

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

КАТЕДРА ПО НЕВРОЛОГИЯ

Завеждащ Катедра: Чл. кор. проф. д-р Лъчезар Трайков, дмн

Д-р Тодор Ангелов Кунчев

**КОГНИТИВНИ И ПОВЕДЕНЧЕСКИ НАРУШЕНИЯ
ПРИ ПАЦИЕНТИ С МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА**

Автореферат

на дисертационен труд за присъждане

на ОНС „Доктор“

Научна специалност: Неврология

Научни ръководители:

Чл. кор. проф. д-р Лъчезар Динчов Трайков, дмн

Доц. Маргарита Радославова Райчева, дп

София

2018

Дисертационният труд е написан на 187 страници и включва 58 фигури и 29 таблици. Библиографският списък съдържа 362 литературни източника, от които 10 на кирилица и 352 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита на Катедрен съвет на Катедрата по неврология към Медицински университет-София на 27.03.2018г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 05 юли 2018 г. от 14:00ч. в Аудиторията на Клиниката по нервни болести, УМБАЛ „Александровска“, София пред научно жури в състав:

1. Чл. кор. проф. д-р Лъчезар Трайков, дмн – вътрешен член, Ръководител Катедра по неврология на МФ, научен ръководител на докторанта;
2. Проф. д-р Евгения Василева, дмн – вътрешен член, Катедра по неврология на МФ;
3. Проф. д-р Стефка Янчева, дмн – външен член, пенсионер повече от пет години от академичния състав на МФ;
4. Проф. д-р Людмил Мавлов, дмн – външен член, пенсионер повече от пет години от академичния състав на МФ;
5. Доц. д-р Николай Никоевски, дмн - външен член, пенсионер повече от пет години от академичния състав на МФ;

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

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	5
ВЪВЕДЕНИЕ.....	6
1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	7
2. КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ.....	9
3. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	14
3.1 Оценка на когнитивния профил, депресията и умората в зависимост от продължителността на заболяването.....	14
3.1.1 Демографски и клинични характеристики на изследваната група.....	14
3.1.2 Динамика на резултатите от скалите за общо когнитивно функциониране (MMSE, MoCA) в зависимост от продължителността на заболяването..	16
3.1.3 Динамика на резултатите за вербална епизодична памет (FCSRT – тест на Buschke) в зависимост от продължителността на заболяването.....	18
3.1.4 Динамика на резултатите за зрително-пространствена памет (BVMT-R) в зависимост от продължителността на заболяването.....	26
3.1.5 Динамика на резултатите за вербална флуентност в зависимост от продължителността на заболяването.....	28
3.1.6 Динамика на резултатите за внимание, скорост на обработка на информацията, екзекутивни функции (PASAT, SDMT, DSMT, TMT, Stroop) в зависимост от продължителността на заболяването.....	30
3.1.7 Динамика на резултатите от скалите за депресия и умора в зависимост от продължителността на заболяването.....	37
3.1.8 Обсъждане.....	39
3.2 Връзка между невроизобразяване и когнитивни нарушения.....	50
3.2.1 Оценка чрез визуални скали на Pasquier и Scheltens.....	50
3.2.2 Корова патология и когнитивни нарушения.....	57
3.2.3 Обсъждане.....	62
3.3 Аполипопротеин Е и множествена склероза.....	66
3.3.1 Процентно разпределение на отделните генотипове за аполипопротеин Е при пациенти с множествена склероза и при здрави лица.....	66
3.3.2 Честотно разпределение на отделните алели при пациенти с множествена склероза и при здрави лица.....	67
3.3.3 Когнитивно функциониране в зависимост от носителството на алел Е4 при пациенти с множествена склероза.....	68

3.3.4	Обсъждане	71
3.4	Изследване на биомаркери в цереброспинална течност и връзката им с когнитивните нарушения.....	72
3.4.1	Демографски и клинични характеристики на изследваната група.....	72
3.4.2	Изследване на общ и фосфорилиран тау и амилоид-бета.....	73
3.4.3	Корелация между количеството на амилоид-бета и продължителността на заболяването.....	74
3.4.4	Корелация между количеството на амилоид-бета и когнитивното представяне.....	75
3.4.5	Сравнение на ликворни биомаркери между пациенти с множествена склероза и болест на Алцхаймер.....	77
3.4.6	Обсъждане.....	79
4.	ИЗВОДИ.....	84
5.	ПРИНОСИ.....	86
	Списък с публикациите, свързани с дисертационния труд.....	87

