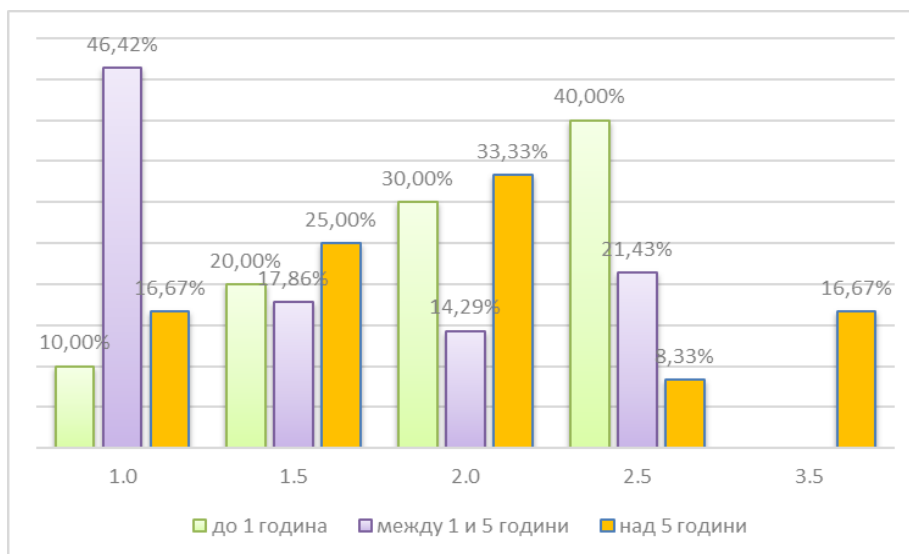


Фигура 1. Структура по продължителност на заболяване и лечение на МС пациенти.

Според срока на лечение пациентите са разделени в три групи – срок на лечение до 1 година, между 1 и 5 години и над 5 години. Преобладаващият брой пациенти е в групата с лечение между 1 и 5 години (56%).

Съответствие между продължителността на заболяването и продължителността на лечението липсва поради факта, че една част от пациентите не са започнали ИМТ терапия непосредствено след уточняване на диагнозата МС. Всички изследвани пациенти са на лечение с интерферон бета-1а.

В проучването са включени МС пациенти с максимална степен на инвалидност 3.5 оценена по EDSS. Преобладаващата част от пациентите са с EDSS между 1.0 и 2.5. При пациентите с оценка EDSS = 3.5 степента на инвалидизация се определя от наличие на тазоворезервоарни нарушения и паретични прояви от страна на долни крайници. Ангажирането на тези функционални системи не повлиява изпълнението на приложените невропсихологични тестове.



Фигура 2. Структура на МС пациентите според степен на инвалидност (EDSS) при продължителност на лечение до 1 година, между 1 и 5 години и над 5 години.

## 2. МЕТОДИ

### 2.1 КЛИНИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

Всички изследвани лица бяха запознати с протокола и естеството на провежданите изследвания. Разписаха информирано съгласие за своето участие в проучването. При всички пациенти с множествена склероза, както и при контролната група здрави индивиди се изследва соматичен и неврологичен статус. Участниците в проучването попълниха анкетна карта с демографски данни.

### 2.2. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

Батерията невропсихологични тестове включва методики за изследване на памет, внимание, емоционална сфера.

#### 2.2.1. PACED AUDITORY SERIAL ADDITION TEST (PASAT)

Paced Auditory Serial Addition Test е невропсихологичен тест за оценка на капацитет и скорост на обработка на информация, както и на поддържане и разпределяемост на вниманието.

Версията, прилагана като част от Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) се изпълнява като на изследвания индивид се подава гласно число на всеки 3 секунди (63). Пациентът слуша аудио запис на числа, подавани едно

по едно. Задачата за пациента е да сумира числата като прибавя последно подаденото число с това, което е чул непосредствено преди него. Например: записът може да подава числата 1, 7, 5, 4. Пациентът сумира първите две числа (1+ 7) и дава отговор- 8. След това пациентът сумира следващите две числа (7+5) и дава съответен отговор – 12. На следващия етап пациентът сумира трета двойка числа- в случая 5+4, и дава отговор- 9. Задачата продължава по описания начин докато се изпълни за пълния брой от 61 числа, като числата се подават на случаен принцип.

Тестът ангажира за изпълнението си работната памет (working memory), процесите на внимание, бдителност и аритметични способности (116).

### 2.2.2.ТЕСТ СИМВОЛ-ЦИФРОВИ МОДАЛНОСТИ „SYMBOL DIGIT MODALITIES TEST“ (SDMT)

The Symbol Digit Modalities Test – устна и писмена версия, е чувствителен тест за оценка на промени в скоростта на обработка на информация. SDMT характеризира процеси като зрение, реч, заучаване, скорост и прецизност, мануална моторна функция.

SDMT е разработен в писмена и устна версия. В първия вариант SDMT изисква изследваният субект да идентифицира девет символа, кореспондиращи на числата от 1 до 9. Пациентът се упражнява да попълни правилната цифра в съответни на символите девет позиции. На следващ етап се провежда самото тестване с попълване по идентичен начин на възможно най-голям брой верни цифри за период от 90 секунди. Резултатът се изчислява чрез преброяване на правилно попълнените отговори (35, 156).

Тестът не е валидизиран в България. Прилага се при когнитивна оценка на пациенти, включени в изпитване на лекарствени продукти за лечение на МС. В проучването е приложен идентичен вариант на теста. /вж. Приложение 2/

### 2.2.3.СКАЛА ЗА ОЦЕНКА ТЕЖЕСТТА НА УМОРА „FATIGUE SEVERITY SCALE“ (FSS)

Представява скала от девет въпроса за самооценка на тежестта на умората и нейният ефект върху ежедневните дейности на индивида, както и по отношение режима на живот.

Въпросник за самооценка с девет въпроса прилага 7 точкова Likert скала („напълно несъгласен“ до „напълно съгласен“). Отчита влиянието на умората при съответния пациент върху определени дейности като отбелязва субективна оценка на тежестта на ефекта в седем-степенна стъпка. Седем точкова скала маркира тежестта на проява при отделните въпроси като с 1 се

отбелязва – „*напълно не съм съгласен*” до 7 – „*напълно съгласен*”. Минимален резултат от скалата е 9 точки, максимално възможен резултат е 63 точки. Колкото по – висок е резултатът, толкова по – тежка е умората. Друг възможен начин за сумиране и представяне на резултата е средна стойност от всички резултати по отделните въпроси с минимален резултат 1 и максимален – 7.

Предимствата на FSS са следните: скалата е за самооценка и не е необходимо обучение за нейното изпълнение, достъпна е на няколко езика, лесно приложение, бързо изпълнение с минимално усилие (52, 148). FSS е валидна и достоверна скала за приложение при различни типове изследвани групи. Крайният резултат представен с брой точки е лесен за интерпретиране. Ограничение на теста е субективната оценка на умората. Приема се, че прилагането на седем точкова Likert скала за отчитане на отговорите замъглява разграничаването между категориите. Намаляване на възможните отговори до три на брой – „*не съм съгласен*“, „*неутрален*“, „*съгласен*“ – подобрява замерването на състоянието (52). Изследвания са показали, че скалата не е добър метод за оценка на когнитивни нива на умора (cognitive levels of fatigue) (32).

Всички пациенти проведоха тестване в еднакъв период от деня – часовете преди обяд, при идентичен температурен диапазон.

## 2.2.4. ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕМОЦИОНАЛНАТА СФЕРА – СКАЛИ ЗА ДЕПРЕСИЯ

### 2.2.4.1. ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР БЕК (BDI)

BDI е въпросник, разработен от Aaron T. Beck през 1961 г. като скрининг на депресивни състояния. Съдържа 21 въпроса за самооценка относно това как се е чувствал индивидът през последните две седмици с отговори по типа на multiple choice. При изчисляване на резултата за всеки отговор се дава стойност от 0 до 3 и общият брой точки се съотнася към ключ за да се определи тежестта на депресия. Степените са съответно: минимална (minimal), лека (mild), средна (moderate), тежка (severe). Съответният диапазон: 0-13, 14-19, 20-28, 29-63 съгласно версия BDI – II 1996. Тестът позволява проследяване на пациента и предоставя обективно измерване на промени в състоянието и ефективност от провежданата терапия. Понастоящем се прилага версия BDI – II. Състои се от въпроси, отнасящи се до симптоми на депресия като състояние на безнадеждност и раздразнителност, чувство на вина или съзнание за наказание, а така също и физически симптоми като умора, загуба на тегло и липса на удоволствие включително от секса.

#### 2.2.4.2. ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР ГОЛДБЪРГ „GOLDBERG DEPRESSION INVENTORY QUESTIONNAIRE“ (GDI)

Goldberg Depression Inventory Questionnaire е самооценъчна скала за проверка на налични симптоми на депресия в предшестващите теста седем дни. Така тестът предоставя информация, въз основа на която може да се прецени настоящо състояние и чувства, и да се диференцира дали се касае за временна тревожност или смущение, или за истинска депресия.

Състои се от 18 въпроса, оценяващи емоционалното, физическо и интелектуално благополучие на пациента. Отговорите на въпросите се степенуват в следния вид: *въобще не, само леко, отчасти, много, доста много, до голяма степен*. Отговорите се оценяват съответно с точки от 0 – *„въобще не“* до 5 – *„до голяма степен“*. След сумиране на оценките се определя крайната оценка на резултата от теста за значимостта на симптомите:

0-9 Depression likely	Няма депресия
10-17 Possibly mildly depressed	Вероятно лека депресия
18-21 Borderline depression	Гранично състояние
22-35 Mild-Moderate Depression	Лека към средна тежест
36-53 Moderate- Severe Depression	Средна към тежка
Над 54 Severe Depression	Много тежка депресия

При повторно провеждане на теста ежеседмично или месечно, промяна в резултата с 5 или повече точки е от значение. Приложението на теста отнема около 5 минути за отговор на въпросите.

### 2.3. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КРЪВНА ПРОБА

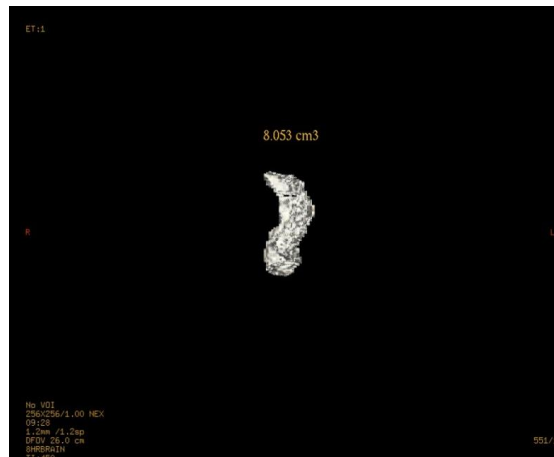
Лабораторно изследване за отхвърляне на активен възпалителен или друг болестен процес се проведе чрез изследване на кръвна проба: ПКК, СУЕ, CRP.

### 2.4. МРТ ОБРАЗНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

#### 2.4.1. 3-D T1 МРТ ХИПОКАМП- ВОЛУМЕТРИЯ

Двете групи провеждат кМРТ на глава съгласно утвърден протокол за пациенти с МС, прилаган в Отделение по „Образна диагностика“ към УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София. От получените T1 образи се измерва обем на хипокамп с прилагане на 3-измерна методика (3-D acquisition

volumetry) в равнина, перпендикулярна на оста на хипокамп (PERP протокол) (24, 28). МРТ е осъществена на МРТ “Signa “ 1.5T HDxt. 3-D T1 образи се получават в аксиална и сагитална равнина с мануален полуавтоматичен метод при дебелина на среза 0,5мм и отстояние 0мм. Обемът на структурата се изчислява чрез сумиране на очертаните образи в последователните срезове, умножени по дебелината на среза. Измереният обем се представя в  $\text{cm}^3$ . Прилага се полуавтоматичен метод за маркиране зоната на интерес. Измерват се тяло и опашка на хипокамп – hippocampus proper, subiculum, gyrus dentatus, alveus, fimbria hippocampi. В измерването не се включват amigdala, gyrus parahippocampalis, isthmus gyrus cinguli, crus fornicis.



Фигура 3. Триизмерно представяне на хипокамп посредством приложение на 3-D хипокампадна волуметрия. Измереният обем се представя в  $\text{cm}^3$ .

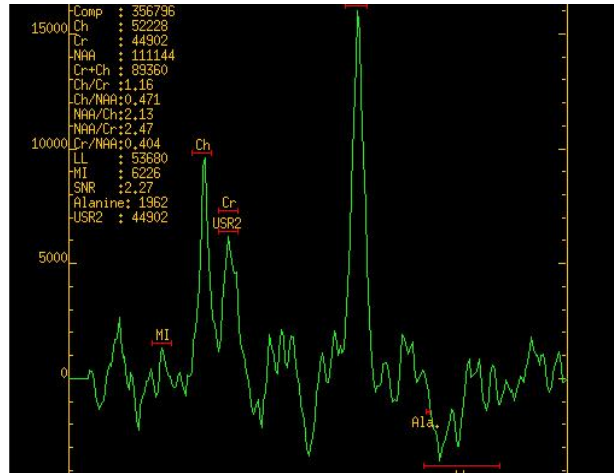
#### 2.4.2. ПРОТОННА МАГНИТНОРЕЗОНАНСНА СПЕКТРОСКОПИЯ

Протонната магнитнорезонансна спектроскопия е метод за изследване и регистриране на промени в мозъчния метаболизъм *in vivo*. ПрМРС е единственият метод, специфичен за увреждания на определени клетъчни типове (13). ПрМРС записва сигнали, отразени от протоните на органични молекули – метаболити в ЦНС. Техните концентрации са 1000 пъти по – ниски от тази на водата в тъканите. Честотите на изследваните метаболити се измерват в единици, наречени parts per million (ppm) и се представят графично с пик с различна величина за различните метаболити.

При МС пациентите интерес представлява измерването на органичните молекули холин, креатин, N- ацетиласпартат, глутамат и миоинозитол.

НАА е аминокиселина, разположена изключително преимуществено в неврони, аксони и дендрити (13). Cho отразява мембрания търновер. Cr и фосфокреатин са маркери за клетъчната активност, а Muo се произвежда от

глиални клетки. Изследването отнема 10-15мин. и може да се прибави към протокола на конвенционално МРТ изследване. МРТ е осъществена на МРТ “Signa “ 1.5T HDxt. Приложен е протокол за ПрМРС, използван в Отделение по „Образна диагностика“ към УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София.



Фигура 4. Протонна магнитно резонансна спектроскопия- графично представяне на спектър на изследвани мозъчни метаболити със съответни резонансни пикове (ppm).

## 2.5. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

А. Описателни методи и методи за оценка:

- 1) Вариационен анализ на количествени променливи – мода, средна стойност, стандартно отклонение, стандартна грешка, доверителни интервали;
- 2) Честотен анализ на качествени променливи – абсолютни честоти и проценти;
- 3) Графични изображения – кръгови диаграми, линейни диаграми, scatter-plot диаграми;

Б. Методи за проверка на хипотези:

1) Параметрични

1. T-test за две независими извадки (Independent Samples T-test) – проверява съществува ли статистически значима разлика между две средни на две независими извадки, когато променливата е нормално разпределена.
2. Еднофакторен дисперсионен анализ (Oneway ANOVA) – проверява за равенство на повече от две средни, когато разпределението във всяка група е близко до нормалното и разсейването в групите е приблизително еднакво. При

наличие на статистически значима разлика между средните към този анализ се прилага и Post-Hoc, за да установи между кои средни се установява разлика. Дисперсионният анализ може да се използва и при наличие на две средни, защото по същество той дава отговор на въпроса, дали фактор, който има качествено изражение, оказва влияние върху резултат с количествено изражение.

## 2) Непараметрични

1. Тест на Mann-Whitney за две независими извадки (Mann-Whitney U Test) – проверява съществува ли статистически значима разлика между две средни на две независими извадки, когато променливата не е нормално разпределена или има качествено изражение. Това е непараметричния аналог на Т-теста;
2. Тест на Kruskal-Wallis за повече от две независими извадки (Kruskal-Wallis H Test) – проверява за равенство на повече от две средни, когато разпределението във всяка група не е близко до нормалното или разсейването в групите е различно;
3. Хи-квадрат анализ – проверява наличие на връзка между две качествени променливи;
4. Тест на Kolmogorov-Smirnov – проверява дали една количествена променлива е нормално разпределена. Използва се при големи по обем извадки;
5. Тест на Shapiro-Wilk – проверява дали една количествена променлива е нормално разпределена. Използва се при малки по обем извадки;

В. Корелационен анализ – параметричен коефициент на линейна корелация на Pearson (Pearson correlation). Използва се за проверка до колко две променливи се влияят една от друга. Колкото по-близо е корелационния коефициент до +/- 1, толкова по-силна е връзката между двата показателя. Колкото по-близо е корелационния коефициент до 0, толкова по-слаба е връзката между тях.

- $0 < |R| \leq 0,3$  – слаба корелация
- $0,3 < |R| \leq 0,5$  – умерена корелация
- $0,5 < |R| \leq 0,7$  – значителна корелация
- $0,7 < |R| \leq 0,9$  – висока корелация
- $0,9 < |R| < 1,0$  – много висока корелация

Всички тестове са извършени при риск за грешка до 5% ( $\alpha \leq 0,05$ ). Това означава, че направените изводи ще бъдат достоверни с вероятност за сигурност не по-малко от 95%.

За обработка на данните и получаване на резултатите от тях е използван статистически софтуерен пакет IBM SPSS Statistics v23 (5, 6, 8, 9, 14, 17, 19, 21 ).

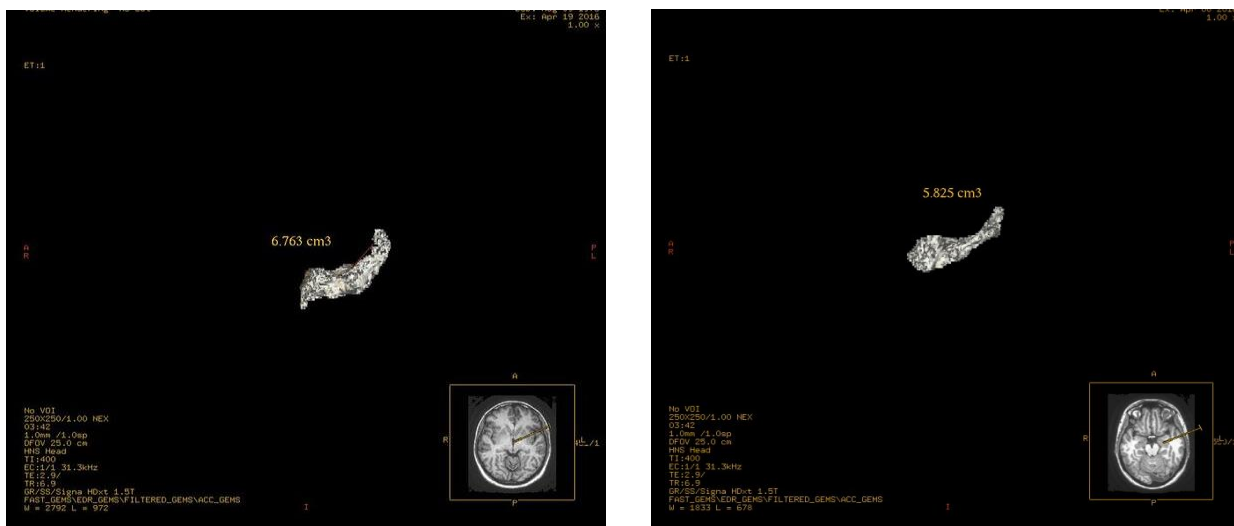
Данните са получени въз основа на извадка от 78 пациента ( $n=78$ ) от които 50 болни и 28 здрави индивида, използвани като контролна група. Извадката е съставена по начин, по който максимално да наподобява представителна извадка. Тъй като трябва да се спази условието за случаен подбор на единиците, които да попаднат в извадката, но липсва изчерпателен (пълен) списък с пациенти, е използван методът на случайни наблюдения. На случаен принцип (random) са избрани 50 времеви отрязъка, като първия пациент, попаднал в този времеви диапазон, попада в извадката. По този начин може да се твърди, че резултатите ще се отнасят не само за пациентите от извадката, но и за цялата съвкупност от пациенти. Също така броят на единиците в извадката е достатъчно голям за да се задействат законите на статистическите разпределения.

Статистическата обработка на данните е извършена от Васил Бозев, д.

## СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ

### 1. ХИПОКАМП ВОЛУМЕТРИЯ

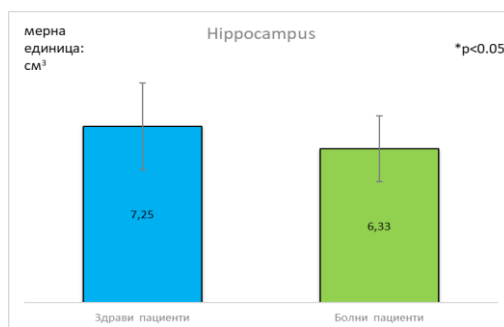
Въз основа на литературните данни се допуска хипотезата, че между обема на хипокампа при здравите контроли и МС пациентите ще има значима разлика. Тази разлика е представена на фигура 5, която онагледява хипокампи при случайно избрана контрола и пациент.



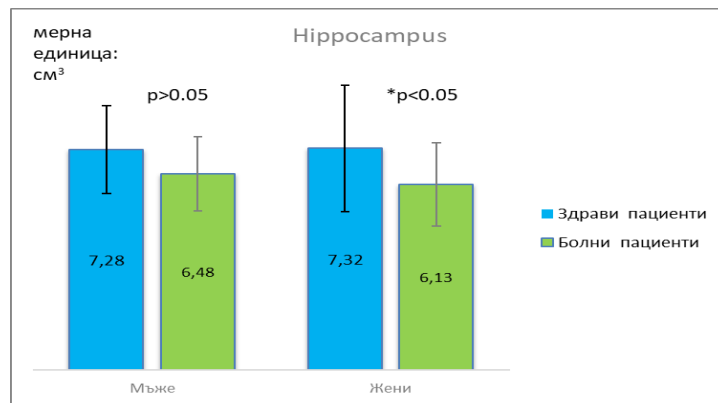
Фигура 5. Хипокампи – 3D МРТ хипокампи волуметрия. Обем на хипокампи на здрава контрола – 6,763 см<sup>3</sup> (вляво) и на МС пациент – 6,712 см<sup>3</sup> (вдясно).

#### 1.1 ОБЕМ НА ХИПОКАМП И ПОЛ

Въз основа на данните от МРТ хипокампи волуметрията е изчислена средната стойности на измерените обеми за двете групи лица.



Фигура 6. Средни стойности на обема на хипокампа при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите ( $x=7,25$  и  $\sigma=\pm 1,79$ ) и болните ( $x=6,33$  и  $\sigma=\pm 1,35$ ) пациенти е статистически значима при 5% риск за грешка.



Фигура 7. Средни стойности на обема на хипокампа при здрави и болни пациенти по пол. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите мъже ( $x=7,28$  и  $\sigma=\pm 1,46$ ) и болните мъже ( $x=6,48$  и  $\sigma=\pm 1,23$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите жени ( $x=7,32$  и  $\pm\sigma=2,09$ ) и болните жени ( $x=6,13$  и  $\pm\sigma=1,39$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установява се отчетливо намаление на обем на хипокампа при пациентите с множествена склероза, със статистически значима разлика между двете изследвани групи. Приложихме параметричен метод за проверка на хипотезите (Т-тест за разлика между две независими извадки) (таблица 3).

Таблица 3. Резултати от сравненията между групите за разликите в обема на хипокампа между болни и здрави пациенти

Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
Здрав	28	7.246	1.785	0.013	Да
Болен	50	6.329	1.352		
Мъже	Здрав	14	7.280	0.088	Не
	Болен	21	6.479		
Жени	Здрав	14	7.319	0.030	Да
	Болен	28	6.126		

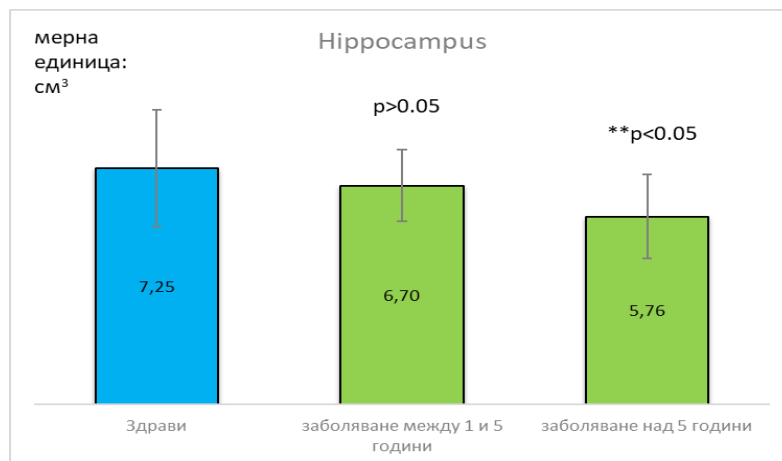
Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между МС болни и здрави контроли по отношение обема на хипокампа. Анализът по пол не установява статистически значима разлика между МС болни и здрави мъже. Има

статистически значима разлика между МС болни и здрави жени по отношение обема на хипокампа.

## 1.2. ОБЕМ НА ХИПОКАМП И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ

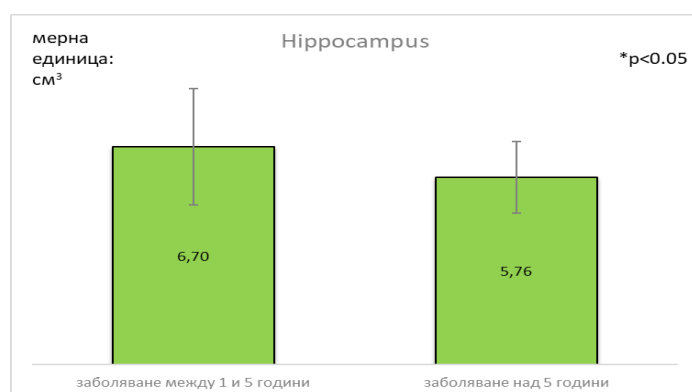
Пациентите с МС са разделени в три групи – с продължителност на заболяването до 1 година, с продължителност на заболяването между 1 и 5 години и продължителност над 5 години. Лицата в проучването с продължителност на заболяването до 1 година са само двама и за тях проверка не може да бъде осъществена поради малкия брой на индивидите в подизвадката. Разлика в обем на хипокамп спрямо здравите контроли ще се търси при останалите две групи.

В допълнение се потърси статистически значима разлика в средния обем на хипокампа между МС пациентите с продължителност на заболяването между 1 и 5 години и МС пациентите с продължителност над 5 години.



*Фигура 8. Средни стойности на обема на хипокампа при здрави и болни пациенти. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите контроли ( $x=7,25$  и  $\sigma=\pm 1,79$ ) и МС пациенти с продължителност на заболяването между 1 и 5 години ( $x=6,70$  и  $\sigma=\pm 1,10$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите контроли и МС пациенти с продължителност на заболяване над 5 години ( $x=5,76$  и  $\sigma=\pm 1,28$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.*

МС пациентите се представят с по – малък обем на изследваната структура. Факторът продължителност на заболяването има влияние по отношение дегенеративните промени на хипокампа.



Фигура 9. Средни стойности на обема на хипокампа при МС пациенти. Разликата в средния обем на хипокампа при МС пациенти с продължителност на заболяване между 1 и 5 години ( $x=6,70$  и  $\sigma=\pm 1,10$ ) и МС пациенти над 5 години ( $x=5,76$  и  $\sigma=\pm 1,28$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Приложихме параметричен метод за проверка на хипотезите (Т-тест за разлика между две независими извадки) (Таблица 4).

Таблица 4. Резултати от сравненията между групите за разликите в обема на хипокампа между болни и здрави пациенти, и болни пациенти с различна продължителност на заболяването

Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
Здрави	28	7.246	1.785	0.170	Не
Болни със заболяване между 1 и 5 години	27	6.700	1.103		
Здрави	28	7.246	1.785	0.002	Да
Болни със заболяване над 5 години	21	5.763	1.275		
Болни със заболяване между 1 и 5 години	27	6.700	1.103	0.010	Да
Болни със заболяване над 5 години	21	5.763	1.275		

Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болни със срок на заболяването между 1 и 5 години по отношение обема на хипокампа (Sig.=0,170,  $\alpha=0,05$ ). Има статистически значима разлика между

здравите контроли и МС болни със срок на заболяването над 5 години по отношение обема на хипокампа (Sig.=0,002,  $\alpha$ =0,05).

Сравнението между МС пациенти със срок на заболяването между 1 и 5 години, и МС пациенти със срок на заболяването над 5 години има равнище на значимост (Sig.=0,010,  $\alpha$ =0,05). Установява се статистически значима разлика между МС болни от двете групи по отношение обема на хипокампа с вероятност за сигурност от 95%.

## ОБСЪЖДАНЕ

Проведената хипокамп волуметрия установява обективна промяна в обема на изследваната структура с редукция при пациентите с МС. Данните от нашето изследване потвърждават описани от някои автори промени (13, 69). Всички пациенти са подложени на ИМТ ( $2,40 \pm 2,21$  години среден срок на лечение). Продължителността на имуномодулираща терапия и липсата на пристъпи за период повече от два месеца (при необходимими минимум два според литературни данни), преди изследването на лицата, отстраняват ефекта на възможна „псевдоатрофия“ в проведеното измерване (13,78,166).

ПРМС като форма на протичане се развива при около 85% от пациентите. Наблюдават се остро настъпващи пристъпи, преминаващи спонтанно до няколко седмици с пълно или непълно възстановяване на проявения неврологичен дефицит и съответно развитие на различна по степен инвалидизация (13). Натрупването във времето на неврологичен дефицит при непълно възстановяване на засегнатите функционални системи отразява развитие на мозъчна атрофия. Процесът се съпътства от отчетливи промени в обема на отделни мозъчни структури – глобално и регионално. Измерването на промени в обем на хипокампа представя атрофичния процес по отношение на регионални структурни изменения.

Заболяването МС се характеризира с по – голяма честота сред индивидите от женски пол. По – агресивно протича при болните от мъжки пол (13).

По данни от литературата 50-70% от пациентите с ПРМС преминават във ВПМС форма след приблизително 10 годишен ход на боледуване. Процентът достига до 90% средно 25 години след началото на болестта. Установената статистически значима редукция в обем на хипокампа при продължителност на заболяване над 5 години подсказва дегенеративен процес на ранен етап от развитие на болестта. В изследваната група 54% от пациентите са с продължителност на заболяване 1-5 години и 42% с продължителност над 5 години. В двете подизвадки преобладават индивидите от женски пол, съответно 48% в първата и 67% във втората група. В групата на МС пациентите 54% от изследваните лица са с

продължителност на заболяване от 1 до 5 години. От тях 48% са жени. Данните от изследването показват статистически значимо намаляване на обем на хипокампа в групата на МС пациентките. Това насочва вниманието към пола като възможен фактор със съществено значение за развитие на атрофия в ранните етапи от заболяването.

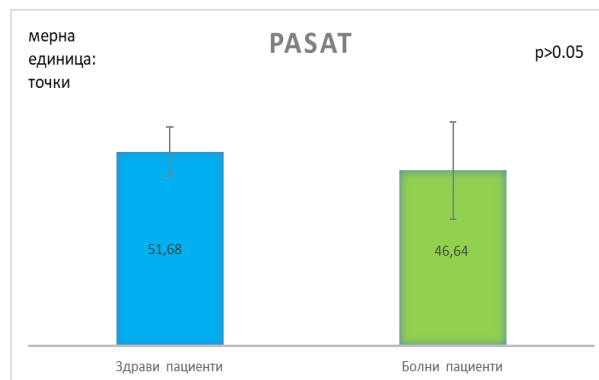
Значителното намаляване на обема на хипокампа може да се асоциира с атрофия на измерваната структура, което се свързва с невродегенеративен процес. Описаните промени са представени отчетливо свързано с пола – редукция в обема на хипокампа в групата на индивидите от женски пол, със статистически значима разлика свързана с продължителността на болестта. Хипокампът е структура с персистираща неврогенеза. Следователно, налице е фактор, който преодолява ефекта на персистиращата неврогенеза.

## 2. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

Целта на това проучване е да се направи характеристика на когнитивните промени при пациенти с ПРМС в ранен етап от развитие на болестта. Подложихме на сравнителен анализ на данните от приложените тестове за оценка на когнитивното функциониране, промени в афекта и наличие на умора при двете групи (МС пациенти с ПРМС и здрави контроли).

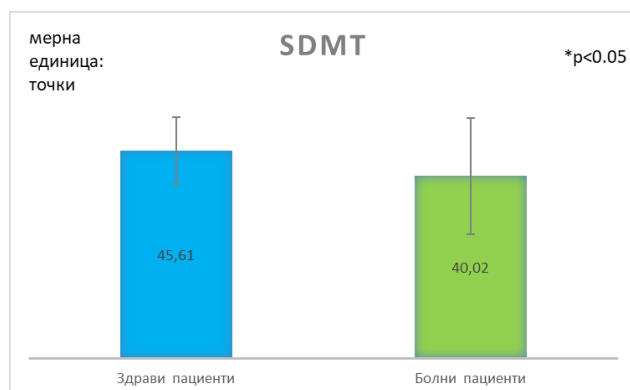
### 2.1. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ ТЕСТА PASAT- 3 S.

Сравнихме резултатите на контролите и МС болните пациенти.



Фигура 10. Средни стойности на тест PASAT – 3s при здрави контроли и МС болни. Разликата между здрави пациенти ( $x=51,68$  и  $\sigma=\pm 6,58$ ) и МС болните ( $x=46,64$  и  $\sigma=\pm 12,85$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

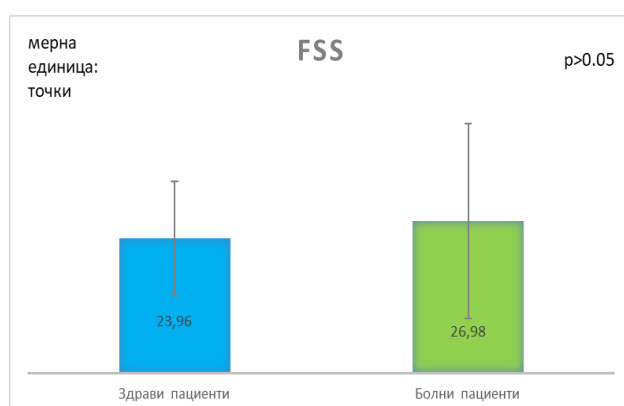
## 2.2. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ ТЕСТА SDMT.



Фигура 11. Средни стойности на теста SDMT при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния брой точки на SDMT при здрави пациенти ( $x=45,61$  и  $\sigma=\pm 7,35$ ) и МС болните ( $x=40,02$  и  $\sigma=\pm 12,80$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка. Отчита се значимо влошено представяне на изследваните МС болни при изпълнение на теста.

Анализът на данните от проведените когнитивни тестове PASAT – 3s и SDMT показва, че групата на здравите контроли е с по – големи средни стойности като резултат от теста, без статистически значима разлика спрямо болните с МС. Установява се статистически значимо влошаване при болните с МС при изпълнение на SDMT.

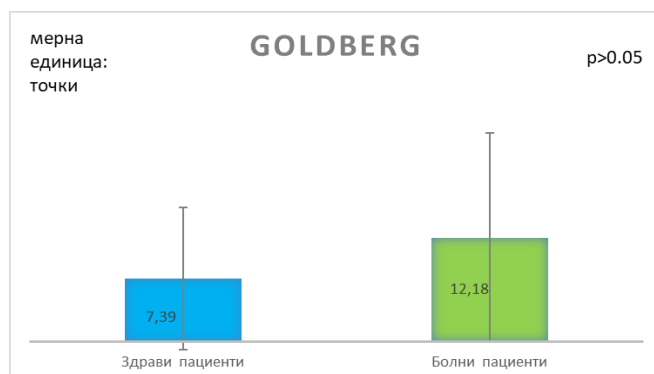
## 2.3. ОЦЕНКА НА УМОРАТА ЧРЕЗ САМООЦЕНЪЧНА СКАЛА FSS



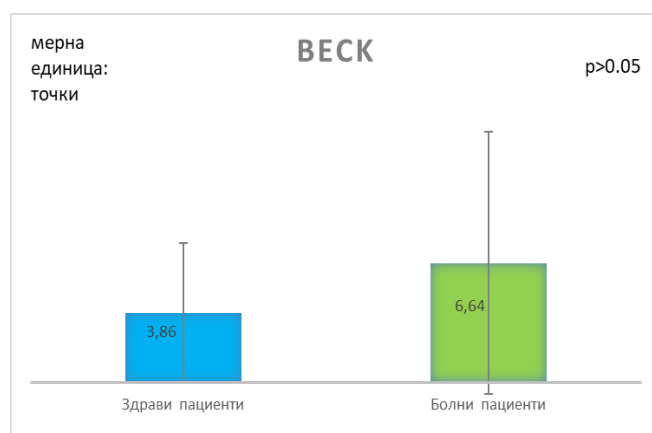
Фигура 12. Средни стойности на скалата FSS при здрави контроли и МС болни. Разликата между здрави пациенти ( $x=23,96$  и  $\sigma=\pm 10,92$ ) и МС болните ( $x=26,98$  и  $\sigma=\pm 15,75$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

## 2.4. ОЦЕНКА НА ДЕПРЕСИЯ ЧРЕЗ СКАЛА ЗА САМООЦЕНКА GDI И BDI

Приложени са две скали за самооценка на депресия – Goldberg Depression Inventory (GDI) и Beck's Depression Inventory (BDI).



Фигура 13. Средни стойности на скалата GDI при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния брой точки на GDI при здрави пациенти ( $x=7,39$  и  $\sigma=\pm 8,34$ ) и МС болните ( $x=12,18$  и  $\sigma=\pm 12,30$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка.



Фигура 14. Средни стойности на скалата BDI при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния брой точки на BDI при здрави пациенти ( $x=3,86$  и  $\sigma=\pm 3,88$ ) и МС болните ( $x=6,64$  и  $\sigma=\pm 7,30$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

И при двете скали се установява разлика между изследваните групи, която обаче е без статистически значима стойност.

Разпределението на точките от всички тестове не е нормално. Приложихме непараметричен метод за проверка на разликите (Тест на Ман-Уитни (Man-Whitney test) между две независими извадки (Таблица 5).

*Таблица 5. Резултати от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между болни и здрави пациенти.*

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	Здрав	28	51.68	6.577	0.203	Не
	Болен	50	46.64	12.847		
SDMT	Здрав	28	45.61	7.350	0.023	Да
	Болен	50	40.02	12.805		
FSS	Здрав	28	23.96	10.922	0.700	Не
	Болен	50	26.98	15.746		
GDI	Здрав	28	7.39	8.342	0.073	Не
	Болен	50	12.18	12.298		
BDI	Здрав	28	3.86	3.875	0.210	Не
	Болен	50	6.64	7.303		

Данните от анализа на сравнението между здрави и МС пациенти дават основание с вероятност за сигурност от 95% да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста PASAT – 3s (Sig.=0,203,  $\alpha=0,05$ ).

Има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста SDMT (Sig.=0,023,  $\alpha=0,05$ ).

Няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста FSS (Sig.=0,700 $\alpha=0,05$ ).

Няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста GDI (Sig.=0,073 $\alpha=0,05$ ).

Няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста BDI (Sig.=0,210,  $\alpha=0,05$ ).

## ОБСЪЖДАНЕ

PASAT – 3s е невропсихологичен тест за оценка на аритметичните способности, капацитет и скорост на обработка на информация, както и поддържане и разпределяемост на вниманието. Скоростта на обработка на информацията е основна когнитивна функция, която вероятно повлиява последващи процеси като памет. SDMT е тест за оценка на промени в скоростта на обработка на информация. Характеризира процеси като зрение, реч, заучаване, скорост и прецизност, мануална моторна функция. Прилага се за оценка на когнитивните функции, в частност на бързата визуална обработка на информация и на работната памет. Забавена скорост на обработка на информация е идентифицирана като основен симптом при МС

от Charcot още през 1877 г. Той установява, че концепциите се формират бавно, и интелектуалните и емоционалните способности са приглушени в тяхната цялост (33). През следващото столетие психометрични изследвания потвърждават хипотезата на Charcot, че брадифренията е в сърцевината на неврологичния дефицит при МС. Скоростта на когнитивната обработка на информация се оценява количествено от 1980 г. въз основа работата на Stephen Rao главно с прилагането на два когнитивни теста: PASAT и SDMT. В последствие, благодарение на лесното приложение и фактори като надеждност, валидност, предикативна валидност, чувствителност и специфичност, SDMT се определи като първи тест на избор за невропсихологична оценка при МС. През последните 5 и повече години SDMT е най – често прилаганият невропсихологичен тест за оценка скорост на обработка на информация при МС (33). Прилага се за оценка на когнитивните функции, в частност на бързата визуална обработка на информация и на работната памет.

Анализът на данните от проведените тестове за оценка на когницията показват обективна промяна при МС болните. Групата на пациентите с МС е с по-ниски средни стойности на брой верни отговори. Здравите индивиди дават значително по-голям брой верни отговори. Може да се предположи, че пациентите с МС имат влошено представяне на когнитивните тестове поради ефект на умора или промени в афекта.

В настоящото проучване болните с МС регистрират по-висок резултат при самооценъчната скала за определяне на умората. Данните са в съответствие с други проучвания Двете групи са идентични по отношение фактор „*работна заетост*“. Индивидите в МС групата са с ниво на инвалидност, оценено по EDSS  $\leq 3.5$ . Всички пациенти провеждат ИМТ. Може да допуснем, че тези ефектът на терапията по отношение на възпалителната активност при МС болните определя наличието на минимална разлика в оценката на умората между двете групи, без статистически значима разлика. След изчисляване на резултата (Likert scale) и за двете групи се отчитат стойности под 4. В групата на здравите лица изчисленият среден резултат е 2.7. МС пациентите се представят с резултат 3.0. В заключение данните демонстрират сходни резултати за двете групи, т.е. групата на пациентите с МС не се отличава съществено по отношение на параметър „умора“ спрямо здравите лица.

Отклоненията в афекта при изследваните болни с МС са без статистически значима стойност и при двете скали. При GDI средният резултат за МС болните е в диапазон „*вероятно лека депресивна симптоматика*“ – среден резултат  $12,18 \pm 12,30$  (референтни 10 – 17 точки). Здравите контроли са в интервал „*няма депресия*“ (0 – 9 точки) със среден

резултат  $7,39 \pm 8,34$ . Здравите контроли се разпределят в първите четири категории на скалата съответно 20; 4; 1; 3. Резултатът при МС пациентите варира в рамките на групата от „няма депресия“ – 30 пациента; „вероятно лека“ – 7 пациента; „гранична“ – 2 пациента, „лека към средна тежест на депресия“ – 7, „средно тежка към тежка“ – 4 пациента; „тежка депресия“ – 0 пациента. И в двете групи изследвани лица преобладават индивидите без депресия.

BDI разпределя МС болните както следва: среден резултат при МС пациентите  $6,64 \pm 7,30$ , при  $3,86 \pm 3,87$  за групата на здравите контроли. Представената самооценка за наличие на депресивна симптоматика в групата на МС болните съответства на липса на депресия. Разпределението е както следва: норма – 36 болни, лека степен – 7, лека към умерено тежка степен – 4 и умерено тежка към тежка депресия – 3 болни.

Ниската степен на инвалидизация и активната професионална реализация при МС болните допринасят за емоционалната удовлетвореност и липсата, особено на значителни по тежест, промени в афекта.

В обобщение, оценката на когнитивното функциониране, промените в афекта и умората при здравите индивиди и групата на МС пациентите установи при всички изследвани тестове тенденция за влошено представяне на МС пациентите. Статистически значима разлика между МС болни и здрави контроли се откри само при теста SDMT. При останалите променливи тази разлика остава недоказана.

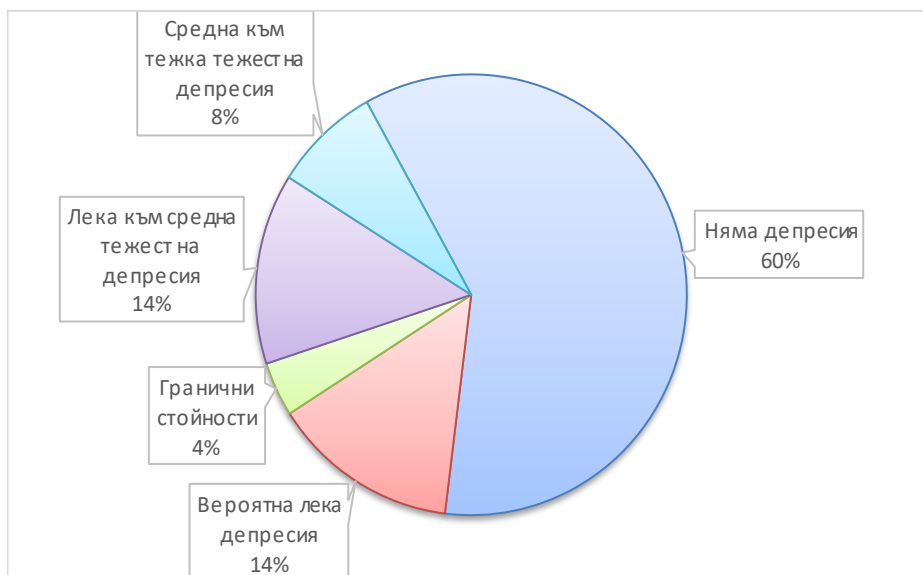
## 2.5. ВРЪЗКА МЕЖДУ ПОЛ И ДЕПРЕСИЯ

В тази част от анализа потърсихме възможна връзка между пола и депресията при МС болните, оценена чрез прилагане на GDI и BDI. За да се изследва връзката между пола и депресията се трансформира диапазона от точки от двата теста в условни скали (Таблица 6).

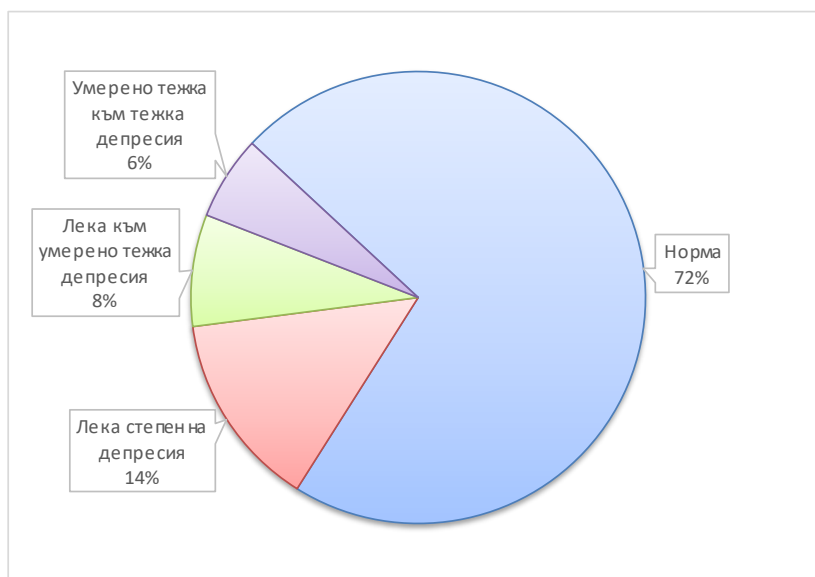
Таблица 6. Условни граници на скалиране на тестовете GDI и BDI.

Тест на Goldberg		Тест на Beck	
Числови граници	Условна скала	Числови граници	Условна скала
До 9	Няма депресия	До 9	Норма
10-17	Вероятна лека депресия	10-13	Минимална депресия
18-21	Гранични стойности	14-19	Лека депресия
22-35	Лека към средна тежест на депресия	20-28	Умерена депресия
36-53	Средна към тежка тежест на депресия	29-63	Тежка депресия
Над 54	Много тежка депресия	-	-

Разпределението на скалираните тестове изглежда следното:



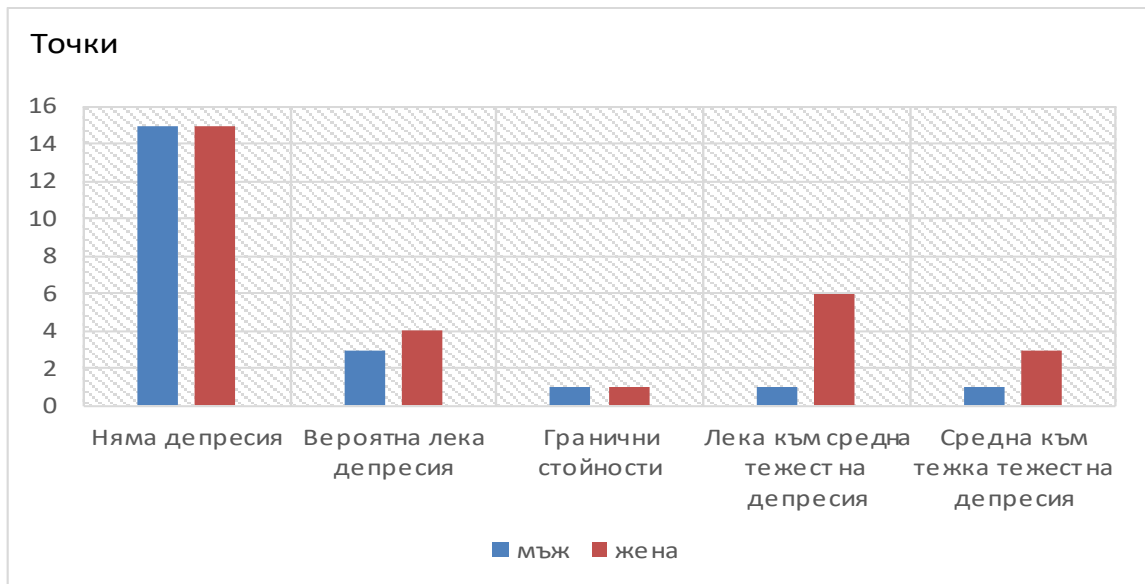
Фигура 15. Разпределение на МС болните по тежест на депресивна симптоматика като процент (оценени с GDI).



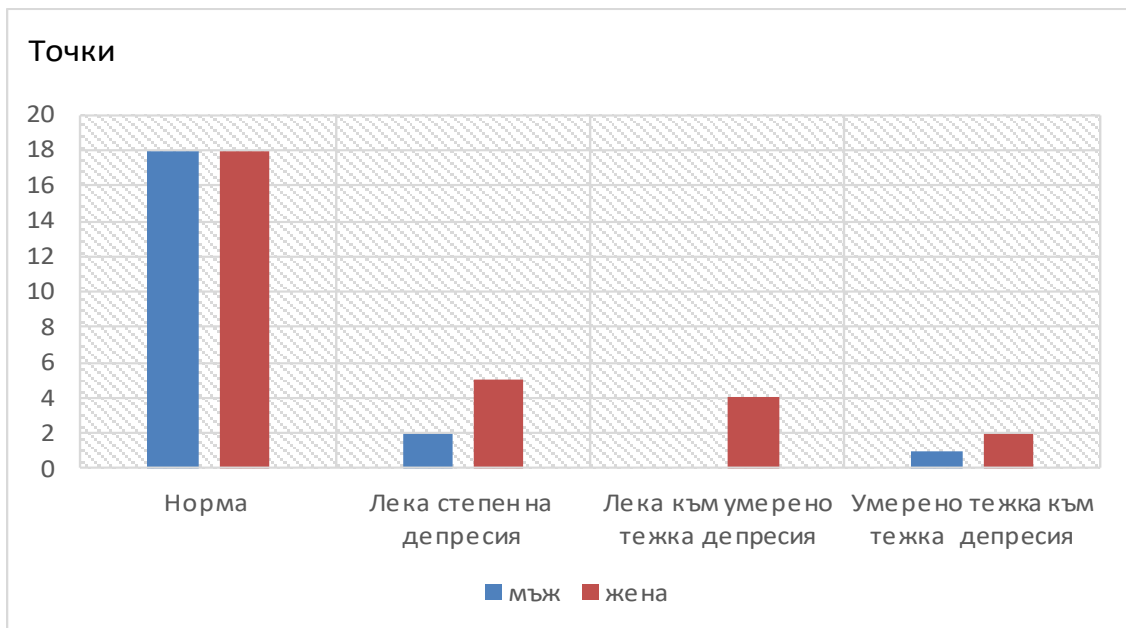
Фигура 16. Разпределение на МС болните по тежест на депресивна симптоматика като процент (оценени с BDI).

И при двата теста преобладаваща е нормата или липсата на депресия.

Разпределението по пол и тежест на депресия е следното:



Фигура 17. Разпределение на МС болните по пол и тежест на депресивна симптоматика, оценени с приложение на GDI.



Фигура 18. Разпределение на МС болните по пол и тежест на депресивна симптоматика, оценени с приложение на BDI.

Търси се връзка между качествени променливи. Следователно се прилага Хи-квадрат анализ (Chi-square test). Резултатите от тестовете са показани в таблица 7.

Таблица 7. Резултат от Хи-квадрат теста за връзка между тежестта на депресията и пола.

	Равнище на значимост за връзка между	Статистически значима връзка
Връзка между пол и депресивна симптоматика с GDI	0,474	Не
Връзка между пол и депресивна симптоматика с BDI	0,217	Не

Резултатите за връзка между пола и тежест на депресивна симптоматика, оценени с приложение на GDI има равнище на значимост (Sig.=0,474), по – голямо от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима връзка между пола и тежестта на депресията, оценена с теста на Goldberg. Няма статистически значима връзка между пола и тежестта на депресията, оценена с теста на BDI (Sig.=0,217,  $\alpha=0,05$ ).