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ДНК – дезоксирибонуклеинова киселина

МРТ – магнитно-резонансна томография

МС – множествена склероза

АpoE – Apolipoprotein E

bp – base pairs

BVMTR – Brief Visuospatial Memory Test Revised

CSF – Cerebrospinal Fluid

DIR – Double Inversion Recovery

DSMT – Digit Symbol Modalities Test

DTI – Diffusion Tensor Imaging

EDSS – Expanded Disability Status Scale

FCSRT – Free and Cued Selective Reminding Test

IST – Isaacs Set Test

MACFIMS – Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis

MMSE – Mini-Mental State Examination

MRI – Magnetic Resonance Imaging

MS – Multiple Sclerosis

PASAT – Paced Auditory Serial Addition Test

PCR – Polymerase Chain Reaction

PET – Positron Emission Tomography

SCWT – Stroop Color and Word Test

SDMT – Symbol Digit Modalities Test

TMT – Trail Making Test

ВЪВЕДЕНИЕ

Въпреки дългогодишните изследвания върху множествената склероза и значителния напредък в терапевтичното ѝ повлияване, това заболяване остава загадка за неврологичната общност предвид неясната си етиология и патогенеза и необяснимата си клинична вариабилност между различните форми и дори отделните пациенти. Сред множеството въпроси, налагащи допълнително проучване, са профилът и значението на когнитивния дефицит при множествена склероза. Макар наличието му да е известно още от средата на XIX век, едва в края на XX век започва истинският напредък в разгадаването му, довел до знанията, които притежаваме днес. Високата честота на когнитивни нарушения, наличието им във всички стадии на болестта и значителната им тежест в определен процент от случаите превръщат този аспект на заболяването в една от най-инвалидиращите му прояви, влошаваща значително качеството на живот на пациентите.

Еволюцията на познанията ни за профила на когнитивните нарушения при множествена склероза естествено проследява и прехода в разбирането ни за патогенезата на тази болест – днес тя се възприема не само като увреждащо миелина невровъзпалително заболяване, но и като прогресивно невродегенеративно заболяване, засягащо и аксоните и водещо до загуба на мозъчен обем дори и в доброкачествените си форми. Съвременните методи за образно изследване на централната нервна система промениха класическото схващане, че когнитивните нарушения са функция единствено от броя и големината на демиелинизационните лезии. Атрофичните процеси, а в последните години и дифузните промени в „нормално изглеждащото“ бяло вещество и кортикалните лезии, доказаха своята независима роля в генезата на когнитивния дефицит. Високият научен интерес и впечатляващото количество проучвания в тази насока все още не предлагат окончателен отговор на въпроса за относителната тежест на всеки един от тези процеси в патогенезата на когнитивните нарушения, както и за връзката им с определени елементи от смятания за уникален по своята структура профил на когнитивен дефицит при това заболяване. От друга страна, недостатъчни са изследванията, представящи динамиката на този профил в хода на заболяването.

Целта на настоящото проучване е да характеризира профила на когнитивни нарушения при пациенти с множествена склероза, да оцени динамиката му в зависимост от продължителността на заболяването, да открие корелациите между определени модели на мозъчна увреда и съответстващите им невропсихологични прояви, както и да потърси връзка между някои биомаркери за невродегенерация и тежестта на когнитивния дефицит.

1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящата работа е да се установи профила на когнитивните нарушения в кохорта български пациенти с множествена склероза в зависимост от продължителността на заболяването им и тези данни да бъдат корелирани с ключови показатели от образните изследвания на централната нервна система, както и с биомаркери в цереброспиналната течност и серума на болните – амиолид-бета и тау протеини в ликвор и ApoE генотипна характеристика.