#### ОБСЪЖДАНЕ

По литературни данни промени в афекта се срещат при над 75% от пациентите с МС. Те включват на първо място депресия, както и еуфория, биполярни нарушения, психотични епизоди, тревожност, раздразнителност, ажитираност, патологичен смях и плач, антисоциално поведение. Депресията е най-честото поведенческо разстройство при пациентите с МС (206). По – често се развива при по-млади индивиди, при по – голяма продължителност на заболяването, при прогресиращи форми и при по – голяма степен на инвалидизация на пациентите. Някои жени са изключително чувствителни към промени в нивата на половите хормони. Това обуславя голяма податливост към депресия при спад на тези нива. Връзката на фактора пол с развитието на депресия се обяснява с ефекти на естроген на ниво ЦНС. Естрогенът

- регулира невротрансмитерни системи, свързани с контрол на настроение, като серотонин, допамин, адреналин, норадреналин;
- повлиява активността на РЕМТ и синтеза на холин, чрез което индиректно оказва ефект по отношение ДНК – метилиране, морфогенеза, структурен интегритет и клетъчни окислително/редукционни системи;

- промените в нивата на естроген се отчитат на ниво амигдала, която е свързана с процесите на регулация на настроението/емоциите;
- стимулира активности в хипокамп, свързани с емоциите – реакции на възнаграждение

Хипокампът е мозъчна структура с широк диапазон проекции към мозъчните области, които са анатомичен субстрат на когницията и афекта. Хипокампът е включен във функционални кръгове, чието интактно функциониране е необходимо за паметта и емоционалната интелигентност. Установихме промени в обема на хипокамп при болните с МС. Разликата е статистически значима при сравнение на болните и здравите жени.

Анализът на разпределението по пол отново установява по-изявени промени в афекта при болните жени.

Въпреки наличие на очаквана връзка между тежестта на депресията и пола, такава не се потвърди при извадката. Оказа се, че полът не е фактор за развитието на депресия. Някои от условията за надеждно приложение на Хи-квадрат метода обаче не са изпълнени, което означава, че липсата на връзка не бива да се абсолютизира и такава всъщност може да съществува.

### 3. АНАЛИЗ НА ВЗАИМООТНОШЕНИЯТА МЕЖДУ КОГНИТИВНОТО ФУНКЦИОНИРАНЕ, УМОРАТА И ДЕПРЕСИЯТА ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

Потърсихме някои връзки и посоки между когнитивното функциониране, умората и депресията. За оценка на когнитивното функциониране при МС болни с ПРМС са приложени тестовете PASAT – 3s и SDMT. Скалите на Beck и Goldberg оценяват наличие на депресия при МС пациентите, а FSS е самооценъчна скала за умора.

### 3.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

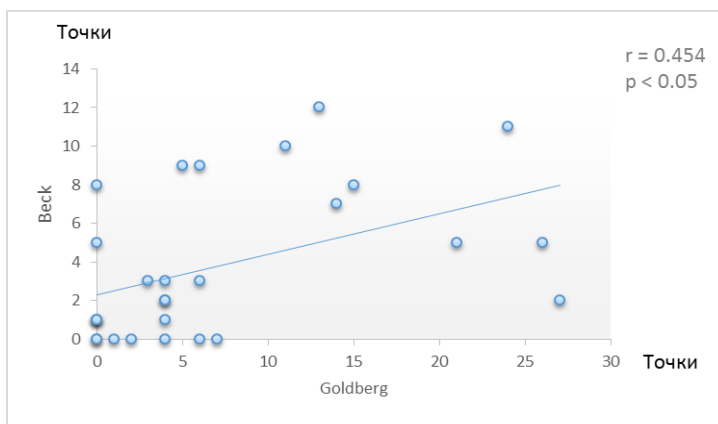
Таблица 8. Корелационни коефициенти между направените тестове при здрави контроли.

		PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	Beck
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.128	.048	.024	-.104
	Равнище на значимост		.518	.809	.904	.600
	Брой	28	28	28	28	28
SDMT	Корелация на Пирсън	.128	1	-.014	.189	-.057
	Равнище на значимост	.518		.942	.336	.775
	Брой	28	28	28	28	28
FSS	Корелация на Пирсън	.048	-.014	1	.300	-.105
	Равнище на значимост	.809	.942		.121	.594
	Брой	28	28	28	28	28
Goldberg	Корелация на Пирсън	.024	.189	.300	1	.454*
	Равнище на значимост	.904	.336	.121		.015
	Брой	28	28	28	28	28
Beck	Корелация на Пирсън	-.104	-.057	-.105	.454*	1
	Равнище на значимост	.600	.775	.594	.015	
	Брой	28	28	28	28	28

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\* . Корелацията е значима при равнище от 5 %.



Фигура 19. Графично представяне на връзката между GDI и BDI при изследвана група здрави контроли. Установява се умерена правопрпорционална връзка ( $r=+0.454$ ,  $p<0.05$ ) между двата теста за оценка на депресия в групата. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

### 3.2. БОЛНИ С МС

Таблица 9. Корелационни коефициенти между направените тестове при МС болни пациенти.

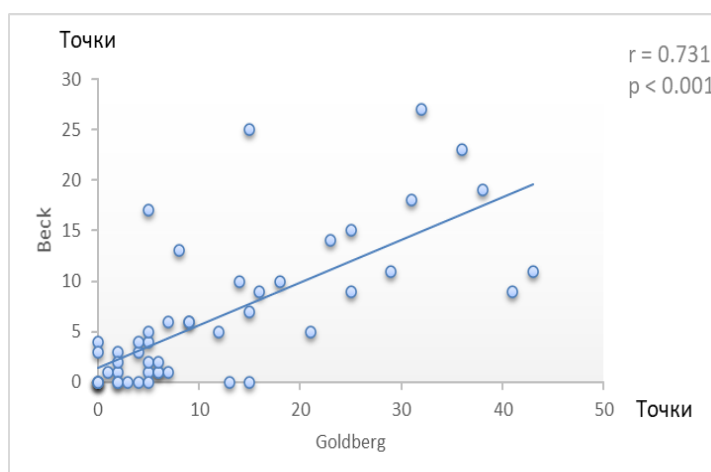
		PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	Beck
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.583***	-.203	-.189	-.200
	Равнище на значимост		.000	.158	.189	.165
	Брой	50	50	50	50	50
SDMT	Корелация на Пирсън	.583**	1	-.176	-.103	-.116
	Равнище на значимост	.000		.221	.478	.422
	Брой	50	50	50	50	50
FSS	Корелация на Пирсън	-.203	-.176	1	.749***	.678***
	Равнище на значимост	.158	.221		.000	.000
	Брой	50	50	50	50	50
GDI	Корелация на Пирсън	-.189	-.103	.749**	1	.731***
	Равнище на значимост	.189	.478	.000		.000
	Брой	50	50	50	50	50
BDI	Корелация на Пирсън	-.200	-.116	.678**	.731**	1
	Равнище на значимост	.165	.422	.000	.000	
	Брой	50	50	50	50	50

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

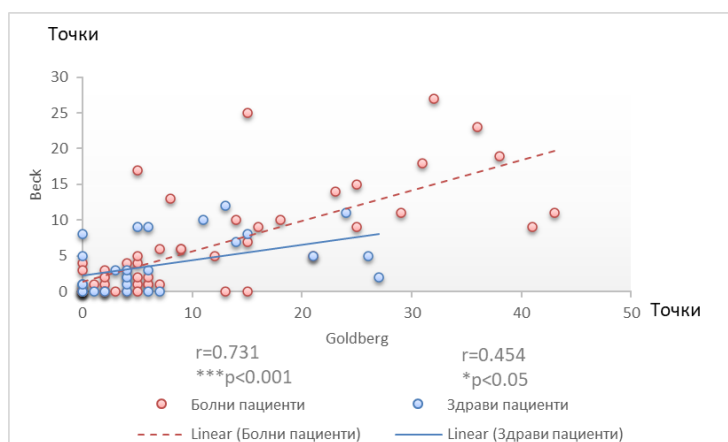
\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

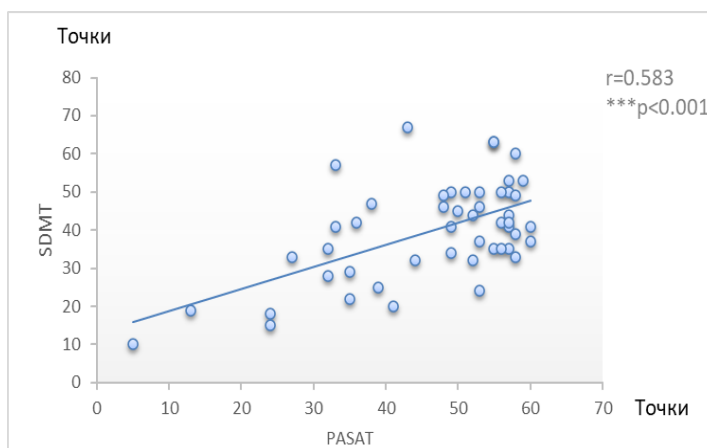
Установява се, че между PASAT – 3s и SDMT ( $r=+0.583$ ), както и между FSS и BDI ( $r=+0.678$ ) съществува значителна правопрпорционална връзка, а между променливи GDI и FSS ( $r=+0.749$ ), както и между GDI и BDI ( $r=+0.731$ ) – висока правопрпорционална връзка. Тези изводи могат да се потвърдят с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 20. Графично представяне на връзката между GDI и BDI при изследваните МС болни. Установява се висока правопрпорционална връзка ( $r=+0.731$ ,  $***p<0.001$ ) между двата теста за оценка на депресия в групата на изследваните болни лица.

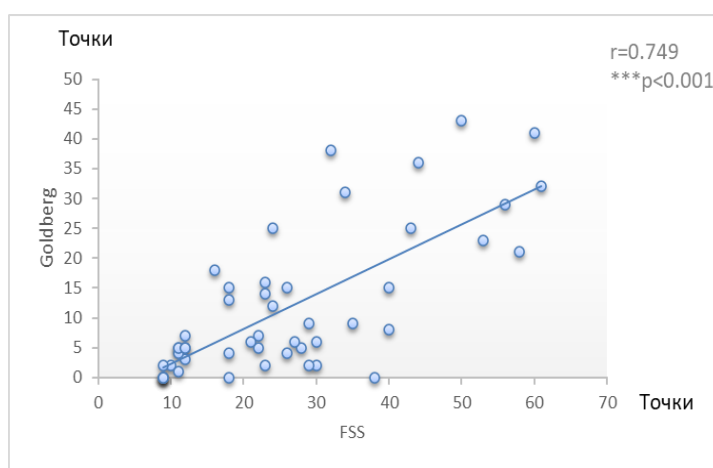


Фигура 21. Графично представяне на връзката между променливите GDI и BDI при МС пациенти и здрави контроли. При МС пациентите се установява висока правопрпорционална връзка ( $r=+0.731$ ,  $***p<0.001$ ) между двата теста. Този извод може да се твърди с вероятност за сигурност от 99,9%, докато при здравите контроли връзката е умерена ( $r=+0.454$ ,  $*p<0.05$ ), и изводът може да се твърди с вероятност от 95%.

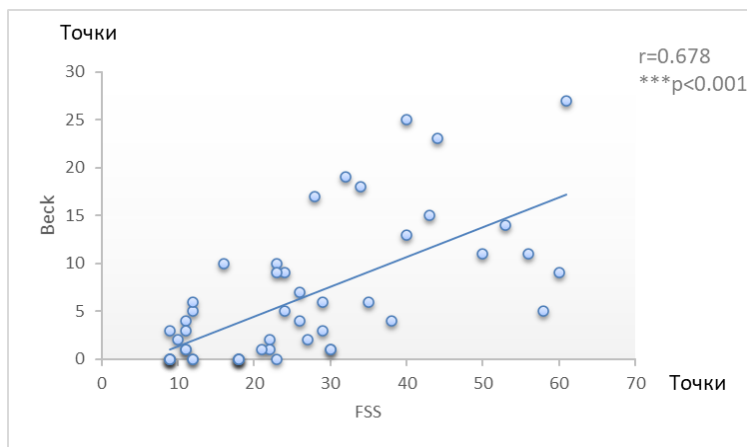


Фигура 22. Графично представяне на връзката между променливите PASAT – 3s и SDMT при изследваните МС болни. Доказва се значителна правопрпорционална зависимост ( $r=+0.583$ ,  $***p<0.001$ ) на промените в неврокогнитивното функциониране, отчетени с тестовете PASAT – 3 sec. и SDMT при болните с множествена склероза.

И двата теста отчитат промени в скоростта на обработка на информация.



Фигура 23. Графично представяне на връзката между променливите GDI и FSS при изследваните МС болни. Установява се висока правопрпорционална връзка ( $r=+0.749$ ,  $***p<0.01$ ) между GDI за оценка на депресия и FSS теста за оценка на умората в групата на изследваните болни лица.



Фигура 24. Корелация между променливите BDI и FSS при изследваните МС болни. Установява се значителна правопрпорционална зависимост ( $r=+0.678$ ,  $***p<0.001$ ) на промените в емоциите, отчетени с BDI и чувството на умора (FSS) при пациентите с множествена склероза.

#### ОБСЪЖДАНЕ

Приложенияте от нас когнитивни тестове PASAT и SDMT отчитат промени в скоростта на обработка на информация. Доказахме значителна правопрпорционална зависимост на промените в неврокогнитивното функциониране. Установените нарушения при МС пациентите демонстрират забавена скорост, свързана със смущения в процесите на разпределяемост и поддържане на вниманието, и краткосрочната памет. Изпълнението на теста PASAT е свързано с наличие на аритметични способности. SDMT отчита когнитивни промени, отразяващи зрително-пространствена ориентация. Установената значителна правопрпорционална връзка на промените в двата теста отразява значимостта на общата когнитивна модалност – скорост на обработка на информация, която по същество отразява дисконекция на корови и подкорови структури, ангажирани в реализиране на процесите памет, внимание, скорост на обработка на информация.

Отчетените промени при изследваните пациенти също така отразяват наличие на скрита инвалидност, която не може да бъде измерена с прилаганата EDSS скала на Kurtzke. Следователно прилагането на тези тестове при изследване на нарушенията при МС пациенти на ранен етап от болестта има съществен принос в оценка на инвалидизацията.

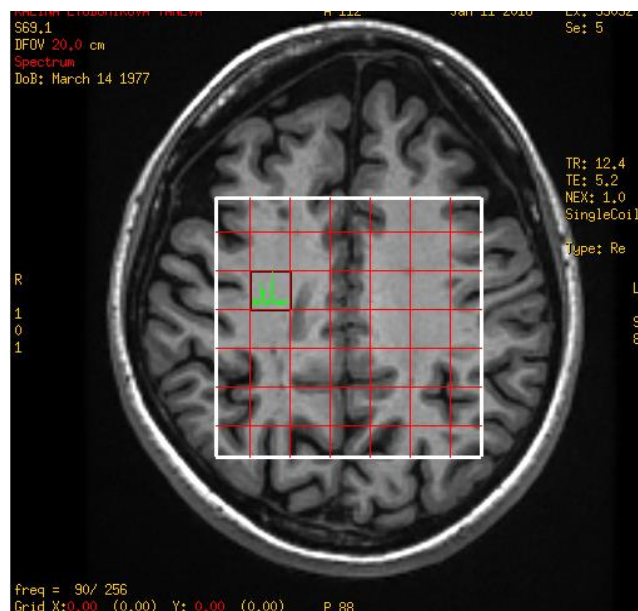
Скалите на Beck и Goldberg оценяват наличие на депресия при МС пациентите. BDI отчита влиянието на категории като негативно възприемане на собствената личност, нарушения в телесни функции. GDI оценява и налична тревожност. Установихме висока правопрпорционална връзка

между двата теста за оценка на депресия в групата на изследваните болни лица. Това означава, че двата теста са надежден инструмент за оценка на депресия при МС пациентите.

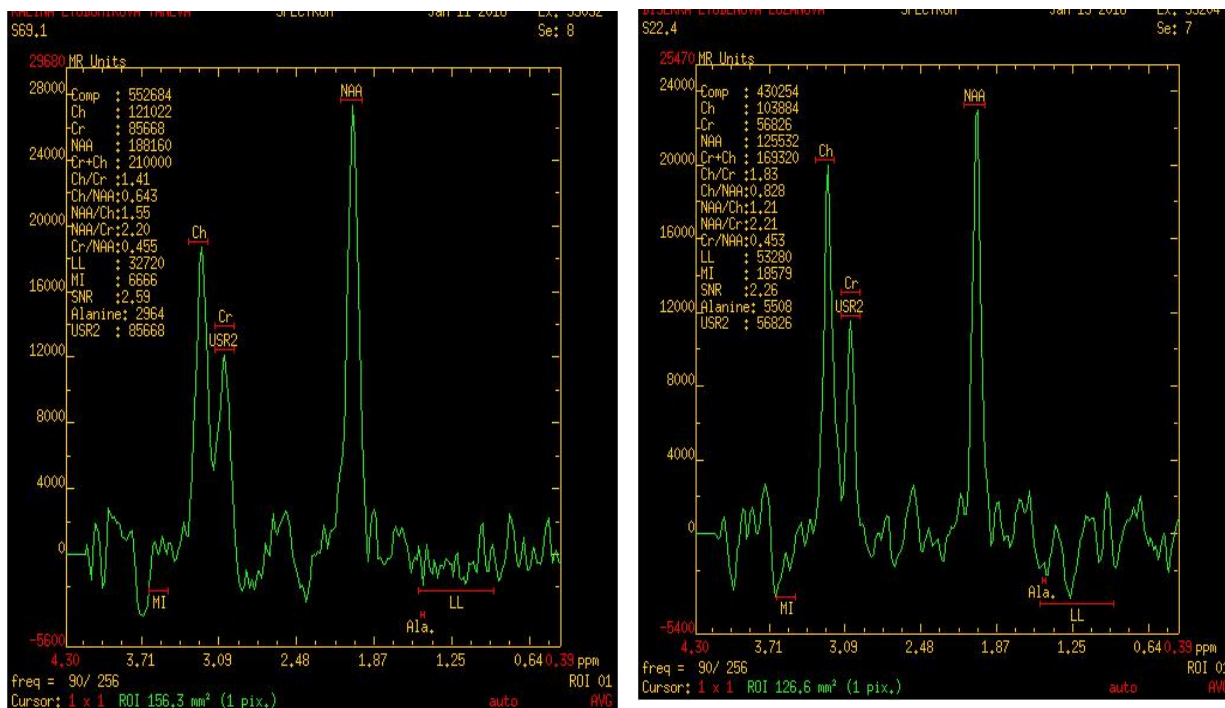
Установихме значителна правопрпорционална зависимост между промените в афекта, оценени с BDI, и умората при болните с МС. При GDI се доказва висока правопрпорционална зависимост с умората. Следователно наличието на депресивни симптоми при МС пациентите повлиява субективната оценка на умората при тях. Връзката е по-значима между скалите GDI и FSS, вероятно поради възможността на GDI да отчита и влиянието на фактор тревожност при оценка на депресията.

#### 4. ИЗСЛЕДВАНЕ НА НЯКОИ МОЗЪЧНИ МЕТАБОЛИТИ В ЗОНИ НА ИНТЕРЕС – NAWM ЧРЕЗ ПрМРС

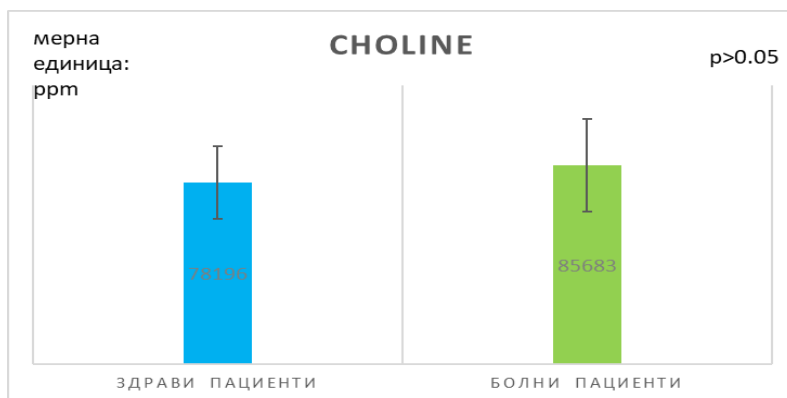
За целта на нашето проучване се проведе ПрМРС с измерване на холин (Cho), креатин (Cr) и N-ацетиласпартат (NAA) в зони на подкоровата бяла мозъчна субстанция, свободни от лезии на демиелинизация. Подбрани бяха области с нормален T2 образ при конвенционална МРТ, т.е. зони на нормално изглеждащо бяло мозъчно вещество (NAWM). В групата на здравите контроли се подбраха кореспондиращи области на изследване.



Фигура 25. ПрМРС при МС пациент. T2 образ. Маркирана е зоната на интерес NAWM, свободна от лезии на демиелинизация, в дясна голямо мозъчна хемисфера париетално.

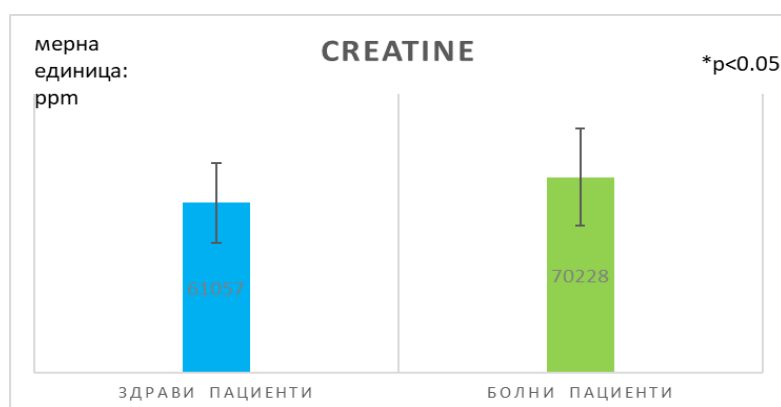


Фигура 26. ПрМРС – спектрограма. Графично представяне на отделните изследвани метаболити с маркиране на съответен пик, кореспондиращ на измерената метаболитна концентрация (ppm) при МС пациент (вляво) и здрава контрола (вдясно).



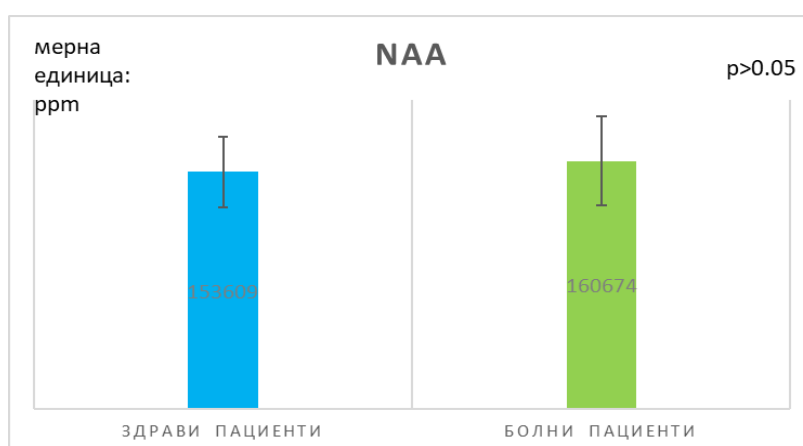
Фигура 27. Средни стойности на Choline при здрави контроли и МС болни. Разликата в средните нива на Choline при здравите ( $x=78196$  и  $\sigma=\pm 15798,72$ ) и болните пациенти ( $x=85683$  и  $\sigma=\pm 20018,07$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

Отчита се нарастване нивото на изследвания метаболит Cho при МС пациентите в зони, свободни от демиелинизация.



Фигура 28. Средни стойности на Creatine при здрави контроли и МС болни. Разликата в средните нива на Creatine при здравите ( $x=61057$  и  $\sigma=\pm 14334,29$ ) и болните пациенти ( $x=70228$  и  $\sigma=\pm 17326,47$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установихме по-високи нива на Cr в групата на МС пациентите.



Фигура 29. Средни стойности на NAA при здрави контроли и МС болни. Разликата в средните нива на NAA при здравите ( $x=133609$  и  $\sigma=\pm 23048,17$ ) и болните пациенти ( $x=160674$  и  $\sigma=\pm 28647,21$ ) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

Изследването на NAA отчита завишени нива на метаболита отново в групата на МС пациентите.

Резултатите показват, че изследваните метаболити не са разпределени нормално, което означава че трябва да се използва непараметричен метод за

проверката. Приложен е непараметричен метод на Ман-Уитни (Man-Whitney test) (таблица 10).

*Таблица 10. Резултати от сравненията между групите за разликите в концентрациите на измерени метаболити между болни и здрави пациенти*

Метаболит	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
Cho	Здрав	28	78196.43	15798.724	0.122	Не
	Болен	50	85682.92	20018.070		
Cr	Здрав	28	61056.96	14334.289	0.025	Да
	Болен	50	70227.98	17326.469		
NAA	Здрав	28	153609.43	23048.165	0.151	Не
	Болен	50	160673.88	28647.211		

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за метаболита Cho с вероятност за сигурност от 95% установяват, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средните нива на Cho (Sig.=0,122,  $\alpha=0,05$ ).

Резултатите от сравнението за метаболита Cr има равнище на значимост (Sig.=0,025), по – малко от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средните нива на този метаболит.

Сравнението между здрави и МС пациенти за метаболита NAA има равнище на значимост (Sig.=0,151,  $\alpha=0,05$ ). С вероятност за сигурност от 95% може да твърдим, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средните нива на NAA.

### ОБСЪЖДАНЕ

ПрМРС е метод за изследване на мозъчни метаболити и промените в техните концентрации. Установихме увеличено ниво на холинови фосфолипиди в NAWM. Литературната справка за етапите, предшестващи появата на нова плака на демиелинизация в NAWM, отчита нарастване нивата на Cho метаболити. Данните кореспондират с отчитаните промени в NAWM при МС пациенти с ПРМС, представени в проучвания на други изследователски групи (219). При ПрМРС изследване и сравнение на получените данни за трите основни мозъчни метаболита – холин, креатин и N-ацетиласпартат се установява отчетлива промяна в концентрациите на

метаболитите с по – високи пикове при спектроскопско изследване на NAWM при пациентите с МС. Повишените нива на Cho отразяват засилена активност на Cho метаболизъм. Cho осигурява структурен интегритет и сигнална функция на клетъчните мембрани. Като компонент на фосфолипидите (фосфатидилхолин и сфингомиелин) изгражда клетъчната мембрана. Участва във формирането на миелиновите обвивки на нервните влакна (210, 211). Cr е маркер за енергийната хомеостаза. Получените данни демонстрират повишен енергиен обмен, вероятно поради интензивност на биохимични процеси в NAWM при изследваните МС пациенти.

Интерес предизвикват регистрираните по-високи нива на NAA. При болните с МС са установени три типа метаболитни модели: на остри и хронични плаки на демиелинизация и на нормален мозъчен паренхим (бяло мозъчно вещество извън зони на демиелинизация (NAWM)). Патологичният процес при МС преди поява на нова плака се съпровожда с повишен миоинозитол (mins), холин (Cho), лактат и липиди (LA). Повишената концентрация на холин-съдържащи метаболити се свързва основно с процес на възпаление, а не с промени на демиелинизация (220). След поява на плака на демиелинизация се отчита по-нататъшно увеличение на Cho, Cr и LA. Промени в нивата на лактат като мозъчен метаболит се свързват с остър възпалителен процес. Това е първата стъпка в еволюцията на фокус на демиелинизация. Намалената концентрация на NAA вероятно отразява невронна дисфункция, а не загуба. Метаболитните промени са най- силно изразени в центъра на плаката според данните от ПрМРС. Тези промени по отношение на NAA персистират и в хроничните плаки. Увеличените нива на Cho и Cr също може да персистират, докато това на LA се възстановява (13).

Нашето проучване представя данни за промените в мозъчните метаболити в NAWM, които поставят въпроси за ролята на тези проемни в етапите преди формиране на нова лезия на възпалителна демиелинизация.

## 5. КОРЕЛАЦИИ НА СРЕДНИ СТОЙНОСТИ НА ИЗМЕРЕНИ МЕТАБОЛИТИ И СРЕДЕН ОБЕМ НА ХИПОКАМПА

### 5.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

Корелационния анализ на хипокамп при здрави контроли и метаболитите, измерени чрез ПрМРС, не установява статистически значима връзка. Връзка се установява между метаболитите NAA и Cho, и NAA и Cr. Между NAA и Cho съществува умерена правопрпорционална връзка ( $r=+0.472$ ,  $p<0.05$ ), а между метаболитите NAA и Cr – значителна правопрпорционална връзка ( $r=+0.563$ ,  $p<0.05$ ).

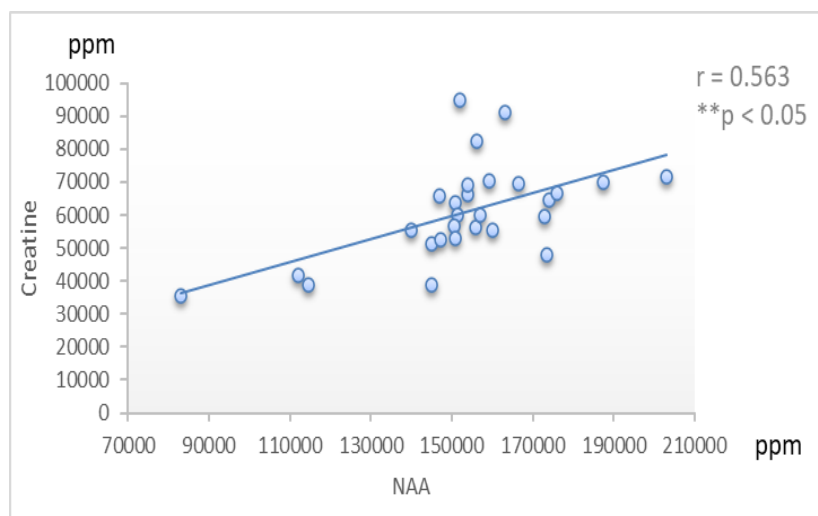
Таблица 11. Корелационни коефициенти между изследваните метаболити и хипокампа.

		Cho	Cr	NAA	Хипокампа
Cho	Корелация на Пирсън	1	.302	.472*	.320
	Равнище на значимост		.119	.011	.097
	Брой	28	28	28	28
Cr	Корелация на Пирсън	.302	1	.563**	.066
	Равнище на значимост	.119		.002	.738
	Брой	28	28	28	28
NAA	Корелация на Пирсън	.472*	.563**	1	.083
	Равнище на значимост	.011	.002		.675
	Брой	28	28	28	28
Хипокампа	Корелация на Пирсън	.320	.066	.083	1
	Равнище на значимост	.097	.738	.675	
	Брой	28	28	28	28

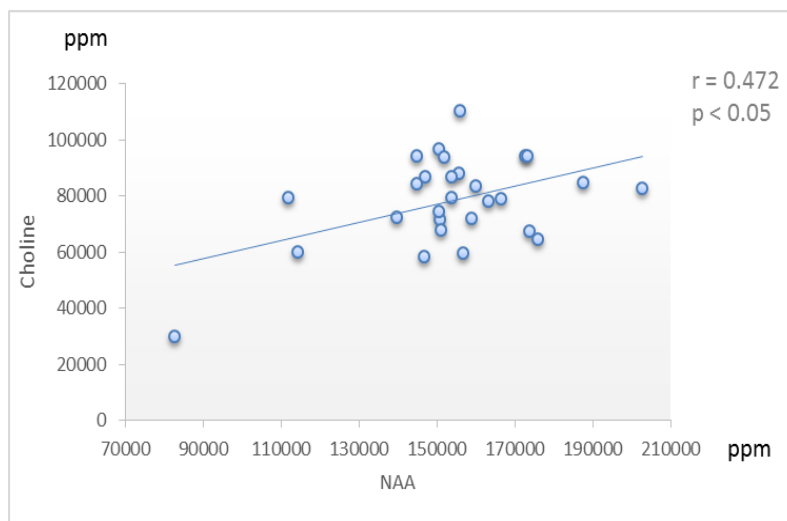
\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\* . Корелацията е значима при равнище от 5 %.



Фигура 30. Графично представяне на връзката между NAA и Cr при изследвана група здрави контроли. Установява се значителна правопрпорционална връзка ( $r=+0.563$ ,  $p<0.05$ ) между двата метаболита. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.



Фигура 31. Графично представяне на връзката между NAA и Cho при изследвана група здрави контроли. Установява се умерена правопрпорционална връзка ( $r=+0.472$ ,  $p<0.05$ ) между двата метаболита. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

## 5.2. БОЛНИ С МС

Таблица 12. Корелационни коефициенти между изследваните метаболити и хипокампа.

		Cho	Cr	NAA	Хипокамп
Cho	Корелация на Пирсън	1	.194	.254	.006
	Равнище на значимост		.177	.075	.965
	Брой	50	50	50	50
Cr	Корелация на Пирсън	.194	1	.665**	-.023
	Равнище на значимост	.177		.000	.872
	Брой	50	50	50	50
NAA	Корелация на Пирсън	.254	.665***	1	.038
	Равнище на значимост	.075	.000		.795
	Брой	50	50	50	50
Хипокамп	Корелация на Пирсън	.006	-.023	.038	1
	Равнище на значимост	.965	.872	.795	
	Брой	50	50	50	50

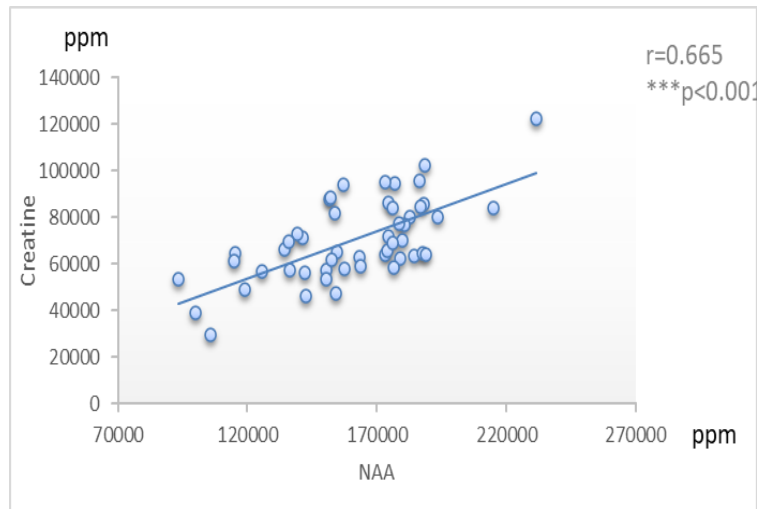
\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

Не се установи корелационна зависимост между промените в нивата на изследваните метаболити и обема на хипокампа при болните с МС.

Значителна правопрпорционална връзка ( $r=+0.665$ ,  $***p<0.001$ ) се установява между двата метаболита NAA и Cr.



Фигура 32. Графично представяне на връзката между NAA и Cr при изследвана група МС болни пациенти. Установява се, че между нивата на NAA – маркер за невронален интегритет и Cr – маркер за енергиен резерв и метаболизъм, съществува значителна правопрпорционална връзка ( $r=+0.665$ ,  $***p< 0.001$ ). Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.

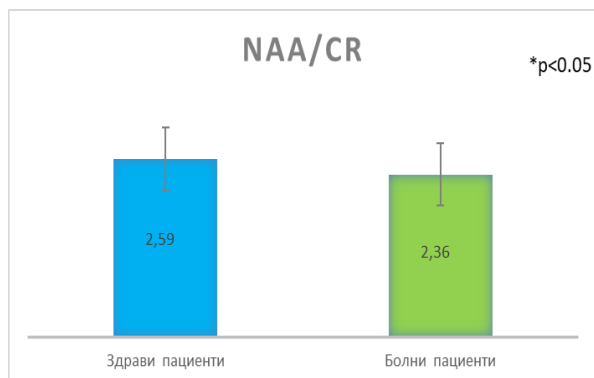
### ОБСЪЖДАНЕ

С оглед установената роля на всеки един от тези метаболити в поддържане на метаболитната хомеостаза на ЦНС, както и с оглед установените морфологични промени в обема на хипокампа при МС пациентите, потърсихме връзка между двата процеса – атрофия на хипокампа (основна структура в неврогенезата и участник в множество функционални кръгове) и метаболитната хомеостаза като механизъм за поддържане на структурните и функционални връзки. Анализирани бяха данните за обема на хипокампа при здрави контроли и МС пациенти, и се установи къде има наличие на статистически значима разлика.

Корелационният анализ не установи връзка на зависимост между редуцията в обема на хипокамп и промените в нивата на изследваните метаболити. Липсата на такава връзка ни дава основание да приемем, че регистрираните промени може би са компонент на компенсаторни механизми, реализирани в етапите преди възникване на лезии на демиелинизация. Установената при здравите контроли умерена до значителна, и при болните с МС значителна корелация между NAA и съответно Cr и Cho, предполага участие в общ механизъм на адаптация.

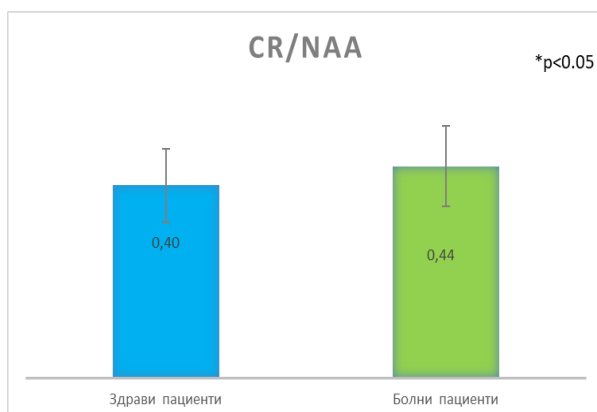
## 6. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА СЪОТНОШЕНИЯ МЕЖДУ МЕТАБОЛИТИ, ИЗМЕРЕНИ В NAWM ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

За отчитане на клиничната значимост на установените промени в мозъчните метаболити и за научни цели се отчитат промени в съотношенията на метаболитите, както следва: Cho/Cr, Cho/NAA, Cr/NAA, NAA/Cho, NAA/Cr.



Фигура 33. Средни стойности на отношението NAA/Cr при здрави контроли и болни с МС. Разликата в средните при здрави пациенти ( $x=2,59$  и  $\sigma=\pm 0,46$ ) и МС болните ( $x=2,36$  и  $\sigma=\pm 0,45$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при здравите контроли.



Фигура 34. Средни стойности на отношението Cr/NAA при здрави контроли и болни с МС. Разликата в средните при здрави пациенти ( $x=0,40$  и  $\sigma=\pm 0,08$ ) и болните с МС ( $x=0,44$  и  $\sigma=\pm 0,08$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при МС болните.

При тестване на съотношенията за нормално разпределение се оказва, че само едно е нормално разпределено (NAA/Cr) и за него ще бъде приложен параметричен метод на проверка на хипотезата за разлика между средните при болни с МС и здрави контроли (Т-тест). При всички останали ще бъде използван непараметричен тест (Mann-Whitney тест) за проверка на разликите (таблица 13).

*Таблица 13. Резултати от сравненията между групите за разликите в съотношенията на метаболитите на болни и здрави пациенти.*

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
NAA/Cr	Здрав	28	2.592	0.458	0.035	Да
	Болен	50	2.362	0.454		
Cho/Cr	Здрав	28	1.332	0.384	0.567	Не
	Болен	50	1.280	0.417		
Cho/NAA	Здрав	28	0.512	0.098	0.525	Не
	Болен	50	0.545	0.156		
NAA/Cho	Здрав	28	2.025	0.392	0.525	Не
	Болен	50	1.980	0.612		
Cr/NAA	Здрав	28	0.398	0.076	0.041	Да
	Болен	50	0.439	0.083		

Резултатите от сравнението между здрави контроли и болни с МС на съотношението NAA/Cr (Sig.=0,035,  $\alpha=0,05$ ) дават основание да твърдим с вероятност за сигурност от 95%, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средното съотношение на метаболитите NAA/Cr.

По отношение на Cr/NAA (Sig.=0,041,  $\alpha=0,05$ ) с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС.

Резултатите от сравнението между здрави контроли и болни с МС на съотношението на останалите метаболити Cho/Cr, Cho/NAA и NAA/Cho имат равнище на значимост по – голямо от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на тези показатели.

## ОБСЪЖДАНЕ

ПрМРС е единственият метод, специфичен за увреждания на определени клетъчни типове (13). При този метод се изследват протони в органични молекули на жива тъкан, а не тези на водата. Нормалният спектър на мозъка се представя с три резонансни пика на метаболитите. Първият пик се оформя от тетраметил амините (Cho), които са предимно холинови фосфолипиди. Те участват в синтез и разграждане на клетъчни мембрани. Втори пик се оформя от съдържанието на креатин и фосфокреатин (Cr). Те участват в енергийния метаболизъм. Третият пик е на N-ацетиловите групи (A), които обхващат невронно локализираните NAA. Четвърти пик може да се оформи, особено при патологичен процес, от лактати и липиди (LA).

Приема се, че нивото на Cr е относително стабилна величина. Поради това, за статистически анализ се използват съотношенията на изследваните метаболити.

При всички изследвани съотношения се установява промяна в групата на МС пациентите. Статистически значима разлика се потвърждава единствено за съотношенията NAA/Cr и Cr/NAA. Cr е маркер за енергиен резерв, а NAA – за невронален интегритет.

Получените данни демонстрират статистически значими промени в енергийната хомеостаза и невронната и глиална цялост. Анализът на промените предполага завишен енергиен обмен в зоните на интерес NAWM, с оглед поддържане на невронния интегритет.

## 7. ПОЛ И МЕТАБОЛИТИ ПРИ ЗДРАВИ КОНТРОЛИ И МС БОЛНИ

Потърсихме възможно влияние на пола върху промените в мозъчните метаболити. Анализирахме предполагаема статистическа разлика между съотношенията на изследваните метаболити по пол: Cho/Cr, Cho/NAA, Cr/NAA, NAA/Cho, NAA/Cr.

### 7.1. МЪЖЕ

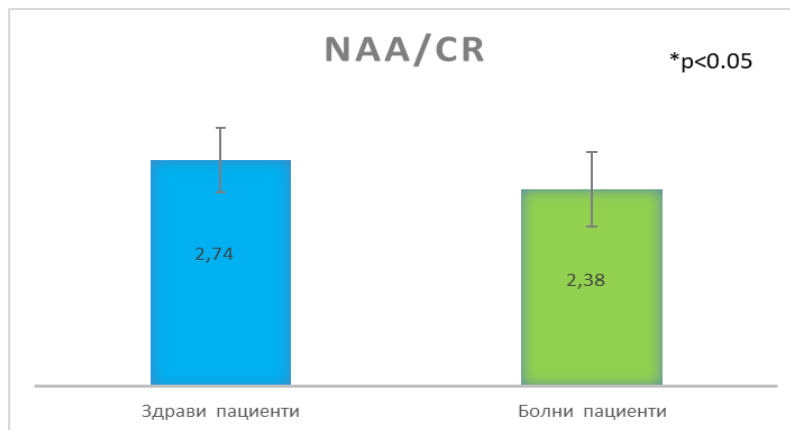
При тестване на съотношения за нормално разпределение се оказва, че единствено отношението Cho/Cr е нормално разпределено и за него ще бъде приложен непараметричен метод на проверка на хипотезата за разлика между средните при болни и здрави пациенти (Mann-Whitney тест). При всички останали ще бъде използван параметричен тест (Т-тест) за проверка на разликите (таблица 14).

Таблица 14. Резултати от сравненията между групите за разликите в съотношенията на метаболитите на болни и здрави мъже пациенти.

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
Cho/Cr	Здрав	14	1.264	0.432	0.567	Не
	Болен	21	1.291	0.404		
Cho/NAA	Здрав	14	.515	0.115	0.436	Не
	Болен	21	0.551	0.146		
NAA/Cho	Здрав	14	2.031	0.438	0.453	Не
	Болен	21	1.917	0.437		
NAA/Cr	Здрав	14	2.447	0.490	0.530	Не
	Болен	21	2.343	0.467		
Cr/NAA	Здрав	14	0.423	0.083	0.505	Не
	Болен	21	0.443	0.086		

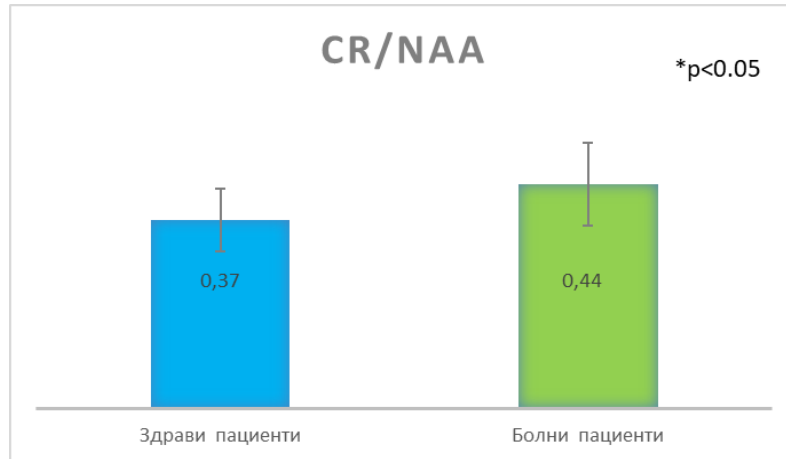
Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли мъже и МС болни мъже ( $\alpha=0,05$ ).

## 7.2. ЖЕНИ



Фигура 35. Средни стойности на отношението NAA/Cr при здрави жени и МС болни жени. Разликата в средните при здравите жени ( $x=2,74$  и  $\sigma=\pm 0,39$ ) и МС болните жени ( $x=2,38$  и  $\sigma=\pm 0,45$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при здравите контроли жени.



Фигура 36. Средни стойности на отношението Cr/NAA при здрави жени и МС болни жени. Разликата в средните при здравите жени ( $x=0,37$  и  $\sigma=\pm 0,06$ ) и МС болните жени ( $x=0,44$  и  $\sigma=\pm 0,08$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при МС болните жени. При тестване на съотношения за нормално разпределение се оказва, че нормално разпределени са NAA/Cr и Cho/Cr. За тях ще бъде приложен параметричен метод на проверка на хипотезата за разлика между средните при болни и здрави пациенти жени (Т-тест). При всички останали ще се използва непараметричен тест (Mann-Whitney тест) (Таблица 15).

Таблица 15. Резултати от сравненията между групите за разликите в съотношенията на метаболитите на болни и здрави жени пациенти.

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
NAA/Cr	Здрав	14	2.738	0.387	0.014	Да
	Болен	29	2.376	0.451		
Cho/Cr	Здрав	14	1.400	0.330	0.337	Не
	Болен	29	1.272	0.433		
Cho/NAA	Здрав	14	0.509	0.082	0.917	Не
	Болен	29	0.541	0.165		
NAA/Cho	Здрав	14	2.018	0.357	0.917	Не
	Болен	29	2.026	0.717		
Cr/NAA	Здрав	14	0.378	0.062	0.005	Да
	Болен	29	0.436	0.082		

Сравнението между здрави жени и МС пациенти жени за съотношението NAA/Cr има равнище на значимост (Sig.=0,014,  $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средното съотношение на метаболитите NAA/Cr.

Има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средното съотношение на метаболитите Cr/NAA (Sig.=0,005).

Резултатите от сравнението между здрави жени и МС пациентки за съотношението на останалите метаболити Cho/Cr, Cho/NAA и NAA/Cho имат равнище на значимост по – голямо от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% при тях може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средните им съотношения.

## ОБСЪЖДАНЕ

След проверка за разлика между установените промени в съотношенията на мозъчни метаболити и пол се установи, че статистически значима разлика в изследваните съотношения е налице само при жените.

Следователно факторът женски пол има съществено влияние по отношение на наблюдаваните промени. В този смисъл следва да вземем предвид ролята на естроген в биосинтетичните процеси и значението му за неврогенезата. Литературната справка отчита ролята на естроген за поддържане нивото на Cho в серум в необходимите параметри. Трябва да се отбележи, че статистически значима разлика бе установена по отношение на обема на хипокампа отново в групата на пациентите – жени. Независимо, че не се установи корелация между промените в нивата на отделните метаболити и обема на хипокампа. Нашето проучване отчете и по-високи нива на депресия отново при болните МС жени.

Естрогенът взаимодейства с невротрансмитерни системи, като серотонин, допамин, адреналин, норадреналин. Те са активни участници в контрола на емоционалния баланс. Мозъчни структури като хипокампа са под въздействие на естроген независимо от малочисления брой клетъчни нуклеарни естрогенови рецептори (ER) (154). Малък брой клетки в ЦНС, съдържащи рецептори за естроген, оказват мощно транс-синаптично влияние върху други неврони (напр. GABA инхибиторни неврони). Посредством регулиране активността на PEMT и ендогения синтез на холин, естрогенът индиректно оказва ефект върху процесите на по отношение ДНК – метилиране. Така се включва в процесите на морфогенеза. Промените в обема на хипокампа се асоциират с наличие на мозъчна атрофия, т.е. процес

на невродегенерация при МС пациентите. Хипокампът е ключова структура в процесите на когниция. Данните от проведените в двете групи тестове за оценка на невропсихологичното функциониране също отразяват наличие на промени в групата на МС пациентите. Нарушенията в невропсихологичното представяне, отчетени чрез приложените тестове в нашето проучване, отразяват невродегенеративни промени, в частност синдром на дисконекция.

## 8. КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ ОБЕМА НА ХИПОКАМПА И ПАРАМЕТРИТЕ ЗА ОЦЕНКА НА НЕВРОПСИХОЛОГИЧНОТО ФУНКЦИОНИРАНЕ

Потърсихме корелация между промените в невропсихологичното функциониране, оценени с приложените тестове за когниция, депресия и умора, и обема на хипокампа при двете изследвани групи – здрави контроли и болни пациенти.

### 8.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

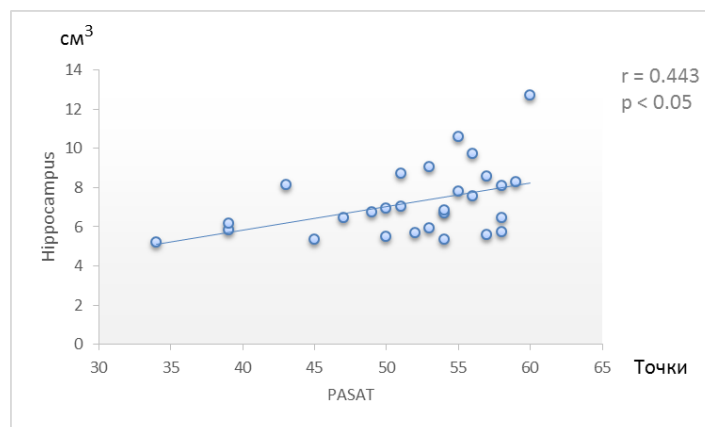
Таблица 16. Корелационни коефициенти при здрави контроли между направените тестове

		SDMT	PASAT	FSS	Goldberg	Beck
Хипокамп	Корелация на Пирсън	.034	.443*	-.044	.272	-.030
	Равнище на значимост	.865	.018	.823	.161	.880
	Брой	28	28	28	28	28

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.



Фигура 37. Графично представяне на връзката между PASAT – 3s и среден обем на хипокампа при изследвана група здрави контроли. Установява се умерена правопрпорционална връзка ( $r=+0.443$ ,  $p<0.05$ ) между обема на хипокампа и PASAT – 3s. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

## 8.2. БОЛНИ С МС

Таблица 17. Корелационни коефициенти при болни пациенти между направените тестове

		SDMT	PASAT	FSS	Goldberg	Beck
Хипокамп	Корелация на Пирсън	.118	.164	.177	.202	.050
	Равнище на значимост	.415	.254	.218	.160	.733
	Брой	50	50	50	50	50

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\* . Корелацията е значима при равнище от 5 %.

При болните с МС не се наблюдава зависимост при никой от тестовете и обема на хипокампа.

### ОБСЪЖДАНЕ

Хипокампът е ключова структура в процесите на когниция и реализиране на емоционалното поведение. Проучвания върху обема на хипокамп при пациенти с голям депресивен епизод и при такива с провеждане на антодепресантна терапия отчитат обратими промени в тази структура (213).

В нашето проучване установихме редукция в обема на хипокамп в групата на болните с МС спрямо здравите контроли. Промените в обема на хипокампа се асоциират с наличие на мозъчна атрофия, т.е. процес на невродегенерация при МС пациентите. Данните от проведените в двете групи тестове за оценка на невропсихологичното функциониране също отразяват наличие на промени в групата на МС пациентите. Нарушенията в невропсихологичното представяне, отчетени чрез приложените тестове в нашето проучване, може да се свържат с невродегенеративни промени, в частност синдром на дисконекция. Проверката за връзка между промените в обема на хипокампа, влошеното когнитивното представяне и промените в афекта, не установиха зависимост при болните с МС.

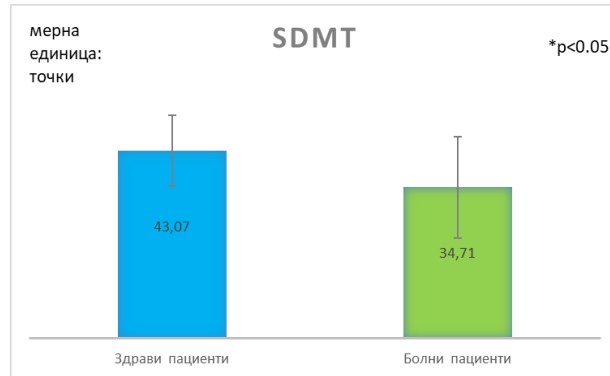
## 9. ПОЛ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

Потърсихме статистическа разлика при сравнение по пол между здрави контроли и болни с МС по отношение на невропсихологичното представяне, оценено чрез когниция, умора и депресия с тестове SDMT, PASAT- 3s, FSS, GDI и BDI.