За осъществяване на целта са поставени следните задачи:

1. Разработване и усвояване на специализиран невропсихологичен инструментариум за определяне на когнитивен профил според известните му особености при множествена склероза;
2. Събиране на кохорта от пациенти с множествена склероза;
3. Детайлно клинично фенотипизиране на пациентите чрез клинични, невропсихологични, невроизобразяващи и лабораторни методи;
4. Провеждане на невропсихологични изследвания при пациентите чрез използване на установената невропсихологична батерия и сравняване на получените резултати с тези на здрави контроли, съответстващи по възраст и образователен ценз на изследваните лица;
5. Провеждане на невроизобразяващи изследвания в групата пациенти с множествена склероза;
6. Провеждане на лумбална пункция при пациенти с множествена склероза, изразили в писмен вид информирано съгласие за провеждане на манипулацията и изследване на цереброспиналната течност за количествено определяне на амилоид-бета и тау протеини;
7. Вземане на периферна кръв и изолиране на ДНК при пациенти с множествена склероза, изразили в писмен вид информирано съгласие за провеждане на генетични изследвания, ApoE генотипизиране на пациентите и сравняване на получените резултати с тези на здрави контроли, изразили съгласието си за участие под същата форма;
8. Сравняване на резултатите от невропсихологичните изследвания при пациентите с множествена склероза в зависимост от продължителността на заболяването им;
9. Изследване на корелациите между невропсихологичните резултати на пациентите с множествена склероза и ключови показатели от невроизобразяващите изследвания, отразяващи тежестта на невровъзпалителната и невродегенеративна (глобална и регионална) компонента на заболяването ;

10. Изследване на корелациите между невропсихологичните резултати на пациентите с множествена склероза и получените резултати от количественото определяне на ликворните биомаркери;
11. Сравняване на резултатите от невропсихологичните изследвания при пациентите с множествена склероза в зависимост от ApoE генотипа им.

2. КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ

В настоящото изследване участват общо 280 лица, а именно:

1. Група от пациенти с множествена склероза (n = 100)
2. Контролна група от здрави лица, при които са проведени невропсихологични изследвания (n = 57)
3. Контролна група от здрави лица, при които е изследван генотип на ApoE (n = 108)
4. Група от лица с болест на Алцхаймер, при които е проведено изследване на биомаркери в цереброспиналната течност (n = 15)

Всяко лице от групата пациенти е с дефинитивна диагноза множествена склероза, поставена по критериите на McDonald et al., ревизирани от Polman et al. през 2010г. (Polman, 2011). Пациентите са изследвани в периода май 2015 – август 2017. При всеки пациент е снета подробна анамнеза, изследвани са соматичен и неврологичен статус и е оценена степента на инвалидизация по скалата EDSS. Невропсихологичната батерия, използвана при пациентите с множествена склероза, обхваща множество когнитивни сфери (общ когнитивен статус, вербална и невербална памет, вербална флуентност, внимание, екзекутивни функции). Включени са следните скали и тестови методи:

- *Общо когнитивно функциониране* – скалите Mini-Mental State Examination (MMSE) и Montreal Cognitive Assessment (MoCA);
- *Заучаване на нова информация, епизодична вербална памет* – Buschke Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT, тест на Buschke) – на изследваното лице се представят последователно 4 карти с по 4 думи и след интерференция с обратно броене има три опита за самостоятелно припомняне на представените думи; за думите, които не е успял да си припомни, пациентът получава семантично подсказване; непосредствено след фазата на подпомаганото заучаване изследваното лице трябва да разпознае заучаваните думи сред други нови думи; опитът за самостоятелно припомняне на 16-те думи се повтаря след около 25-30 минути;
- *Заучаване на нова информация, епизодична зрително-пространствена памет* – Brief Visuospatial Memory Test – Revised (BVMТ-R) – на изследваното лице се представя лист с шест фигури за 10 секунди, които той трябва да възпроизведе чрез рисуване по памет в рамките на три опита с повторно представяне на фигурите преди всеки опит; 25-30 минути след третия опит пациентът трябва да нарисова фигурите по памет;
- *Вербална флуентност* – Isaac's Set Test – изброяване на възможно най-много думи в 4

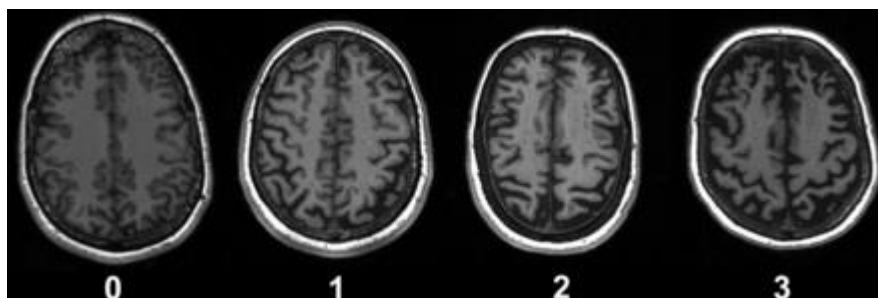
определени категории, всяка за 15 секунди; фонемна вербална флуентност – изброяване на възможно най-много думи, започващи с определена буква за 1 минута; семантична вербална флуентност – изброяване на възможно най-много животни за 1 минута;