От предходно тестване на променливите е известно, че те не са нормално разпределени и трябва да се приложи непараметричен метод за

проверка наличие на статистическа разлика между болните с МС и здравите контроли по пол.

### 9.1. МЪЖЕ



Фигура 38. Средни стойности на SDMT при здрави и болни мъже. Разликата в средните нива на SDMT при здравите ( $x=43,07$  и  $\sigma=\pm 8,07$ ) и болните пациенти ( $x=34,71$  и  $\sigma=\pm 11,61$ ) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Резултатите показват, че при мъжете само при променлива SDMT съществува статистически значима разлика между здрави контроли и болни с МС. Този извод може да се твърди с вероятност от 95%.

Таблица 18. Резултати от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между болни и здрави мъже пациенти.

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	Здрав	14	52.930	4.463	0.648	Не
	Болен	21	47.050	14.123		
SDMT	Здрав	14	43.070	8.071	0.023	Да
	Болен	21	34.710	11.611		
FSS	Здрав	14	25.140	11.967	0.735	Не
	Болен	21	24.760	13.341		
GDI	Здрав	14	6.290	8.462	0.342	Не
	Болен	21	8.480	9.389		
BDI	Здрав	14	2.000	2.287	0.458	Не
	Болен	21	4.140	5.868		

### 9.1.1. МЪЖЕ БОЛНИ С МС

Таблица 19. Корелационни коефициенти при МС болни мъже между направените тестове:

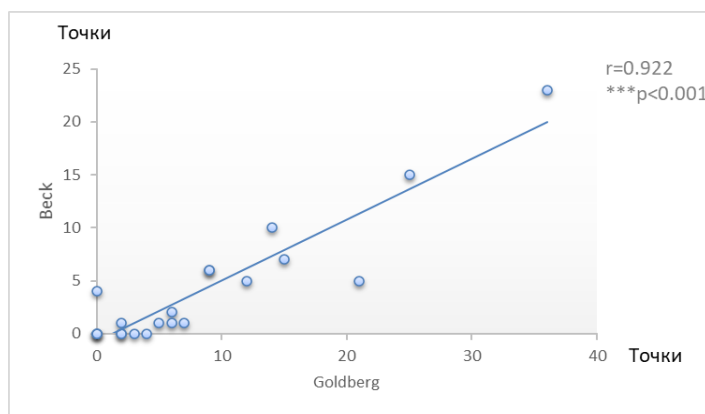
		PASAT	SDMT	FSS	GDI	BDI
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.737**	-.382	-.102	-.029
	Равнище на значимост		.000	.087	.661	.901
	Брой	21	21	21	21	21
SDMT	Корелация на Пирсън	.737**	1	-.381	-.067	.008
	Равнище на значимост	.000		.088	.774	.973
	Брой	21	21	21	21	21
FSS	Корелация на Пирсън	-.382	-.381	1	.708**	.638**
	Равнище на значимост	.087	.088		.000	.002
	Брой	21	21	21	21	21
GDI	Корелация на Пирсън	-.102	-.067	.708**	1	.922**
	Равнище на значимост	.661	.774	.000		.000
	Брой	21	21	21	21	21
BDI	Корелация на Пирсън	-.029	.008	.638**	.922**	1
	Равнище на значимост	.901	.973	.002	.000	
	Брой	21	21	21	21	21

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

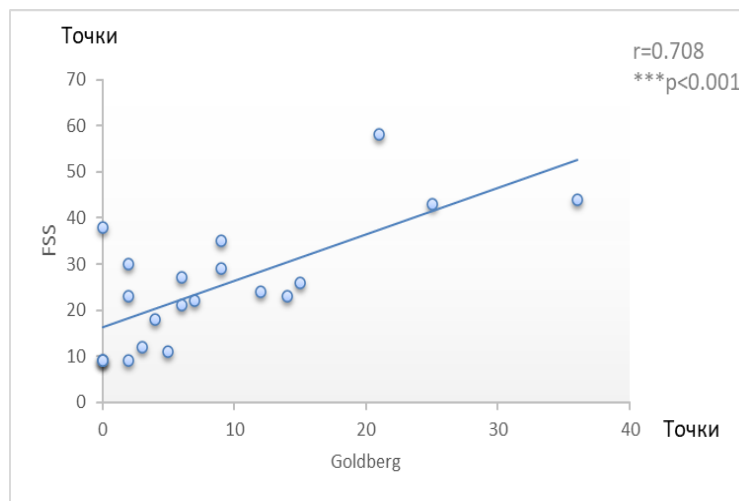
\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

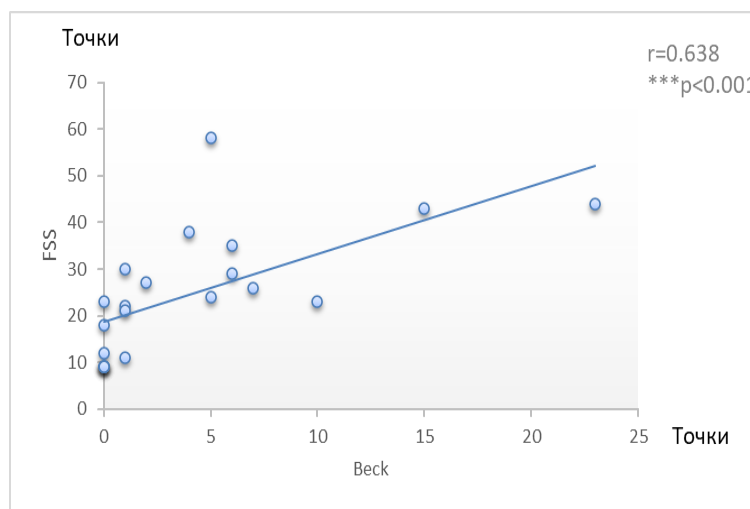
Установява се, че между умората (FSS) и депресията, оценена по скалата на Векс съществува значителна правопрпорционална връзка. Между използваните тестове за когнитивно оценяване PASAT – 3s и SDMT, между депресията, оценена по скалата на Goldberg и умората (FSS), и между двата самооценъчни теста за депресия Goldberg и Векс съществува висока правопрпорционална връзка.



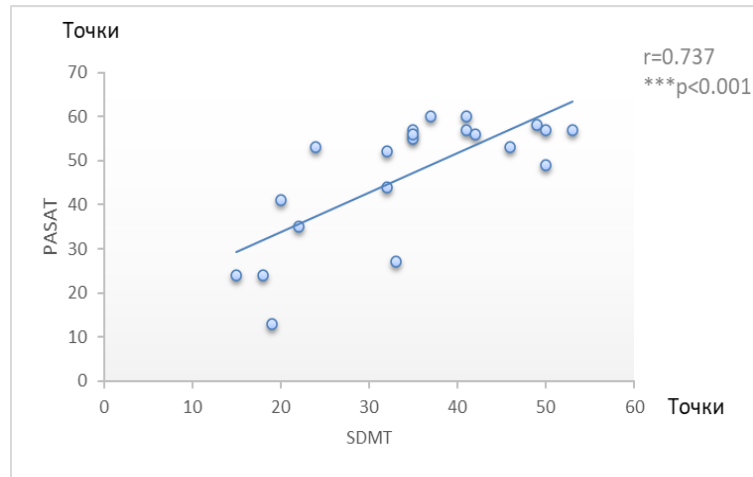
Фигура 39. Графично представяне на връзката между GDI и BDI при изследваните МС пациенти мъже. Установява се много висока правопрпорционална връзка ( $r = +0.922$ ,  $***p < 0.001$ ). Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 40. Графично представяне на връзката между GDI и FSS при изследваните МС пациенти мъже. Установява се висока правопрпорционална връзка ( $r = +0.708$ ,  $***p < 0.001$ ) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 41. Графично представяне на връзката между BDI и FSS при изследваните МС пациенти мъже. Установява се значителна правопрпорционална връзка ( $r = +0.638$ ,  $***p < 0.001$ ) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 42. Графично представяне на връзката между SDMT и PASAT при изследваните МС пациенти мъже. Установява се висока правопрпорционална връзка ( $r = +0.737$ ,  $***p < 0.001$ ) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.

### 9.1.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ МЪЖЕ

Таблица 20. Корелации при здрави мъже пациенти:

		PASAT	SDMT	FSS	GDI	BDI
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.034	.316	.166	.460
	Равнище на значимост		.907	.272	.572	.098
	Брой	14	14	14	14	14
SDMT	Корелация на Пирсън	.034	1	-.095	.425	.225
	Равнище на значимост	.907		.747	.129	.439
	Брой	14	14	14	14	14
FSS	Корелация на Пирсън	.316	-.095	1	.210	-.059
	Равнище на значимост	.272	.747		.471	.841
	Брой	14	14	14	14	14
GDI	Корелация на Пирсън	.166	.425	.210	1	.445
	Равнище на значимост	.572	.129	.471		.111
	Брой	14	14	14	14	14
BDI	Корелация на Пирсън	.460	.225	-.059	.445	1
	Равнище на значимост	.098	.439	.841	.111	
	Брой	14	14	14	14	14

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

При здравите мъже не се открива значима корелационна връзка между никой от тестовете.

## 9.2. ЖЕНИ

Потърси се статистически значима разлика по отношение невропсихологичното представяне между двете групи жени. Изследваните променливи не са нормално разпределени (таблица 21).

*Таблица 21. Резултати от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между болни и здрави жени пациенти.*

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически и значима разлика
PASAT	Здрав	14	48.140	5.763	0.248	Не
	Болен	29	43.860	12.420		
SDMT	Здрав	14	50.430	8.159	0.116	Не
	Болен	29	46.340	12.090		
FSS	Здрав	14	22.790	10.078	0.517	Не
	Болен	29	28.590	17.332		
GDI	Здрав	14	8.500	8.383	0.145	Не
	Болен	29	14.860	13.564		
BDI	Здрав	14	5.710	4.304	0.370	Не
	Болен	29	8.450	7.790		

Жените от групата на болните с МС постигат по – нисък резултат при изпълнение на PASAT – 3s. Не се установява статистически значима разлика между двете групи (здравите  $50,43 \pm 8,16$  точки и болните  $46,34 \pm 12,09$  точки).

При провеждане на когнитивен тест SDMT при жени от двете изследвани групи, жените от групата на МС пациентите постигат по-нисък резултат при изпълнение на SDMT: здравите  $48,14 \pm 5,76$  точки спрямо болните  $43,86 \pm 12,42$  точки. Представят се с по – висок резултат при попълване на FSS теста за наличие на умора.

Оценка на данните с прилагане на Likert скала изчислява средно ниво на умора в групата на здравите контроли  $2,53 \pm 1,12$ . В групата на МС пациентите жени, резултатът е  $3,51 \pm 1,93$ .

При сравнение на данните от попълване на самооценъчен тест за депресия BDI и GDI теста при жени от двете изследвани групи, жените от групата на МС пациентите представят по – изразена депресивна симптоматика при самооценка.

Анализът на данните показва, че при жените не съществува статистически значима разлика между здравите контроли и МС пациенти при нито един от тестовете. Този извод може да се твърди с вероятност от 95%.

### 9.2.1. ЖЕНИ БОЛНИ С МС

Установява се, че между Beck и FSS, BDI и GDI, и между PASAT – 3s и SDMT съществува значителна правопрпорционална връзка. Между FSS и GDI съществува висока правопрпорционална връзка. Единствено при SDMT и BDI се наблюдава умерена отрицателна корелация.

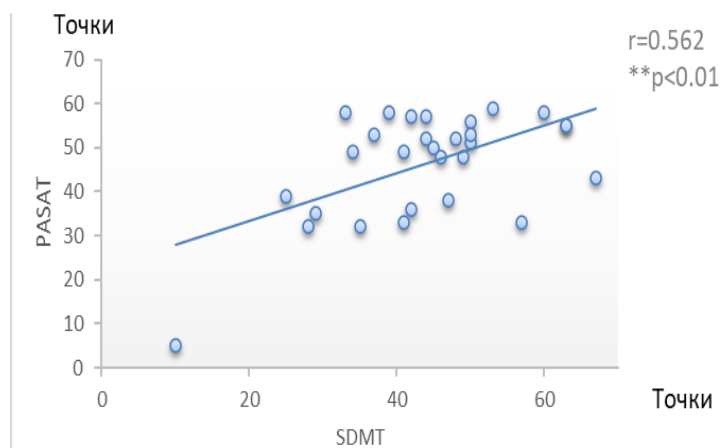
Таблица 22. Корелационни коефициенти при МС болни жени между направените тестове

		PASAT	SDMT	FSS	GDI	BDI
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.562**	-.092	-.248	-.316
	Равнище на значимост		.002	.636	.195	.095
	Брой	29	29	29	29	29
SDMT	Корелация на Пирсън	.562**	1	-.163	-.288	-.377*
	Равнище на значимост	.002		.397	.129	.044
	Брой	29	29	29	29	29
FSS	Корелация на Пирсън	-.092	-.163	1	.766***	.693**
	Равнище на значимост	.636	.397		.000	.000
	Брой	29	29	29	29	29
GDI	Корелация на Пирсън	-.248	-.288	.766**	1	.631**
	Равнище на значимост	.195	.129	.000		.000
	Брой	29	29	29	29	29
BDI	Корелация на Пирсън	-.316	-.377*	.693***	.631***	1
	Равнище на значимост	.095	.044	.000	.000	
	Брой	29	29	29	29	29

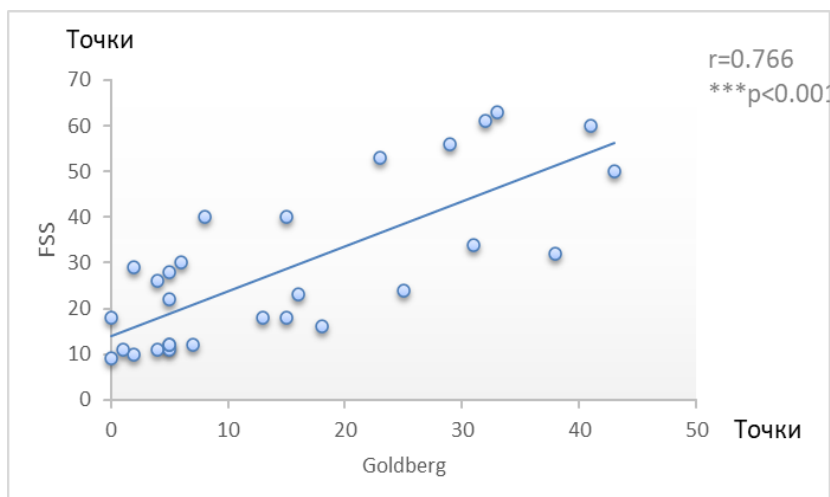
\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

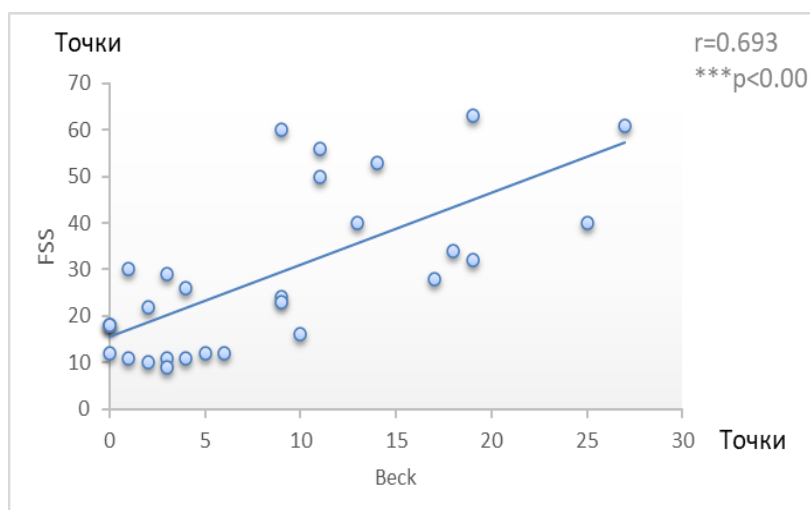
\*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.



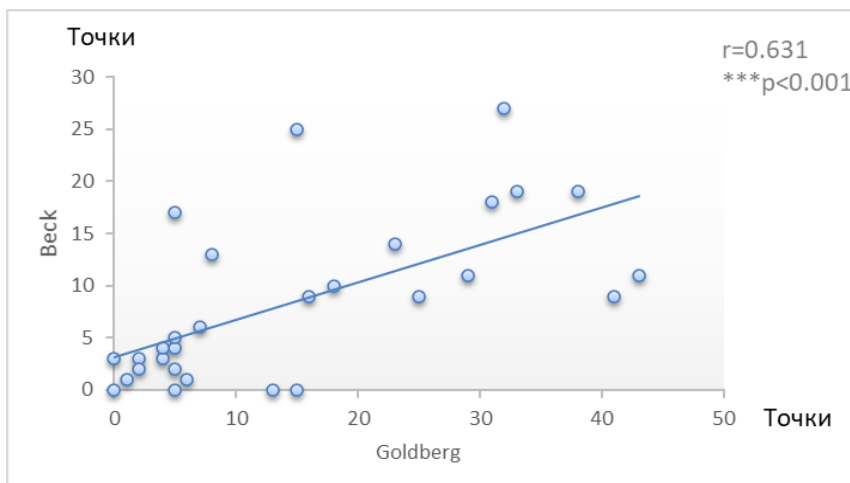
Фигура 43. Графично представяне на връзката между PASAT – 3s и SDMT при изследваните МС пациенти жени. Установява се значителна правопрпорционална връзка ( $r = +0.562$ ,  $**p < 0.01$ ) при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99%.



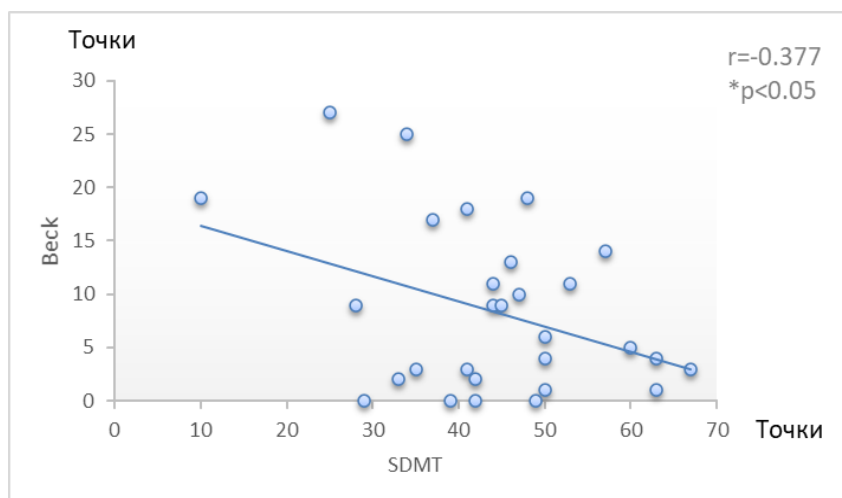
Фигура 44. Графично представяне на връзката между GDI и FSS при изследваните МС жени. Установява се висока правопрпорционална връзка ( $r = +0.766$ ,  $***p < 0.001$ ) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 45. Графично представяне на връзката между BDI и FSS при изследваните МС пациенти жени. Установява се значителна правопрпорционална връзка ( $r = +0.693$ ,  $***p < 0.001$ ) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 46. Графично представяне на връзката между GDI и BDI при изследваните МС пациенти жени. Установява се значителна правопрпорционална връзка ( $r=+0.631$ ,  $***p<0.001$ ) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 47. Графично представяне на връзката между BDI и SDMT при изследваните МС пациенти жени. Установява се умерена обратнопропорционална връзка ( $r=-0.377$ ,  $*p<0.05$ ) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

## 9.2.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ ЖЕНИ

Таблица 23. Корелации при жени здрави контроли:

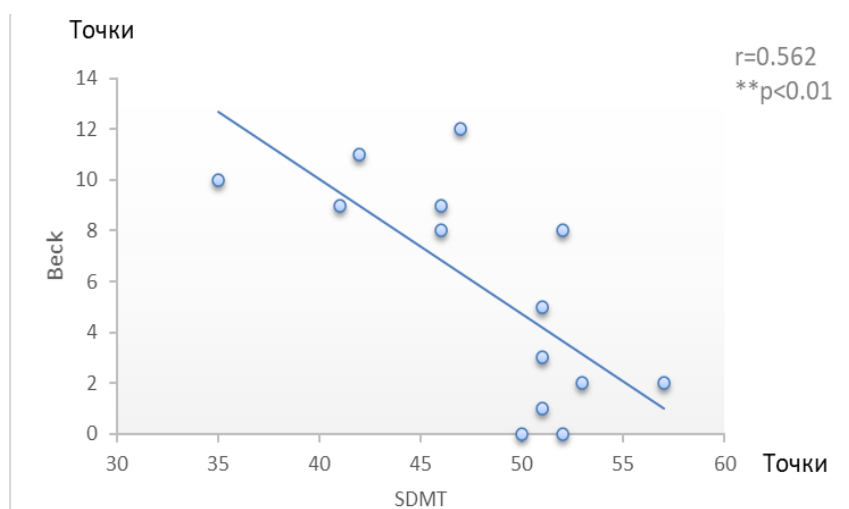
		PASAT	SDMT	FSS	GDI	BDI
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.391	-.157	-.008	-.147
	Равнище на значимост		.167	.592	.979	.615
	Брой	14	14	14	14	14
SDMT	Корелация на Пирсън	.391	1	.227	-.229	-.711**
	Равнище на значимост	.167		.435	.430	.004
	Брой	14	14	14	14	14
FSS	Корелация на Пирсън	-.157	.227	1	.453	-.067
	Равнище на значимост	.592	.435		.104	.820
	Брой	14	14	14	14	14
GDI	Корелация на Пирсън	-.008	-.229	.453	1	.484
	Равнище на значимост	.979	.430	.104		.080
	Брой	14	14	14	14	14
BDI	Корелация на Пирсън	-.147	-.711**	-.067	.484	1
	Равнище на значимост	.615	.004	.820	.080	
	Брой	14	14	14	14	14

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\* . Корелацията е значима при равнище от 5 %.

Единствено при SDMT и BDI се наблюдава значителна отрицателна корелация по отношение на изследваните тестове при жени здрави контроли.



Фигура 48. Графично представяне на връзката между BDI и SDMT при изследваните здрави жени. Установява се висока обратнопропорционална връзка ( $r=-0.711$ ,  $**p<0.01$ ) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99%.

## ОБСЪЖДАНЕ

Проучването на промените в неврокогнитивното функциониране според пола отчете влошено представяне в групата на МС болните и при двата пола. Установихме статистически значими промени единствено по отношение изпълнението на теста SDMT в групата на мъжете болни с МС. Тестът оценява внимание, разпределяемост на вниманието и скорост на обработка на информацията. чието изпълнение е функция на връзките между корови и подкорови структури. Нашите данни демонстрират статистически значимо влошаване на посочените когнитивни функции. Потърсихме връзка между когнитивното представяне, умората и депресията, за да проверим влиянието на факторите умора и депресия върху когнитивното представяне. При здравите мъже не се открива значима корелационна връзка. При мъжете с МС се установява значителна правопрпорционална връзка между умората (FSS) и депресията (BDI) и висока правопрпорционална връзка между FSS и GDI. Висока правопрпорционална връзка се открива и между използваните тестове за когнитивно оценяване PASAT – 3s и SDMT, и между двата самооценъчни теста за депресия BDI и GDI. Този факт подкрепя надеждността на приложените тестове при оценка на неврокогнитивните параметри.

Анализът при жените, включени в проучването установява влошено представяне при всички проведени тестове в групата на жениет с МС. При провеждане на когнитивен тест SDMT при жени от двете изследвани групи, жените от групата на МС пациентите постигат по-нисък резултат при изпълнение на SDMT. При тях се отчита по – високо ниво на самооценката за наличие на умора от FSS теста.

Жените от групата на болните с МС отчитат по – изразена депресивна симптоматика при изпълнение на BDI и GDI теста. Депресионният инвентар на Голдбърг отчита освен наличие на депресия, така също и тревожност. Потърсена и установена е корелация между двата теста за депресия. Установява се значителна правопрпорционална връзка между тях. Следователно факторът тревожност вероятно допринася за по-изразената депресивна симптоматика, отчетена с GDI при сравнение на здравите контроли с МС пациентките жени.

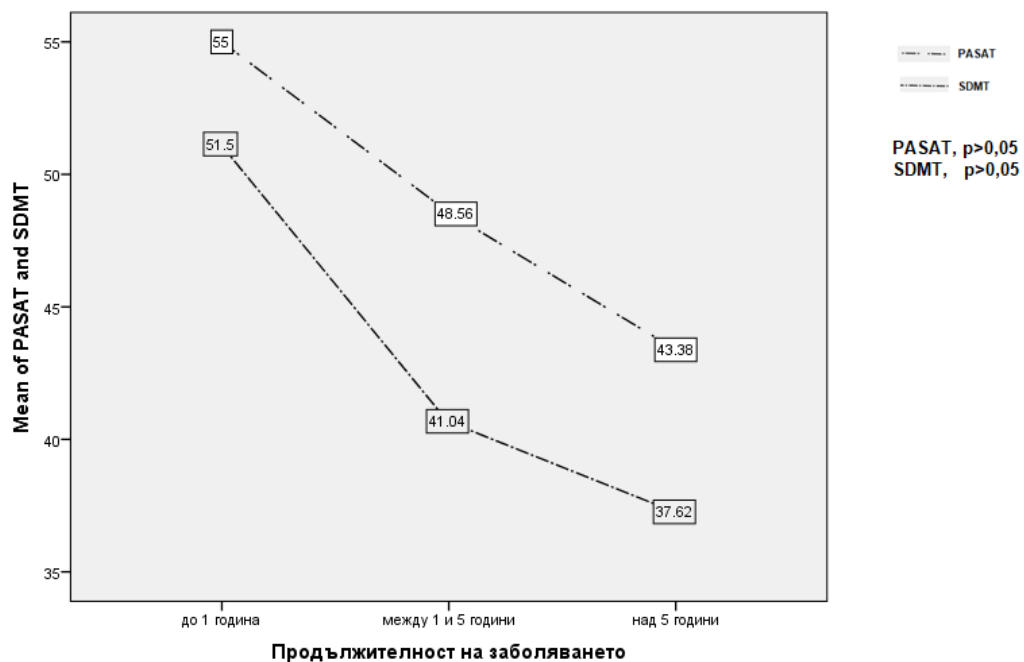
Промените при изследваните жени с МС не са статистически значими. Не се установи статистически значима разлика между здрави контроли и МС пациенти при нито един от тестовете. При тестване за статистически значима разлика по демографски фактори между двете групи, обект на проучването, не се откриват съществени различия (таблица 1). Групите са сходни по отношение на пол, образование, работна заетост и възраст, и те не оказват влияние в тестваните анализи. Следва да приемем, че съществува друг

фактор, свързан с пола, който определя отчетените разлики в когнитивното представяне.

#### 10. ДАВНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

Проверихме, съществува ли статистически значима разлика между FSS, PASAT – 3s, SDMT, GDI и BDI при различна продължителност на заболяването.

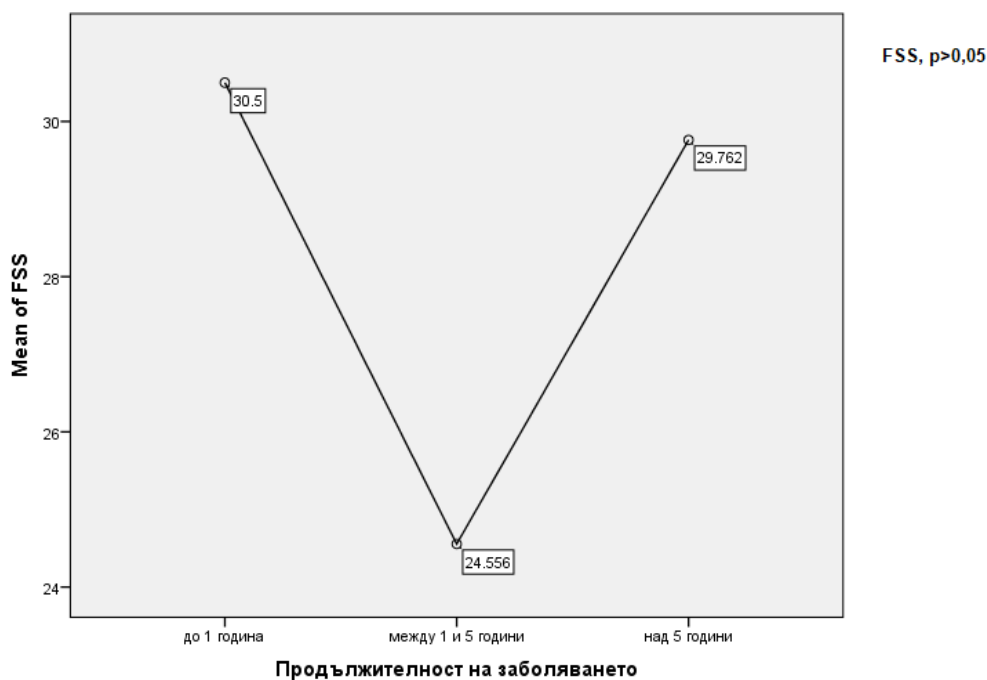
На фигурите по – долу са представени средните стойности при всяка от изследваните променливи според продължителността на заболяването.



Фигура 49. Графично представяне на промените в PASAT – 3s и SDMT при МС пациентите в зависимост от продължителността на заболяването.

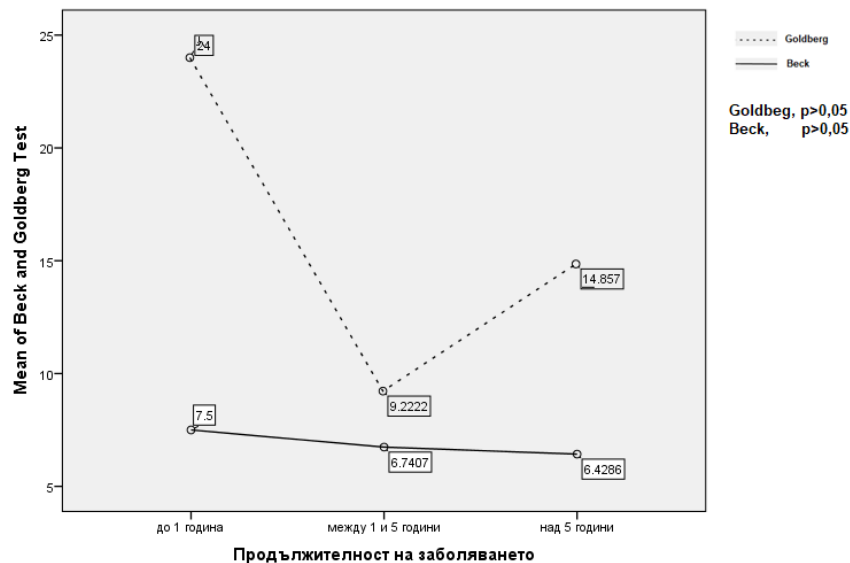
Факторът давност на заболяването при МС влияе върху процеса на атрофия. Пациентите с ПРМС преминават във ВПМС около 10 години след начало на заболяването (13). Налице е трайна тенденция за влошено представяне при изпълнението и на двата теста с нарастване продължителността на заболяването.

## 11. УМОРА, ДЕПРЕСИЯ И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ



Фигура 50. Промени в резултат от FSS при МС пациентите в зависимост от продължителността на заболяването.

Отчита се тенденция за нарастване на умората с напредване продължителността на болестта в периода 1-5 години от началото. Максимална умора се докладва от МС пациентите около 3,5 години след доказване на диагнозата. Наблюдаваната обратна тенденция – намаляване на умората след около 4-5 години от началото вероятно се дължи на влиянието на тревожността, свързана с поставената диагноза и ефекта на стабилния неврологичен статус в течение на провежданото лечение при пациентите. Всички изследвани МС пациенти са с максимална степен на инвалидност EDSS=3.5 точки и са активно работещи на пълен работен ден. Следователно би могло да се предположи, че работната заетост допринася за намаляване на тревожността и съответно, се отразява на субективната оценка на умората съобщавана от болните с МС.



Фигура 51. Наличие на депресия, оценено чрез прилагане на BDI и GDI при МС пациентите в зависимост от продължителността на заболяването.

Проверката за разпределението на резултатите отчита, че разпределението в никоя група не е нормално или случаите в групата са прекалено малко за да се изчисли такова.

Таблица 24. Резултати от сравненията между изследваните тестове при различна продължителност на заболяването.

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	до 1 година	2	55.00	5.657	<b>0.484</b>	Не
	между 1 и 5 години	27	48.56	10.112		
	над 5 години	21	43.38	15.708		
SDMT	до 1 година	2	51.50	2.121	<b>0.202</b>	Не
	между 1 и 5 години	27	41.04	11.278		
	над 5 години	21	37.62	14.682		
FSS	до 1 година	2	30.50	27.577	<b>0.670</b>	Не
	между 1 и 5 години	27	24.56	13.285		
	над 5 години	21	29.76	17.964		
GDI	до 1 година	2	24.00	26.870	<b>0.111</b>	Не
	между 1 и 5 години	27	9.22	10.368		
	над 5 години	21	14.86	12.705		
BDI	до 1 година	2	7.50	4.950	<b>0.793</b>	Не
	между 1 и 5 години	27	6.74	7.409		
	над 5 години	21	6.43	7.613		

Получените резултати показват, че всички равнища на значимост са по-големи от приетия риск за грешка, което означава, че няма статистически

значима разлика в средните стойности между трите групи по продължителност на заболяването т.е. няма връзка между продължителността на заболяването и изброените тестове.

## 12. EDSS И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

Известно е, че невродегенерацията с аксонна и невронна загуба води до мозъчна атрофия, прогресиращ неврологичен дефицит и корелира със степента на инвалидност (14). Затова ще се оцени влиянието на степента на инвалидност, представена като оценка по EDSS, върху когнитивните промени, умората и депресията при изследваните МС пациенти. Потърсена е статистически значима разлика между FSS, PASAT – 3s, SDMT, Goldberg и Beck при различните категории на инвалидния статус на пациентите (EDSS).

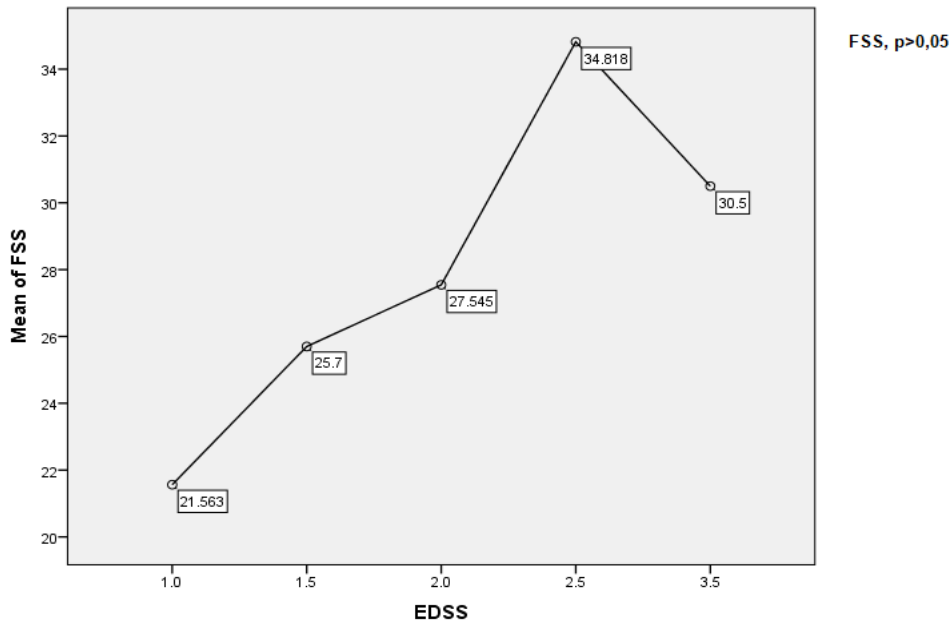
Според оценката на инвалидния статус се оформят повече от две групи, за тази проверка се приложи дисперсионен анализ или негов аналог в зависимост от това дали условията за приложението му са изпълнени. Дисперсионният анализ сравнява дали има статистически значима разлика едновременно в няколко групи. При наличие на такава, това означава, че групиращата променлива оказва влияние върху изследваната променлива. В противен случай, независимо от инвалидния статус на пациента по изследвания показател между групите няма статистически значима разлика. Той може да се използва и в случаи, когато има сравнение между две групи, и се изследва дали една променлива оказва влияние върху друга т.е. дали има връзка между променливите както е в анализирания по-долу случаи.

Условията за приложение на дисперсионния анализ са следните:

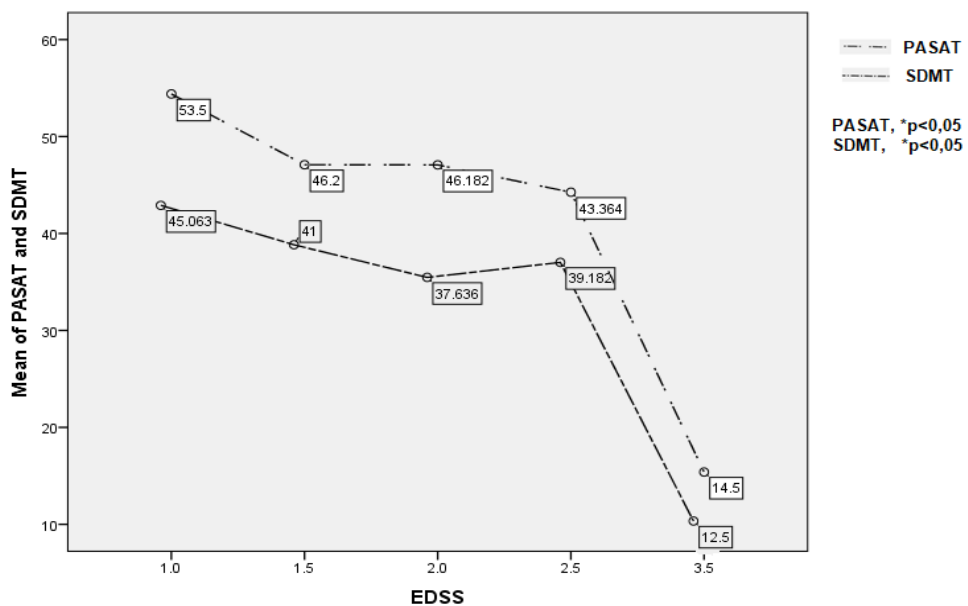
- разпределението на променливата да бъде нормално във всяка група;
- дисперсиите да бъдат приблизително равни;

Ако някое от условията не е изпълнено, се използва непараметричния аналог на Кръскал-Уолис (Kruskal-Wallis).

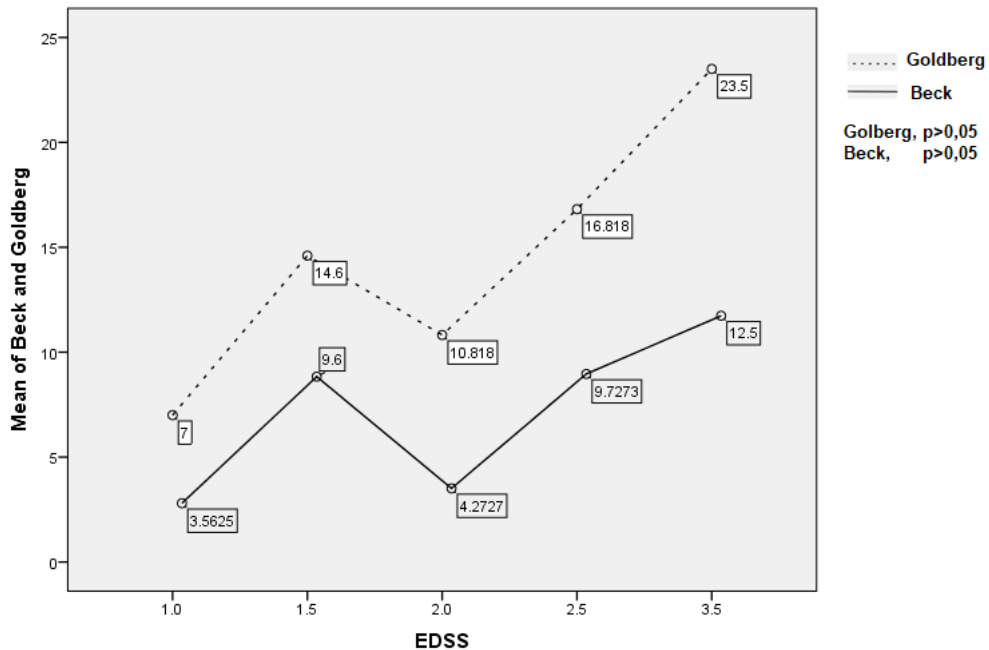
На фигурите по-долу са представени средните стойности при всяка от изследваните променливи според инвалидния статус.



Фигура 52. Средна стойност на FSS в зависимост от EDSS оценка на степен на инвалидност при МС пациентите. Наблюдава се тенденция за нарастване на умората с увеличаване на степента на инвалидност.



Фигура 53. Средна стойност на PASAT – 3s и SDMT в зависимост от EDSS оценка на степен на инвалидност при МС пациентите. Резултатите от двата приложени теста за оценка на когнитивното функциониране демонстрират трайна тенденция за влошена когнициция с нарастване на степента на инвалидност.



Фигура 54. Средна стойност на GDI и BDI оценка в зависимост от EDSS оценка на степен на инвалидност при МС пациентите. При самооценъчните скали за депресия не се наблюдава определена тенденция с нарастване на степента на инвалидност.

Разпределението на някои от променливите в групите не е нормално. За тях е използван непараметричен аналог на дисперсионен анализ.

Таблица 25 представя резултатите от сравнението между различните стойности на инвалидност. Сравнението при PASAT – 3s теста има равнище на значимост (Sig.=0,013), по – малко от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между средния брой точки при различните равнища на инвалидност.

Резултатите от сравнението между различните стойности на инвалидност при SDMT теста има равнище на значимост (Sig.=0,021), по – малко от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между средния брой точки при различните равнища на инвалидност.

Резултатите от сравнението между различните стойности на инвалидност и останалите тестове имат равнища на значимост по – големи от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между средния брой точки при различните равнища на инвалидност при тях (таблица 25).

Таблица 25. Резултати от сравненията между изследваните тестове при различна стойност на инвалидност.

Тест	EDSS	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	1.0	16	53.50	6.229	0.013	Да
	1.5	10	46.20	14.289		
	2.0	11	46.18	11.488		
	2.5	11	43.36	11.075		
	3.5	2	14.50	13.435		
SDMT	1.0	16	45.06	11.168	0.021	Да
	1.5	10	41.00	9.510		
	2.0	11	37.64	12.714		
	2.5	11	39.18	13.113		
	3.5	2	12.50	3.536		
FSS	1.0	16	21.56	14.227	0.170	Не
	1.5	10	25.70	15.993		
	2.0	11	27.55	14.222		
	2.5	11	34.82	18.957		
	3.5	2	30.50	2.121		
GDI	1.0	16	7.00	8.000	0.313	Не
	1.5	10	14.60	12.313		
	2.0	11	10.82	13.761		
	2.5	11	16.82	13.310		
	3.5	2	23.50	20.506		
BDI	1.0	16	3.56	5.416	0.361	Не
	1.5	10	9.60	7.427		
	2.0	11	4.27	4.982		
	2.5	11	9.73	9.328		
	3.5	2	12.50	9.192		

След като такава разлика е доказана при PASAT – 3s и SDMT причината за тази разлика може да се установи с помощта на Post Hoc анализ, основаващ се на LSD (Least Significant Difference) тест. Резултатът показва, че средния брой точки на променливата PASAT при пациенти с EDSS=3.5 се различава статистически значимо от всички останали средни при останалите инвалидни статуси. Същото важи и за SDMT. Това означава, че средните при този инвалиден статус се различава от всички останали средни и при двата теста. Неврологичният дефицит при пациентите, включени в нашето изследване със степен на инвалидност EDSS=3.5 е обусловен от промени в тазово резервоарни функции и прояви на пареза за долни крайници. В проучването не са включвани пациенти с неврологичен дефицит, ангажиращ горните крайници, зрителни, слухови или координационни нарушения. Следователно отчетената степен на инвалидизация и връзката и с промените по отношение на когнитивното функциониране вероятно трябва да се търсят в придружаващ процес на атрофия, без пряка връзка с неврологичния дефицит при тези пациенти. Следователно когнитивните нарушения са свързани с атрофия, обуславяща дисконекция на мозъчни области, свързани с

когнитивни функции. Пациентите с EDSS=3.5 в нашето изследване са с продължителност на заболяване над 5 години.

### 13. ВЪЗРАСТ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ В ДВЕТЕ ИЗСЛЕДВАНИ ГРУПИ

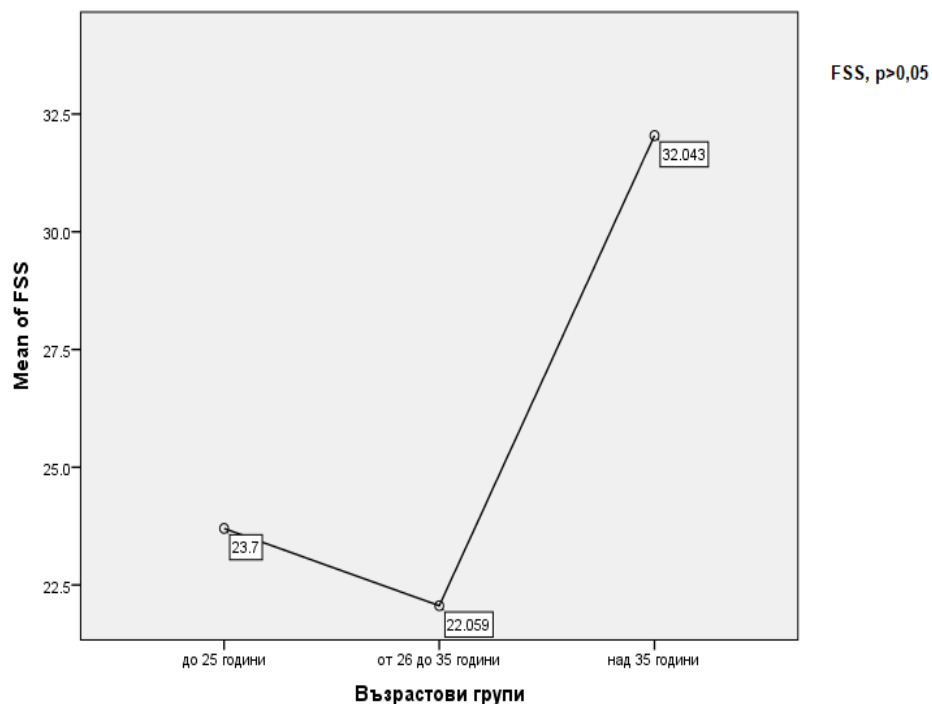
Проверихме влиянието на фактора възраст на пациента. Изследвахме съществува ли статистически значима разлика между FSS, PASAT – 3s, SDMT, GDI и BDI при различната възраст на изследваните МС болни и здрави контроли.

Условно изследваните лица са разделени в три възрастови групи:

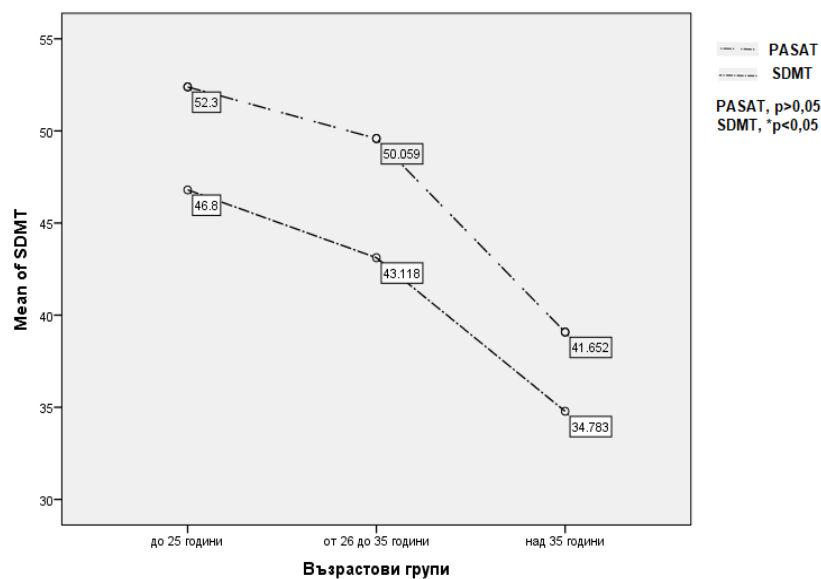
- Първа група: до 25 години
- Втора група: от 26 до 35 години
- Трета група: над 35 години

#### 13.1. БОЛНИ С МС

На фигурите по – долу са представени средните стойности при всеки от изследваните тестове според възрастовите групи на пациентите.

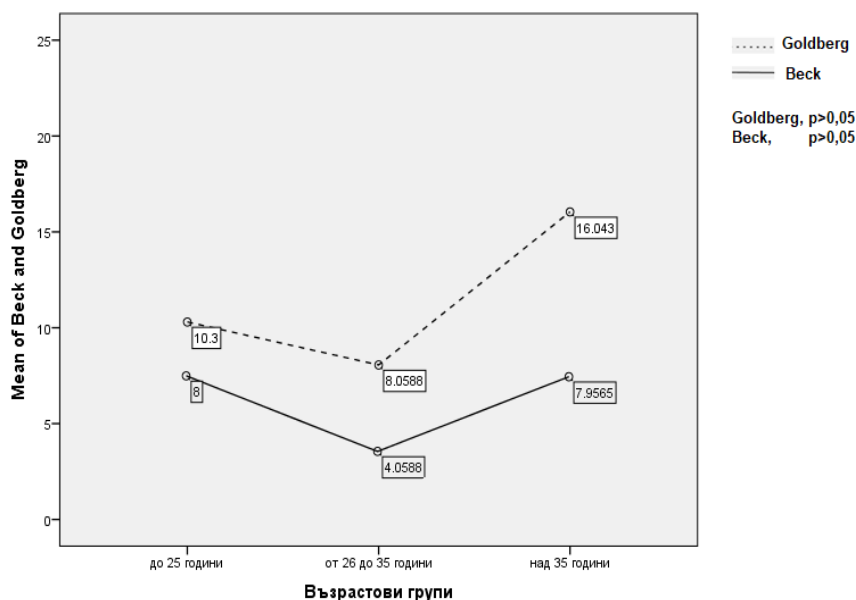


*Фигура 55. Промени в FSS оценка в зависимост от възрастовата група на изследваните болни с МС. С нарастване възрастта на пациентите се отчита по-изразена умора.*



Фигура 56. Промени в PASAT – 3s и SDMT в зависимост от възрастовата група на изследваните болни с МС.

И при двата теста за оценка скорост на обработка на информация, разпределяемост и поддържане на внимание, и памет, се наблюдава тенденция за влошено представяне с напредване на възрастта на МС пациентите. Предполага се, че индиректно данните отразяват влиянието на фактора продължителност на заболяването.



Фигура 57. Промени в GDI и BDI в зависимост от възрастовата група на изследваните болни с МС.

Разпределението на променливите е тествано и са приложени съответните тестове за проверка.

Таблица 26. Резултати от сравненията между изследваните тестове при различна възраст.

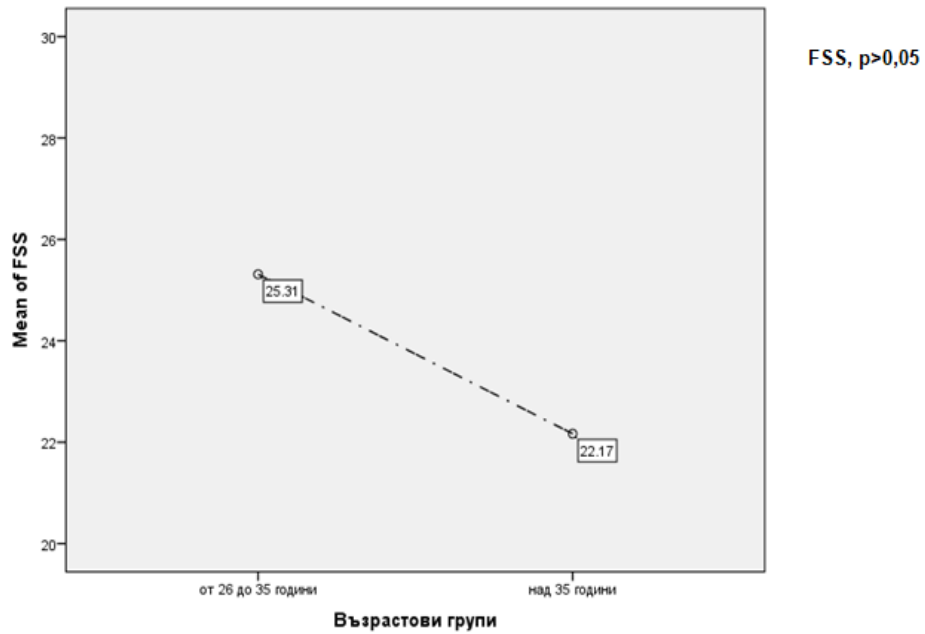
Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
<b>PASAT</b>	до 25 години	10	52.30	4.762	<b>0.138</b>	Не
	от 26 до 35 години	17	50.06	9.079		
	над 35 години	23	41.65	15.773		
<b>SDMT</b>	до 25 години	10	46.80	9.875	<b>0.029</b>	Да
	от 26 до 35 години	17	43.12	13.596		
	над 35 години	23	34.78	11.572		
<b>FSS</b>	до 25 години	10	23.70	15.166	<b>0.076</b>	Не
	от 26 до 35 години	17	22.06	13.339		
	над 35 години	23	32.04	16.683		
<b>GDI</b>	до 25 години	10	10.30	11.795	<b>0.060</b>	Не
	от 26 до 35 години	17	8.06	10.911		
	над 35 години	23	16.04	12.769		
<b>BDI</b>	до 25 години	10	8.00	7.226	<b>0.132</b>	Не
	от 26 до 35 години	17	4.06	5.448		
	над 35 години	23	7.96	8.249		

Резултатите представени на таблица 26 показват, че единствено при SDMT има статистически значима разлика между средните стойности по възраст. Това означава, че възрастта оказва влияние при този тест. При останалите променливи такава разлика не се наблюдава. Този извод може да се твърди с вероятност за сигурност от 95%.