- *Внимание и екзекутивни функции* – Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) – тест за слухово проследяване на серия от представящи се през 3 секунди едноцифрени числа, като изследваното лице трябва да каже сбора на всеки две последни числа; Symbol Digit Modalities Test (SDMT) – попълване на липсващи цифри под съответни символи по дадена на изследваното лице легенда; Digit Symbol Modalities Test (DSMT) – попълване на липсващи символи под съответни цифри по дадена на изследваното лице легенда; Trail Making Test в две части – част А изисква от изследваното лице да свързва последователно числата от естествения ред за време, а в част Б се свързват алтерниращо числата от естествения ред и буквите от азбуката във възходящ ред (число-буква-число-буква) и Stroop Colour Word Test (SCWT) в три части – в първата за време пациентът чете думи, означаващи цветове, във втората назовава за време изобразени цветове, а в третата назовава за време цвета на мастилото на напечатани думи, означаващи цвят, различен от непосредствено възприемания цвят (конфликтно подусловие);

Депресията се оцени чрез въпросника Beck's Depression Inventory, а умората – посредством скалата Fatigue Severity Scale.

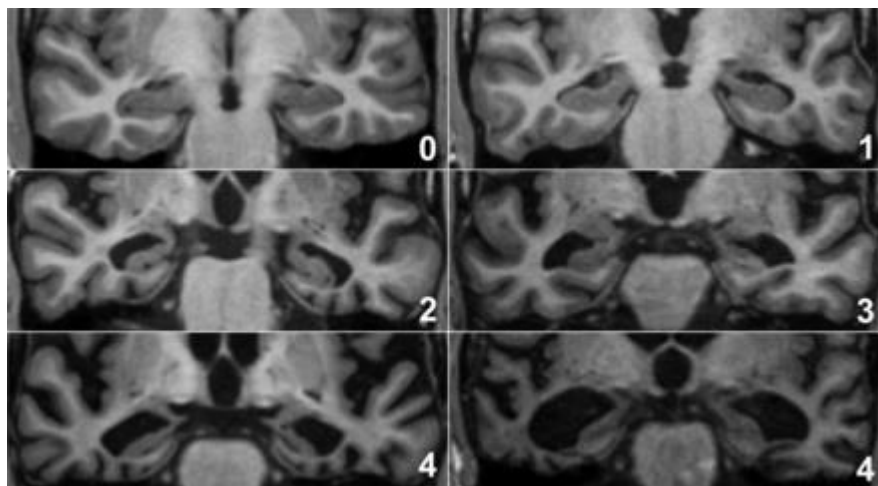
При 22 пациенти се проведе МРТ на главен мозък и резултатите се оцениха чрез визуални скали. Общата корова атрофия се оцени чрез четиристепенната визуална скала на Pasquier (Фигура 1) (Pasquier, 1997):

Фигура 1. Четиристепенна визуална скала на Pasquier за оценка на общата корова атрофия



Медиалната темпорална атрофия се оцени чрез петстепенната визуална скала на Scheltens (Фигура 2) (Scheltens, 1992):

Фигура 2. Петстепенна визуална скала на Scheltens за оценка на медиалната темпорална атрофия



При 15 пациента се проведе 3-Тесла МРТ на главен мозък с добавяне към стандартния протокол на 3D DIR (3-Dimensional Double Inversion Recovery) секвенцията в сагиталната равнина за оценка на коровите лезии. Образите бяха прегледани и сравнени от двама радиолози. Лезиите бяха разделени в 5 групи и тежестта на патологията се оцени, заедно със стадия на коровата атрофия, по скала от 0 до 3 (Таблица 1):