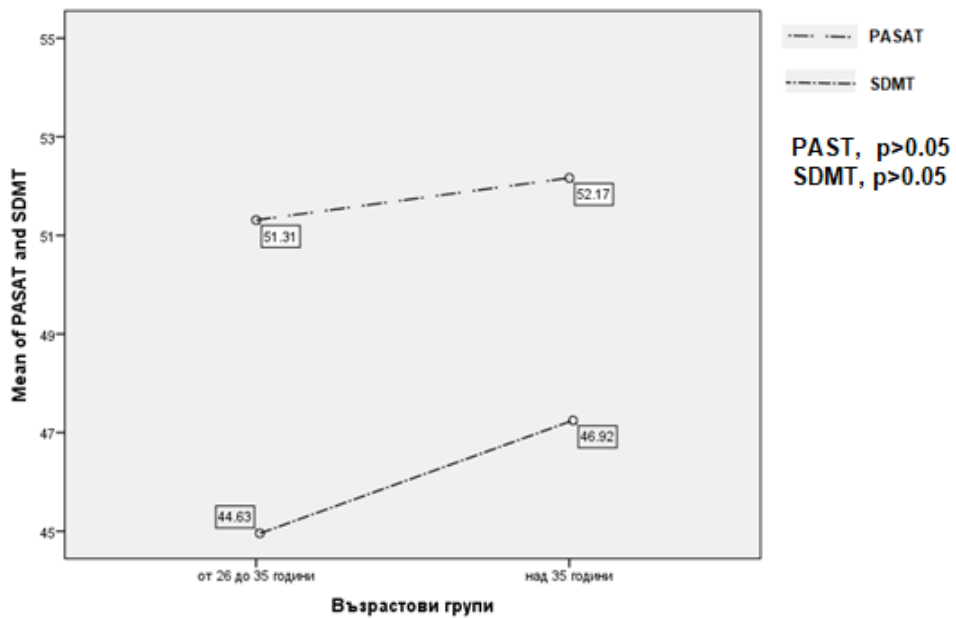
С Post Hoc анализ проверихме коя група е изиграла решаваща роля за обособяване на статистически значима разлика между групите. Оказва се, че това са МС пациентите над 35 годишна възраст. Техните средни се различават статистически значимо спрямо останалите възрастови групи.

### 13.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

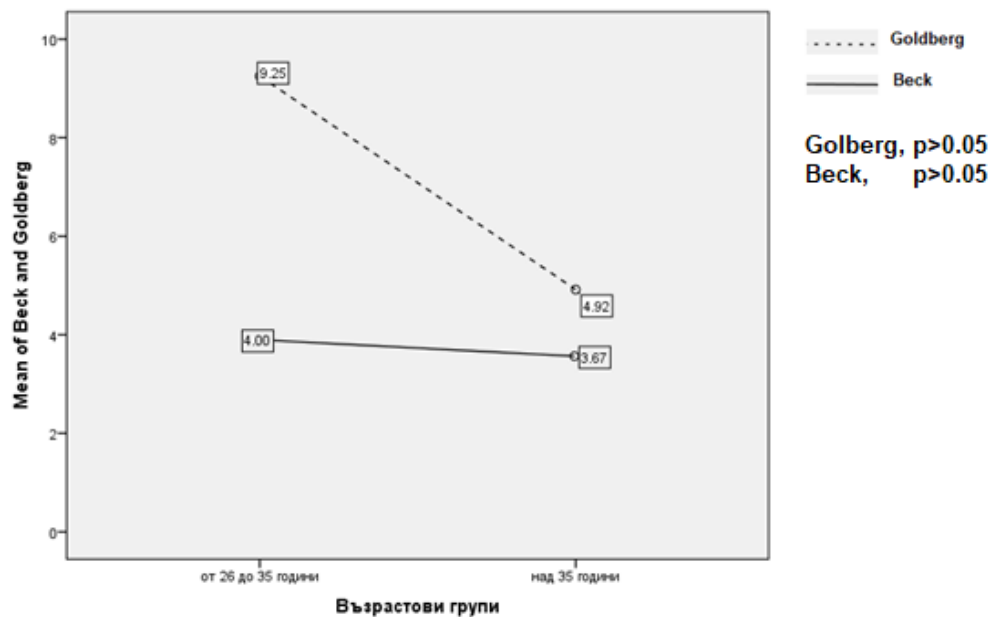
На фигурите по – долу са представени средните стойности при всяка от изследваните променливи според възрастовите групи на изследваните здрави контроли. Обособяват се само две групи, тъй като при здравите пациенти липсва лице, попадащо в първата възрастова група до 25 години.



Фигура 58. Графично представяне на промените във FSS оценката според фактора възраст.



Фигура 59. Графично изобразяване на промените в когнитивното представяне оценено чрез PASAT и SDMT според фактора възраст.



Фигура 60. Графично изобразяване на промените в GDI и BDI самооценъчни скали според фактора възраст.

Проверката за разпределението на променливите определя какъв тест да се използва. Резултатите са представени в таблица 27.

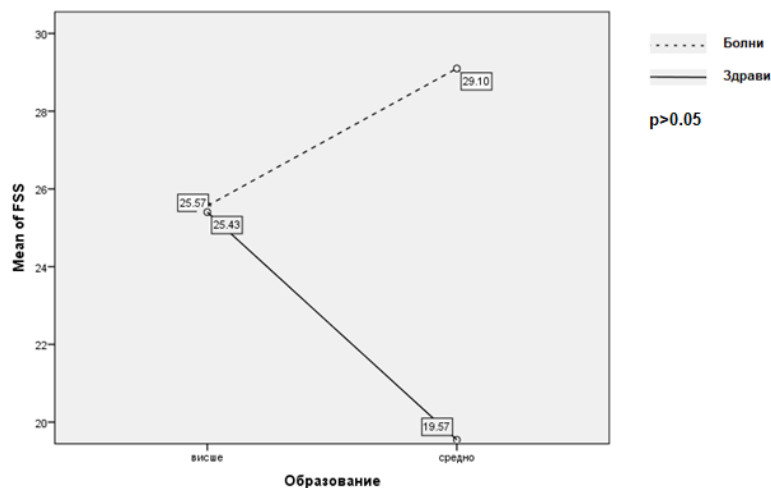
Таблица 27. Резултати от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между жени болни с МС и жени здрави контроли.

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	от 26 до 35 години	16	51.31	7.282	0.889	Не
	над 35 години	12	52.17	5.781		
SDMT	от 26 до 35 години	16	44.63	4.978	0.235	Не
	над 35 години	12	46.92	9.774		
FSS	от 26 до 35 години	16	25.31	11.223	0.461	Не
	над 35 години	12	22.17	10.718		
GDI	от 26 до 35 години	16	9.25	9.518	0.241	Не
	над 35 години	12	4.92	5.961		
BDI	от 26 до 35 години	16	4.00	4.099	0.827	Не
	над 35 години	12	3.67	3.725		

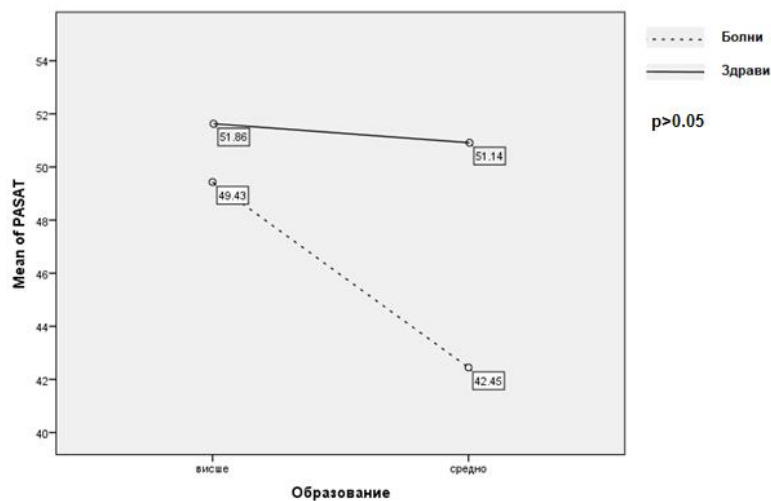
Няма статистически значима разлика в средните при двете възрастови групи между нито един от тестовете. Този извод може да бъде потвърден с вероятност от 95%.

#### 14. НИВО НА ОБРАЗОВАНИЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

Проверихме съществува ли статистически значима разлика между FSS, PASAT – 3s, SDMT, GDI и BDI според нивото на образование при болните с МС и при здравите контроли.



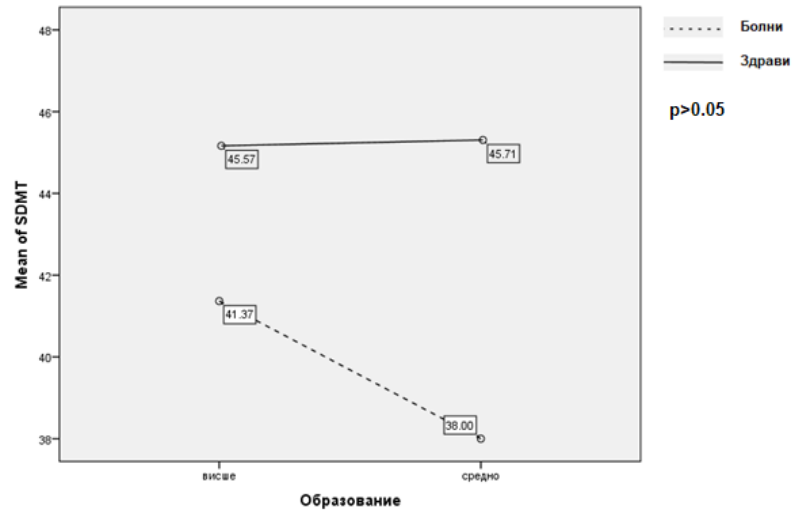
Фигура 61. Графично представяне на FSS според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли. Отчита се тенденция за наличие на умора при МС болните със завършено средно образование. Противоположен резултат се докладва от здравите контроли.



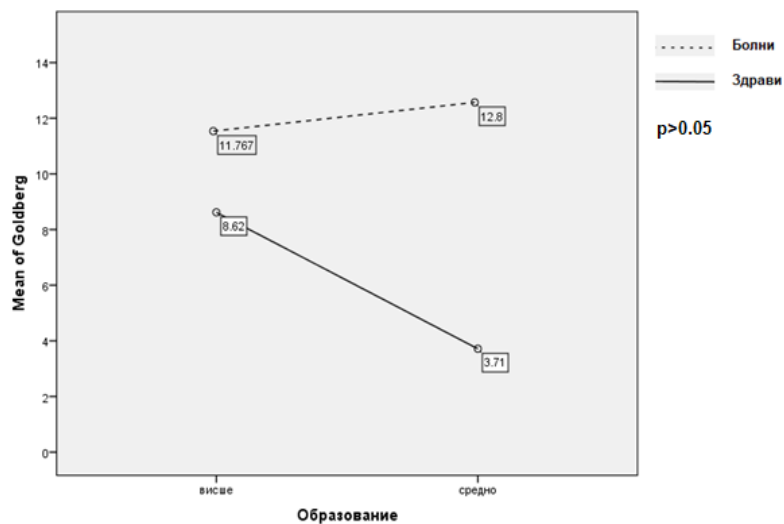
Фигура 62. Графично представяне на данните от PASAT – 3s според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли. МС болните постигат по – малък резултат в сравнение със здравите контроли и в двете групи (висше и средно завършено образование). МС болните със средно

образование се представят с по – лош резултат при изпълнението на тест PASAT – 3s.

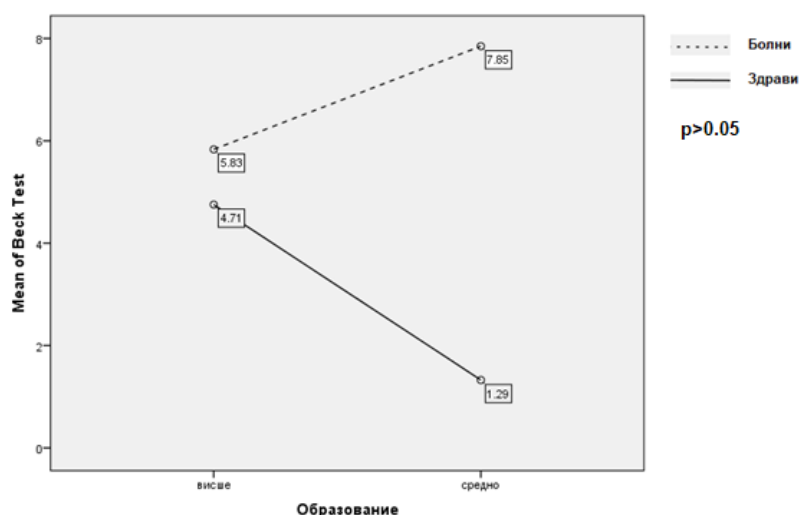
Данните показват, че изпълнението на теста зависи от нивото на образование и аритметичните способности. Същата тенденция, но в по – слаба степен се наблюдава и в групата на здравите контроли.



Фигура 63. Графично представяне на данните от SDMT според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли. В групата на МС болните отново се отчита по – лошо представяне спрямо групата на здравите контроли. Пациентите с висше образование постигат по – добър резултат спрямо тези със средно образование.



Фигура 64. Графично представяне на данните от GDI според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли.



Фигура 65. Графично представяне на данните от BDI според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли.

Приложените тестове демонстрират по – висок скор в групата на болните с МС. Наблюдава се тенденция за депресия при пациентите със средно ниво на образование. Всички участници в проучването са активно работещи на пълен работен ден. В изследването са включени пациенти с EDSS=3.5. Следователно може да се направи извод, че наблюдаваната тенденция е следствие от по – добри coping стратегии при болните с МС с висше образование.

Таблица 28. Резултати от сравненията между нивата на образование за изследваните тестове при здрави пациенти.

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	висше	21	51.86	6.952	0.059	Не
	средно	7	51.14	5.757		
SDMT	висше	21	45.57	6.712	0.246	Не
	средно	7	45.71	9.639		
FSS	висше	21	25.43	11.098	0.443	Не
	средно	7	19.57	9.813		
GDI	висше	21	8.62	9.271	0.774	Не
	средно	7	3.71	2.360		
BDI	висше	21	4.71	4.076	0.344	Не
	средно	7	1.29	1.380		

Проверката за разпределението на променливите определя какъв тест да се използва.

Установяваме, че няма разлика между различните нива на образование при тестовете. Това означава, че образованието не оказва влияние върху средния брой точки за изследваните тестове. Този извод може да се твърди с вероятност за сигурност от 95%.

*Таблица 29. Резултати от сравненията между нивата на образование за изследваните тестове при МС пациенти.*

Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	висше	30	49.43	12.034	0.809	Не
	средно	20	42.45	13.185		
SDMT	висше	30	41.37	11.186	0.595	Не
	средно	20	38.00	14.991		
FSS	висше	30	25.57	13.331	0.226	Не
	средно	20	29.10	18.982		
GDI	висше	30	11.77	12.339	0.437	Не
	средно	20	12.80	12.530		
BDI	висше	30	5.83	6.639	0.040	Да
	средно	20	7.85	8.229		

Резултатите от сравнението между средните стойности на тест BDI по ниво на образование при болните пациенти има равнище на значимост (Sig.=0,040), по – малко от риска за грешка ( $\alpha=0,05$ ). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между средния брой точки при лицата с висше и средно образование в полза на лицата със средно образование. Този извод може да се твърди с вероятност за сигурност от 95%.

PASAT е невропсихологичен тест за оценка на аритметични способности, капацитет и скорост на обработка на информация, както и поддръжане и разпределяемост на вниманието. Stephen Correia посочва, че изпълнението на PASAT изисква активиране на широк кръг мозъчни области, свързани в невронни мрежи, и най-вече фронтално-париетални области съвместно с горна темпорална област и gyrus cinguli. Фронтално-париеталните области са свързани с процесите на внимание и работна памет (57). Редица МР проучвания, прилагащи измерване на товарване с лезии, DTI и конекция в покой, демонстрират, че изпълнението на PASAT активира обширни области и снопове WM, фронтални области GM, малък мозък,

таламус, и компоненти на мрежи в режим на подразбиране (57). Редица проучвания отчитат умерена корелация между изпълнението на теста и математическите способности. Влиянието на математическите способности може да се отслаби при подбор на подаваните числа в устна версия така, че сумите да не надвишават 10. При деца е установено по-добро изпълнение на теста във възрастова група 8- 14.5 години с нарастване на възраст и степен на образование. Други проучвания установяват силно влияние на фактора интелигентност (висока корелация) (39, 53, 57). Нашите данни потвърждават установеното в предходни проучвания (1, 4) влияние на образованието върху изпълнението на теста PASAT.

## 15. КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ ОБЕМ НА ХИПОКАМП И EDSS

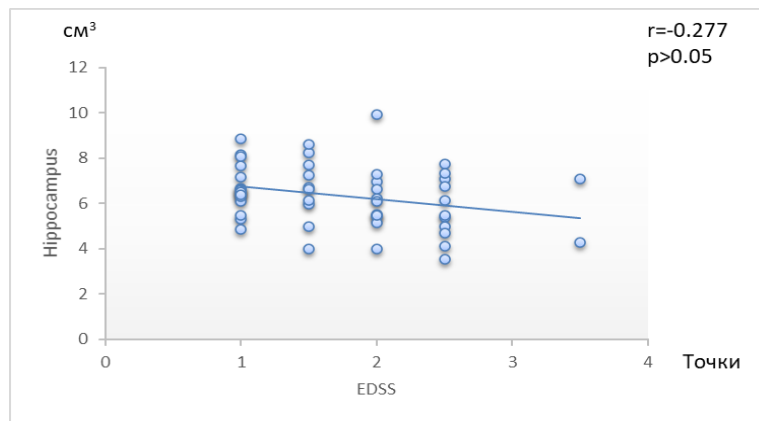
Таблица 30. Корелация между обем на хипокамп и EDSS при болните с МС.

		Hippocampal volume cm3	EDSS
Hippocampal volume cm3	Корелация на Пирсън	1	-.277
	Равнище на значимост		.052
	Брой	50	50
EDSS	Корелация на Пирсън	-.277	1
	Равнище на значимост	.052	
	Брой	50	50

\*\*\*. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

\*\* . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

\*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.



Фигура 66. Корелация между среден обем на хипокамп и EDSS.

Значимостта на корелативната връзка между хипокампа и EDSS за малко надхвърля приетия риск за грешка от 5%. При по – висок риск за грешка обаче (10%) може да се твърди, че между хипокампа и EDSS съществува тенденция за слаба обратнопропорционална връзка.

## ОБСЪЖДАНЕ НА СОБСТВЕНИТЕ ПРОУЧВАНИЯ

---

Когнитивните способности са важен фактор за качеството на живот. Когнитивни нарушения се наблюдават както в рамките на нормалното стареене, така и при редица неврологични заболявания. Нормалното стареене се придружава от когнитивни нарушения в някои аспекти на когницията (110). Една част от функциите остават съхранени. Вербалните умения, процедурното заучаване и памет, семантичната памет остават относително интактни. В контраст на това се установява отчетлив спад по отношение на епизодичната (декларативна) памет, работната памет, вниманието и пространствената ориентация, който е възрастово обусловен в рамките на нормалното стареене. Въз основа на данните от редица проучвания върху невропатологията на процесите заучаване и памет, се приема, че много от нарушенията, придружаващи нормалното стареене наподобяват тези, наблюдавани при билатерални увреди на хипокампа. Изследвания на възрастово обусловени промени в хипокампа са установили морфологични вариации с намаляване обема на хипокампа, съчетани с метаболитни промени (76). И двата типа промени са показателни за невронна загуба и/или намалена невронна плътност като израз на структурни и биохимични промени в рамките на нормалното стареене. С помощта на различни методики са доказани намален брой неврони, намален брой синаптични връзки, вътреклетъчна патология и склонност за натрупване на неврофибрилерни отлагания в хипокамп. С ПрМРС изследване е установено намалено съотношение NAA/Cr (76). Тези данни определят хипокампа като особено чувствителна към стареене структура. Конвенционалното МРТ изобразяване предоставя информация за възрастови промени в невроанатомията, включително редуция в обема на хипокампа. Някои изследователи установяват предно-заднен градиент на наблюдаваните морфологични промени (при БА и нормално стареене). Други посочват преференциално ангажиране на промените в задната част на хипокампа, който при хората е свързан с процесите на пространствена ориентация и навигация. Проучване на полово детерминирани разлики в нивата на мозъчните метаболити суправентрикуларно при нормално стареене (възрастов диапазон 60-90 години, средна възраст 73 години), установява намаляване на нивото на Cho при жени. Нивото на NAA бележи спад със статистически значима величина и при двата пола. Съответно се демонстрира намалено ниво на съотношението Cho/NAA при средна възраст 77 години (208).

Множествената склероза е заболяване, което се характеризира с прогресивен спад в невропсихологичното функциониране (188). Нарушения в когницията и афекта се регистрират рано в хода на болестта. Засягат се най-

вече епизодичната и работната памет, вниманието, скоростта на обработка на информация, абстрактното мислене и ексекутивните функции, зрително-перцептуалната обработка на информация (53, 105, 143, 157). Хипокамът заема особено място в изпълнението на тези процеси (133). Изследвания при експериментален аутоимунен енцефаломиелит установяват възпалителни и невродегенеративни промени рано в хода на болестта с доминиращо ангажиране на СА1, загуба на инхибиторни интерневрони, повишено ниво на клетъчна смърт със загуба на неврони и глия (252). Поставихме си за цел да изследваме морфологични промени в хипокампа при болни с МС в ранните етапи от развитие на болестта. Подбрахме група пациенти с ПРМС и срок на боледуване до 10 години от момента на уточняване на диагнозата. Около 70% от пациентите преминават в прогресивна форма на болестта след този срок. Изследвахме обема на левия хипокамп поради факта, че хипокамът е структура с персистираща неврогенеза. Установените от нас данни показват статистически значима редукция на обема на хипокампа в сравнение с контролна група от здрави индивиди в кореспондиращ възрастов диапазон, което би могло да се свърже със съпътстващ процес на мозъчна атрофия. Съществен факт е и полово-свързаната тежест на промените. Групата на жените с МС демонстрира статистически значим по – малък обем на хипокамп. В групата на мъжете с МС се установиха аналогични промени, но не се доказва статистически значима разлика. Всички пациенти са на лечение с ИМТ, което допринася за намаляване на възпалителната активност и нейния ефект върху невродегенерацията. Имуномодулиращата терапия оказва положителен ефект по отношение на възстановителните процеси чрез NGF, чиято секреция се стимулира от INF (78, 166).

Установените от нас промени показват развитие на атрофия в структура без плаки на демиелинизация. Този процес съпътства заболяването от най – ранен етап. Мозъчната атрофия е следствие не само от активиране на имунни механизми и въздействие на фактори на възпалението. Придружаващ процес на нарушена клетъчна хомеостаза с последваща апоптоза, дисконекция и неблагоприятни промени в невротрансмисията може да се окажат съществен тригер за възпалителни екзацербации и поддържане хода на болестта (58, 100).

Поставихме си за цел да изследваме биохимични промени в NAWM (138, 185). Установените от нас нарушения са в полза на дифузия характер на процеса и изказаната хипотеза за ролята на дисконекцията в патогенезата на болестта (48, 127, 138).

В нашето проучване изследвахме 50 пациента с клинично сигурна пристъпно-ремитентна множествена склероза. Изследваните лица са във възрастов диапазон 20-40 години, със средна възраст  $33 \pm 7$  години, и средна

продължителност на заболяване  $4.85 \pm 2.68$  години. Пациентите са на ИМТ (средна продължителност на терапия  $2.40 \pm 2.21$  години) и са в стабилно състояние – ремисия минимум два месеца преди изследванията (минимален срок от начало на ИМТ 3 месеца, максимален срок- 8г. и 8 месеца). При всички пациенти се проведе конвенционална МРТ и ПрМРС. Измерени бяха концентрации на мозъчни метаболити в зони свободни от плаки на демиелинизация (NAWM), съответно холин (Cho), креатин (Cr) и N-ацетил аспартат (NAA). Регистрирани бяха метаболитни съотношения съответно NAA/Cr, NAA/Cho, Cho/NAA, Cr/NAA, Cho/Cr. Данните от проведените МРТ изследвания бяха анализирани и сравнени с аналогични данни за контролна група здрави индивиди в кореспондиращ възрастов диапазон.

Анализът на данните показва наличие на разлика в регистрираните пикове за метаболитите. Отчете се повишено ниво на Cho, Cr и NAA в групата на МС пациентите спрямо съответно ниво в контролната група. NAA, който се синтезира главно в митохондриите на невроните, се приема за маркер на невронален интегритет. Нарастването на концентрацията на NAA е белег за добро функциониране на невроните, съответно показател за аксонална жизнеспособност (13, 163). Холин е маркер за клетъчен търновер и основен компонент на клетъчните мембрани и миелина. Холинът и креатинът отразяват неврон/глия активност (163). Повишените нива на Cho може да се интерпретират като интензивен синтез на мембрани. Изводът се подкрепя и от по – високите отчетени концентрации на Cr. Като метаболит, свързан с клетъчната енергийна активност, нарастване на нивата на креатин говорят за добра енергийна ефективност на невроните, съответно отличен невронален интегритет.

На следващ етап в анализа на спектроскопските данни потърсихме разлика в посочените метаболитни съотношения (13). Резултатите от изследванията демонстрираха намалено съотношение NAA/Cr, което е в съответствие с данни от проучвания на метаболитни промени при МС пациенти (50, 101, 219). Отчете се статистически значима разлика между двете групи- пациенти и здрави контроли. Нашите резултати потвърждават данните от проучване, проведено от Sun Jubao et al през 2017 г. В проучването са проследени 17 пациента с ПРМС и са сравнени с 21 здрави контроли. Отчетени са статистически значими разлики в стойностите единствено на Cr, в полза на МС пациентите (219). Този факт може да се интерпретира като нарастване на енергийната утилизация в NAWM. Нарасналите енергийни ресурси и активност вероятно са свързани с необходимост от провеждане на електрически сигнал в условия на променена йонна хомеостаза – роля на виртуалната хипоксия в демиелинизирани аксони, както и са свидетелство за активни метаболитни синтетични процеси.

По отношение на другите съотношения при изследваните болни с МС установихме съответно: Cho/NAA нарастване; NAA/Cho намаление; Cho/Cr намаление; Cr/NAA нарастване.

Установените промени в мозъчните метаболити и техните съотношения в NAWM демонстрират наличие на морфологични промени в бялата мозъчна субстанция, субкортикално. Тези промени са ранен индикатор за развитие на енергийни и структурни смущения, които от своя страна провокират нарушения в неврон-невронната комуникация с възможност за развитие на дисконекция (165).

Съществува връзка между някои форми на деменция и когнитивните промени при МС.

Субкортикалната деменция е клиничен синдром, който се характеризира със състояние на забравяне, забавеност на мисловните процеси, нарушения в когницията, апатия и депресия. За разлика от кортикалната деменция (Болест на Алцхаймер), при това състояние са засегнати мозъчни структури, разположени под церебралната кора. Това е заболяване на бялата мозъчна субстанция. При кортикалната деменция най-ранните симптоми са нарушения на висшите корови функции като памет, език, решаване на проблеми, обосновка. При субкортикалната деменция тези висши корови функции се засягат в много малка степен и често са съхранени в ранните етапи от развитие на заболяването. Много по-често се наблюдават промени в личността, както и забавяне на мисловните процеси. При CADASIL, състояние, което се съпровожда със субкортикална деменция, се увреждат подкорови структури – таламус, базални ганглии и ядра на мозъчния ствол. Нарушават се функции като внимание, араузал, настроение, мотивация, език, памет, абстрактно мислене и зрително-пространствени функции.

Деменцията може да се определи като състояние на неврокогнитивно нарушение, което причинява значителни ограничения на социалната и/или физическа независимост. Състоянието може да се обясни от патофизиологична гледна точка като синдром на кортико-субкортикална множествена дисконекция (67).

Деменцията при МС според литературата не е ясно дефинирано състояние. Свързва се с различни клинични прояви. Начална и тежка клинична изява на МС може да бъде по типа на кортикална деменция, свързана с кортикални лезии, със симптоми като афазия, апраксия, агнозия. При все това терминът „деменция“ не се прилага по отношение на неврокогнитивните промени при МС поради по-леката изява и по-бавната прогресия на нарушенията. Наблюдаваните промени се дефинират като „когнитивни нарушения“. Естеството на нарушенията може да бъде по типа

на кортикална деменция, когато са провокирани от лезии в сивото мозъчно вещество (62). По – често обаче се наблюдават промени по типа на субкортикална деменция, поради развитие на синдром на дисконекция, вследствие ефекта на плаките на демиелинизация (53, 62, 105, 143, 157, 237). Хипокамът е ключова структура в процесите памет и афект. Проучванията върху връзката между атрофия на хипокампа и когнитивните нарушения установяват висока корелация между обем на хипокампа и вербалната памет (105, 196). Скоростта на обработка на информация се идентифицира като област на първичен дефицит при МС независимо от хода на болестта, със съществен ефект върху качеството на живот (30, 143). Корелативни изследвания върху връзката между степента на мозъчна атрофия, оценена с МРТ методи, и скоростта на обработка на информация, оценена чрез PASAT и SDMT, в смесена МС популация установяват средна до значителна степен на отрицателна корелация. По-силна е корелацията при SDMT (189).

Изследвания върху ролята на таламо- хипокамп- префронтална дисконекция доказват влияние на нарушените връзки върху когнитивното функциониране при ПРМС много преди изявата на функционален неврологичен дефицит (129). Според Kern и сътрудници (2015) атрофията на хипокамп се отразява на когнитивното функциониране посредством нарушение на връзките хипокамп- таламус (атрофия на таламус и форникс). Изследователите са установили промени в активността на хипокамп (fMRI) с промени във вербалната памет много преди да се развие атрофия на хипокамп (129).

В настоящото проучване оценихме невропсихологични промени при изследваните МС пациенти. Подбрахме тестове, които оценяват паметови нарушения при преобладаващи субкортикални нарушения с дисконекция. Приложихме тестове за промени в настроението, поради екстензивните връзки на хипокампа със структури на лимбичната система и ролята му за емоционалния аспект на паметовите следи.

Приложените тестове за невропсихологична оценка и оценка на когнитивното функциониране при изследваните две групи пациенти демонстрират промени в когницията, вниманието и разпределяемостта на вниманието, краткосрочната памет, зрително-пространствените функции и настроението. Макар изследвани на ранен етап от диагностициране на заболяването, пациентите от МС групата демонстрират промени във всяка една от посочените невропсихологични категории. SDMT е по – чувствителен тест при оценка на когнитивните нарушения при МС в сравнение с PASAT. Тестът е подходящ инструмент за когнитивна оценка при пациенти с ПРМС (147). SDMT се прилага за оценка на когнитивните функции, в частност на бързата визуална обработка на информация, и на

работната памет. Тестът характеризира процеси като зрение, реч, заучаване, скорост и прецизност, мануална моторна функция и е основен инструмент за невропсихологична оценка при пациентите с МС по отношение на промени в скоростта на обработка на информацията. Данните от PASAT – 3 s и SDMT отчитат нарушено справяне и с двата теста, като при теста SDMT се установява статистически значима разлика ( $45.61 \pm 7.350$  в сравнение с  $40.02 \pm 12.805$  при МС пациентите). Литературната справка предоставя противоречиви данни за влиянието на демографски фактори като пол, възраст, ниво на образование. Проучвания на представителна извадка здрави индивиди на възраст до 50 години (интервал 21-49 години), не установява влияние на факторите пол, възраст, образование и социален статус (214). Jorm и сътрудници (2004) изследват влиянието на фактора пол по отношение на когнитивното представяне в различни възрастови групи чрез панел неврокогнитивни тестове, включително SDMT. Установяват по – добро представяне на жени при изпълнение на SDMT спрямо изследваните лица от мъжки пол (124). Според Kiely и колектив (2014) факторите възраст, пол, образование, здравен статус и социален произход оказват сигнификантен ефект при изпълнение на SDMT. Отчита се по-добро представяне при жени в млада възраст (до 30 години), вероятно поради по-високото ниво на образование за тази изследвана група в цитираното проучване (130). В по – големите възрастови групи изследователите установяват по – добро представяне при мъжете. В нашето проучване се установи статистически значимо влошаване на SDMT изпълнението при пациентите от мъжки пол във възрастов диапазон 20-40 години, със средна възраст  $33 \pm 7$  години (за мъжете 24-40 години).

При изследване на промените в настроението, в частност наличие на депресия, данните и от двата приложени теста демонстрираха промени в групата на МС пациентите с наличие на депресивна симптоматика в 40% от изследваните според GDI и в 38% от пациентите с МС според BDI. Разпределението по пол отчита по – изявена депресивна симптоматика според двата теста за индивидите от женски пол. Най – голям процент пациентки и според двата теста попадат в категорията на лека депресивна симптоматика. Според изследване на Jougleux-Vie и сътрудници (2014) не се установява корелация между умората при МС пациенти и когнитивното представяне, както и между вербалната епизодична памет. Проучването прилага панел тестове за когнитивно функциониране, включително PASAT и SDMT. Изследователите установяват връзка между субективната умора и оценката на пациентите за паметови нарушения. Не се установява обективна връзка между умората и когнитивното представяне. Не се установява връзка и със скоростта на обработка на информация (125).

Проучването на невропсихологичното функциониране, промените в обема на хипокампа, както и данните от МРС демонстрират отчетливи промени в групата на изследваните МС пациенти. Нарушенията са по – демонстративни за всички изследвани параметри при индивидите от женски пол. Установиха се промени в мозъчните метаболити, които са показателни за нарушения в биохимичните процеси в NAWM. Тези данни съпоставихме и промените в обема на хипокампа. Групата на пациентките с МС демонстрира статистически значима разлика по отношение обем на хипокам с намаляване на обема на тази структура. Хипокампът е една от малкото мозъчни области, с персистираща неврогенеза (*gyrus dentatus*) и в зряла възраст (102). Доказан е положителният ефект от физически натоварвания върху процеса на неврогенеза, както и отрицателният такъв под въздействие на хроничен стрес и епилептиформни пристъпи (28, 123, 216). Наличието на ексцесивно количество глутаматни рецептори в хипокампа се приема за причинно-следствена връзка между състоянията на хроничен стрес и епилептични пристъпи с наблюдаваната увреда на хипокампа (съпроводена с редукция на обем на хипокам с хипокампална склероза и промени на обема при депресивни състояния). Хипервъзбудимостта от активиране на възбудните глутаматни рецептори, която съпровожда двете описани състояния, води до цитотоксичност и клетъчна смърт (141). Интерес заслужава и ролята на компрометираната неврогенеза. Клетъчната цитотоксичност е многофакторен процес. Освен директният ефект на възбудната невротрансмисия, с промени в йонния пермеабилитет и хомеостаза, процесът се съпровожда и с промени на ниво нуклеарни рецептори, ДНК метилиране, РНК репликация, промени в генна експресия, респективно ензимна активност (41, 128, 141, 233). Състоянията на стрес в смисъла на всяко едно нарушение на клетъчната хомеостаза, се свързват и с реактивни промени на ниво генна експресия. Наличието на генетичен полиморфизъм или появата на *de novo* мутации може да провокира метаболитен функционален или количествен дефицит. Както и наблюдаваните промени в клиничния ход на болестта при промени в хормоналния статус на пациентките при полово съзряване, бременност, менопауза. Причинно-следствената връзка с начало – стрес и краен етап – нарушения в метаболизма на холин, е интересен и според нас обещаващ аспект в патофизиологията на болестта (191).

Стресът провокира отклоняване на прогестерон/естрадиоловия метаболизъм към повишен синтез на кортизол. Това обуславя негативни промени в нивата на половите хормони, по-съществено на естроген. Понижените нива на естроген повлияват синтеза на холин посредством ензима PEMT, чиято активност зависи от нивата на естроген. PEMT е скорост определящ ензим в синтетичната верига на холиновия метаболизъм. При

индивиди с генетичен полиморфизъм по отношение на гена за PEMT (над 74% от жените) се наблюдава нечувствителност към естроген. Забавя се активността и нормалното функциониране на ензима и се наблюдава дефицит на холин. Дефицитът на холин предизвиква промени в редица биохимични вериги (191, 248, 249).

Холинът осигурява структурен интегритет и сигнална функция на клетъчните мембрани. Като компонент на фосфолипидите (фосфатидилхолин и сфингомиелин) изгражда клетъчната мембрана. Участва във формирането на миелиновите обвивки на нервните влакна (210, 211).

Дефицитът на холин се отразява на структурния интегритет с възможност за развитие на апоптоза, невронна загуба и явление на дисконекция. Холинът участва в холиергичната невротрансмисия като източник за синтез на ацетилхолин. ACh е невромодулятор и основен участник в морфогенезата, както и посредник при взаимодействие на ЦНС и имунната система за регулиране реакциите на възпаление (120, 186). Дефицитът на ACh е свързан с изместване на баланса между проинфламаторните и антиинфламаторни процеси в посока на възпаление.

Холинът има роля в процеса на метилиране на ДНК (167, 249). Окислението на холин от митохондриалната choline dehydrogenase синтезира betaine aldehyde, който след последващо окисление в митохондриите чрез aldehyde dehydrogenase произвежда бетаин. Бетаинът е кофактор в процесите на метилиране (211). В този смисъл е участник в синтеза на невротрансмитери като допамин и серотонин. Метилирането е важен етап в производството на мелатонин и коензим Q, който е участник в електрон-транспортната верига (203). Бетаинът изпълнява ролята на органичен осмолит (249). Стабилизира осмотичното равновесие в клетката. Участва в синтеза на основния метилов донор S-adenosylmethionine (SAMe) (248, 249). Съотношенията SAM:SAH както и Cho: betaine са фактори в процеса на ДНК метилиране.

Холинът има комплексно отношение към метаболизма на метионин, фолиева киселина, витамин B12 и хомоцистеин (141, 192). Хомоцистеин е прекурсор на метионин. Метионин се образува по два алтернативни метаболитни пътя – или с помощта на метилови групи, извлечени от фолат, или чрез метилови групи, извлечени от бетаин. Бетаинът набавя своите метилови групи от холин. Промени в активността на един от двата пътя се компенсират с противоположни промени в активността на алтернативния път. Когато тези синтетични вериги не успяват адекватно да осигурят необходимото количество метилови групи за производство на метионин, серумните нива на прекурсора на метионин – хомоцистеин, се повишават. Набавянето на холин или бетаин с диетата понижава нивата на хомоцистеин

в кръвта. Хомоцистеинът е невротоксин, сярва съдържаща молекула, произвеждана от аминокиселината метионин. Нсу промотира активиране и пролиферация на микроглия. Той е основен контрибутор за оксидативната увреда на ДНК. Повишените нива на хомоцистеин са невротоксични и могат да компрометират кръвно-мозъчната бариера. Повишен пермеабилитет на кръвно-мозъчната бариера придружава пристъпите на заболяването МС (28, 141, 197).

Следователно нарушенията в метаболизма на холин се явяват предпоставка за разгръщане на невротоксичност, апоптоза и дисконекция.

При смутена и компрометирана невrogenеза балансът между двата процеса – загуба на неврони и генериране на нови, се измества в посока на дегенеративните промени. Освен промени в метаболизма на холин, промените в нивата на кортизол и активиране на НРА са свързани с негативен ефект по отношение функцията на щитовидната жлеза с развитие на функционален хипотиреоидизъм. Щитовидните хормони имат отношение към съзряването на олигодендроцитите, които са клетките, произвеждащи миелин в ЦНС (135). Нарушената миелиногенеза съвместно с промените в холиновия метаболизъм и всички придружаващи ги фактори на невротоксичност в състояние на стрес (компрометирана хомеостаза), при продължително развитие във времето, могат да доведат до невронна загуба в степен, която да налага въвличане на имунни механизми за отстраняване на нефункциониращи клетки – клетъчен детрит. Процесът затваря патологичен кръг на цитотоксичност посредством невротоксичния ефект на медиаторите и клетките на възпаление.

## ИЗВОДИ

---

1. При болните с множествена склероза в сравнение със здрави лица се установява намален обем на хипокампа, което е статистически значимо при жени с МС при продължителност на болестта 5 и повече години, оценени на фона на ИМТ и липса на клинична активност (пристъпи) за периода на лечение.

2. Болните с множествена склероза демонстрират обективни нарушения в когнитивното функциониране. Най-отчетливи са промените в процесите на внимание, разпределяемост на вниманието и скорост на обработка на информацията, измерени чрез тестовете PASAT и SDMT. Установява се значима правопрпорционална зависимост между двата теста за когнитивно функциониране PASAT и SDMT. Степента на когнитивните нарушения се влияе от пола, като по-отчетливи са промените в скоростта на обработка на информацията. Доказва се статистически значима разлика при изпълнение на SDMT при болни мъже. Тестът SDMT е чувствителен и надежден при определяне на степента на когнитивни промени при пациентите с множествена склероза с малка продължителност на заболяването. Не се установява корелационна зависимост между промените в обем на хипокамп и данните от PASAT и SDMT.

3. МС пациентите с давност на заболяването до 10 години, третирани с ИМТ и степен на инвалидност EDSS=3.5 не се различават по отношение на хроничната умора спрямо здравите контроли. Преобладаващата част от изследваните пациенти нямат депресивна симптоматика (60% от изследваните пациенти според GDI и 72% според BDI). Депресивната симптоматика според самооценъчните скали достига средна към тежка степен при по-малко от 10% от изследваните МС пациенти.

4. Корелативните проучвания за връзка между изследваните невропсихологични променливи установяват значителна до висока правопрпорционална зависимост между тежест на депресията и хроничната умора при МС пациентите (Депресионен инвентар на Голдбърг GDI и Скала за оценка тежестта на умората FSS). Двете променливи се измерват чрез субективни самооценъчни скали.

5. ПрМРС доказва метаболитни промени в области свободни от зони на демиелинизация (NAWM), което подсказва наличие на съпътстващ патологичен процес преди изява на плака на демиелинизация. Измерват се повишени нива на Cho, Cr и NAA в NAWM при пациентите с МС. Установява се статистически значима разлика при сравнение на съотношенията NAA/Cr и Cr/NAA при МС пациентите от женски пол.

6. Факторите пол и продължителност на заболяването не влияят върху невропсихологичното функциониране, оценявано с тестовете Goldberg DI, BDI, FSS, PASAT. Установява се статистически значима разлика в изпълнението на SDMT. Мъжкият пол се явява рисков за ранно развитие на субкортикални когнитивни промени. Не се установява полово свързана зависимост на изявената депресивна симптоматика при МС пациентите. Следователно факторът дисконекция не е водещ в разгръщането на емоционалните промени. Всички изследвани лица са със степен на инвалидност под 3,5 и са активно работещи. Данните насочват вниманието към социалния аспект на диагнозата МС като стигма и фактор за развитие на депресивна симптоматика при млади активно работещи индивиди.

7. Възрастта не влияе върху психоемоционалните промени при МС пациентите. Възрастта влияе върху неврокогнитивното представяне, отчетливо по отношение на скоростта на обработка на информация, внимание и разпределемостта на вниманието.

8. Нивото на образование влияе върху неврокогнитивното представяне. Установява се статистически значима разлика по отношение на изпълнение на теста PASAT. Освен процесите внимание и работна памет, тестът оценява бдителност и аритметични способности. По – високото ниво на образование предоставя по – добро когнитивно функциониране поради обучение и развиване на невронни мрежи, които осигуряват потенциал за поддържане на състояние на бдителност и аритметични способности.

9. Установява се слаба обратно пропорционална връзка между промените в обема на хипокампа и степента на инвалидност, отчетена с EDSS в ранния етап от развитие на МС.

10. Степента на инвалидност влияе негативно върху неврокогнитивното представяне. Пациентите с EDSS = 3.5 имат статистически значимо влошено представяне при изпълнение на когнитивни тестове PASAT и SDMT в сравнение с тези с EDSS=2.0, EDSS=2.5, EDSS=3.0.

## ПРИНОСИ

---

### НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧНИ

1. Представят се оригинално корелационно проучване върху отношенията между морфометрични промени в хипокамп (структура с персистираща неврогенеза) и хистопатологични промени в NAWM при МС пациенти с ПРМС, третирани с ИМТ и без данни за клинична активност на заболяването. Доказват се ранни морфометрични промени при МС пациенти с ПРМС.

2. Представя се оригинално сравнително проучване на морфометрични промени в хипокамп и метаболитния патерн в NAWM при МС пациенти и здрави контроли.

3. Доказват се ранни промени в невропсихологичното функциониране при МС пациенти със степен на инвалидизация EDSS= 3.5. Потвърди се, че SDMT е надежден инструмент за оценка на промените в когнитивното функциониране.

4. Доказват се полово детерминирани разлики в морфометричните промени в хипокамп и метаболитния патерн в NAWM при пациенти с ПРМС.

### НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ

1. За първи път у нас се представя и прилага протокол за 3-D MPT хипокамп-волуметрия при болни с МС с цел характеризирание на морфологични промени в хипокамп при МС в ранен етап от развитие на заболяването. Изследването може да се включи в панел методики за диагностика и за оценка и проследяване на терапевтичен ефект.

2. За първи път у нас се представя и прилага ПрМРС при МС с цел *in vivo* характеризирание на метаболитни промени в зони свободни от демиелинизация (NAWM). Методиката разширява възможностите за диагностика и оценка на терапевтичен ефект от провеждана терапия.

## ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА

---

Петрова В., Генов, К. Корелация между обем на хипокамп и депресия при пациенти с множествена склероза//Сп. Военна медицина, 4; София, 2016.

Петрова В., Генов, К. Холин- водноразтворим витамин с важни биологични функции// Сп. Военна медицина, 3; София, 2017.

Petrova V., Traykov L. Normal appearing white matter N-acetylaspartate changes in multiple sclerosis as a potential biomarker// J PNAS, Sofia, приета за печат. **IF 0.3**

## УЧАСТИЯ В НАУЧНИ КОНГРЕСИ, КОНФЕРЕНЦИИ И СИМПОЗИУМИ

---

### ПУБЛИКАЦИИ В ПЕРИОДИЧНИ И ПРОДЪЛЖАВАЩИ ИЗДАНИЯ

---

1. Петрова, В., Множествена склероза. Какво трябва да знае всеки пациент. Книжка за пациента и неговите близки; 2005, София
2. Petrova, V. MD, Col. Assoc. Prof. Genov, K. MD, PhD, Prof. Traykov, L. MD, Dsc, Penkov, M. Proton Magnetic Resonance Spectroscopy in Patients with Multiple Sclerosis. XX-th Congress of Balkan Military Medical Committee, Thessaloniki, Greece, June. 08-11, 2015. Oral presentation
3. Petrova, V. MD, Col. Assoc. Prof. Genov, K. MD, PhD, Penkov, M. Validation of hippocampal volumetry using 3-D magnetic resonance imaging in multiple sclerosis patients. XXI-st Congress of Balkan Military Medical Committee, Bucharest, Romania, May. 31- June. 03, 2016. Oral presentation
4. Petrova, V., Genov, K., Mihajlova, S., Penkov, M. Hippocampal volume decline in early RRMS- the impact of circulating levels of BDNF and Treg lymphocytes. XXVI AINI Congress/ 16-th ESNI Congress, San Servolo, Venice, Italy, June. 26-30, 2017. Poster
5. Petrova, V., Genov, K., Penkov, M. Promising magnetic resonance approaches to the study of multiple sclerosis. XXII Congress of Balkan Military Medical Committee, Belgrade, Serbia, September. 25-28. 2017. Oral presentation

6. Petrova, V. MD, Genov, K. MD, Dsc. The impact of chronic fatigue on cognitive performance in patients with multiple sclerosis in the early stages of the disease. XXIII Congress of Balkan Military Medical Committee, Antalya, Turkey, May. 11-14. 2018. Oral presentation

## 8. SUMMARY

Multiple sclerosis is a chronic progressive autoimmune disease of the central nervous system with genetic predisposition. Environmental factors trigger immune response cascade with subsequent morphological changes in the white and gray matter. Magnetic resonance methods like proton magnetic resonance spectroscopy reveal specific tissue pathology within the plaques of demyelination. MRS gives the opportunity to assess metabolite brain tissue pattern within the normal appearing white matter. The method provides insight into metabolite behavior in the zones free of inflammation. Patients with multiple sclerosis develop neuropsychological deterioration years before detection of focal neurological deficit. Cognitive functioning is a substantial factor for quality of life. Progressive cognitive decline is specific for cognitive functioning in MS. So are the affective disorders. They might be the first signs of neurodegeneration.

The aim of this study was to evaluate neurodegenerative changes in relapsing-remitting multiple sclerosis patients with up to 10 years of disease duration through 3-D T1 MRT hippocamp volumetry. The second aim was to search for significant correlation between hippocampal volume, cognitive functioning, and brain metabolites, measured by magnetic resonance spectroscopy within the normal appearing white matter.

Materials and methods: 50 RRMS patients signed an informed consent and underwent neurological examination, blood testing and neuropsychological assessment with a battery of neuropsychological tests evaluating general cognitive functioning, working memory, visual-spatial memory, attention, information processing speed, depression, and fatigue. The results were compared to the findings in 28 healthy controls with matching demographic criteria. Both groups underwent conventional MRT imaging with subsequent 3-D T1 MRT hippocamp volumetry. MRS was applied for measuring brain metabolites Choline, Creatine and N-acetylaspartate in lesion free brain regions (NAWM).

Results and discussion: Data analysis revealed statistically significant reduction in hippocampal volume in RRMS patients in comparison with healthy controls. Gender determined significant difference was found. The female group of RRMS patients had statistically significant smaller hippocampal volume. Male RRMS patients demonstrated identical changes though without statistically significant difference. The findings stated an accompanying process of neurodegeneration.

The assessment of brain metabolite levels revealed elevated levels of Choline, Creatine and N-acetylaspartate in the RRMS group. N-acetylaspartate is a marker for neuronal integrity. The elevation is associated with axonal viability. Choline is a marker for membrane turnover. Thus, the results might be presumed to be an increase in membrane synthesis. The elevated Creatine levels supported this

conclusion. The analysis of metabolite ratios in both groups showed a decrease in NAA/Cr ratio and increase in Cr/NAA ratio in MS group. Statistically significant difference was found for both variables in comparison to the control group. The finding might be interpreted as a marker for an increase both in energy utilization in MS patients and in energy demands. We found an increase in Cho/NAA, decrease in NAA/Cho and Cho/Cr ratios, though with no statistical difference between both groups. Metabolite changes and ratio changes demonstrated the presence of morphological damage in the normal appearing white matter. These changes might be assumed as an early indicator for energy and structural deterioration, which in return provoked neuron- neuron communication interference.

Dementia is not a clearly defined condition in MS. Different clinical findings can present a state of dementia. Cortical lesions can cause aphasia, apraxia, agnosia thus presenting a state of dementia. Nevertheless, the term dementia is not used for marking the neurocognitive changes in MS because of the subtle manifestation and slower progression of symptoms. The clinical findings are defined as cognitive deterioration usually. The symptoms might present cortical type of dementia when they are associated with gray matter lesions. Subcortical type of dementia is observed more frequently, because of the disconnection syndrome caused by plaques of demyelination. Information processing speed is a domain of primary deficit, independent from the disease progression in MS. The assessment of neuropsychological changes in both groups revealed deterioration in cognitive functioning, information processing speed, attention, working memory, visual-spatial memory and affect. The subjects from the RRMS group had worse presentation in all the categories. The subjects had lower scores for both Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) and Symbol Digit Modalities Test (SDMT). Statistically significant difference was found for SDMT when compared to control group. SDMT is applied for evaluation of cognitive functioning in the context of visual-spatial information processing and working memory. Statistically significant worsening in SDMT presentation for male RRMS subjects was found. Hippocampal volume changes did not correlate to cognitive functioning deterioration assessed by PASAT and SDMT.

Depression scores were higher in the RRMS group. Goldberg Depression Inventory detected changes in 40% of the subjects, while Beck's Depression Inventory found changes in 28% of the subjects tested. Less than 10% of the MS patients demonstrated moderate to severe level of depression. According to both tests female subjects had higher scores in comparison to male. Most of them stated for having symptoms indicative of mild depression. Though gender did not determine depression severity.

Fatigue scores were exponential for no presence of fatigue in both RRMS group and healthy control group. Significant to strong correlation was found between depression and fatigue in the RRMS group. Both variables were assessed by self-evaluating questionnaires (Goldberg DI and Fatigue Severity Scale).

The data analysis of neuropsychological tests Goldberg DI, BDI, FSS and PASAT revealed no gender impact on cognitive functioning. Neither did the disease duration.

EDSS had a negative impact on cognitive functioning. Weak inversely proportional relationship was found between disability, evaluated by EDSS and the hippocampal volume changes.