Таблица 1. Протокол за оценка на образната патология

	Корова атрофия	Корови лезии	Субкортикални лезии	Лезии в дълбоко бяло мозъчно вещество	Перивентрикуларни лезии	Субтенториални лезии
0	Няма	Няма	Няма	Няма	Няма	Няма
1	Лекостепенна	Малко – до 3	Малко – до 3	Единични	Единични	Малко – до 3
2	Умерена	Умерено – до 10	Умерено – до 10	Множество, неконфлуиращи	Множество, неконфлуиращи	Умерено – до 10
3	Силно изразена + малкомозъчна атрофия	Много – над 10	Много – над 10	Множество, конфлуиращи	Множество, конфлуиращи	Много – над 10

Генетичното изследване за определяне на генотипа на аполипопротеин Е беше извършено след подписване на информирано съгласие от 43 от пациентите с множествена склероза и от 108 здрави контроли. За целта от всеки от тези участници бяха взети около 8мл периферна кръв и беше изолирана ДНК чрез Chemagic Magnetic Separation Module I (Chemagen AG) и Chemagic Blood Kit реагенти. ApoE генотипирането бе извършено по метода на Nixon и Powers. Избраният участък от ДНК с дължина 266bp беше амплифициран чрез полимеразно-верижна реакция (PCR). PCR-продуктът беше анализиран чрез електрофореза в 2% агаров гел за изключване на контаминация. Амплифицираният участък беше подложен на рестрикция в буферна смес с Hae II (restriction site “CGC”) и Afl III (restriction site “TGC”). Дължината на фрагментите беше анализирана чрез агарозна електрофореза спрямо стандарт (ladder, 100bp), съответно за E2 – фрагменти с дължина 92bp и 174bp, за E3 – фрагменти с дължина 29bp, 92bp, 145bp и за E4 – фрагменти с дължина 29bp и 237bp.

Търговски ELISA набори са използвани за околичествяване на биомаркерите тотален тау, фосфорилиран тау и бета-амилоид в ликвор на пациенти. Тестовете са извършвани съгласно инструкциите на производителя. Ликворните проби са анализирани проба по проба, като се използват търговски достъпни имуноензимни анализи (INNOTEST, Innogenetics) за определяне на нивата на амилоид бета 1-42, общ и фосфорилиран тау.

За статистическа обработка на данните бяха използвани следните статистически методи:

1. Дескриптивен анализ – представени са средните аритметични стойности при оценяване на централната тенденция и стандартните отклонения при оценка на разсейването на изследваните количествени признаци;
2. Графичен анализ – за сравняване и онагледяване на статистическите данни;
3. Непараметричен тест на Шапиро-Уилк – за определяне на вида на разпределението и последващо решение за използвания тест за сравнение на две или повече променливи – параметричен/непараметричен;
4. Т-тест на Стюдънт за сравняване на средни величини между две независими извадки, при положение, че са покрити всички критерии за правомерната му употреба;
5. Непараметричен тест на Ман-Уитни за проверка за хипотези за различие между две независими извадки, когато не са изпълнени условията за употреба на Т-тест на Стюдънт;
6. Еднофакторен дисперсионен анализ (one-way ANOVA) – за проверка на хипотези за различие между повече от две независими извадки, при положение, че са

- покрити всички критерии за правомерната му употреба. При наличие на значим ефект разликите между групите се сравниха post-hoc с анализа на Тюки;
7. Тест на Ливин – за оценка равенството на дисперсиите при употреба на еднофакторен дисперсионен анализ;
 8. Непараметричен тест на Кръскал-Уолис – за проверка на хипотези за различие между повече от две независими извадки, когато не са изпълнени условията за употреба на еднофакторен дисперсионен анализ. При наличие на значим ефект разликите между групите се сравниха post-hoc с процедурата на Dunn с корекция на Бонферони за множество сравнения;
 9. Корелационен анализ – за търсене на взаимовръзка между различни променливи (корелация на Пирсън при покриване на всички критерии за правомерната му употреба и корелация на Спирман при останалите случаи);
 10. Тест χ^2 (Хи-квадрат тест на Пирсън) и екзактен тест на Фишър – за проверка на хипотези за наличие на връзка между категорийни променливи.

Получените резултати бяха анализирани чрез софтуерния пакет на IBM SPSS Statistics 23.0. За ниво на статистическа значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза, бе избрано $p < 0.05$.

3. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

3.1 Оценка на когнитивния профил, депресията и умората в зависимост от продължителността на заболяването

3.1.1 Демографски и клинични характеристики на изследваната група

Основните демографски и клинични данни на изследваните 100 пациенти с множествена склероза са представени в следната таблица:

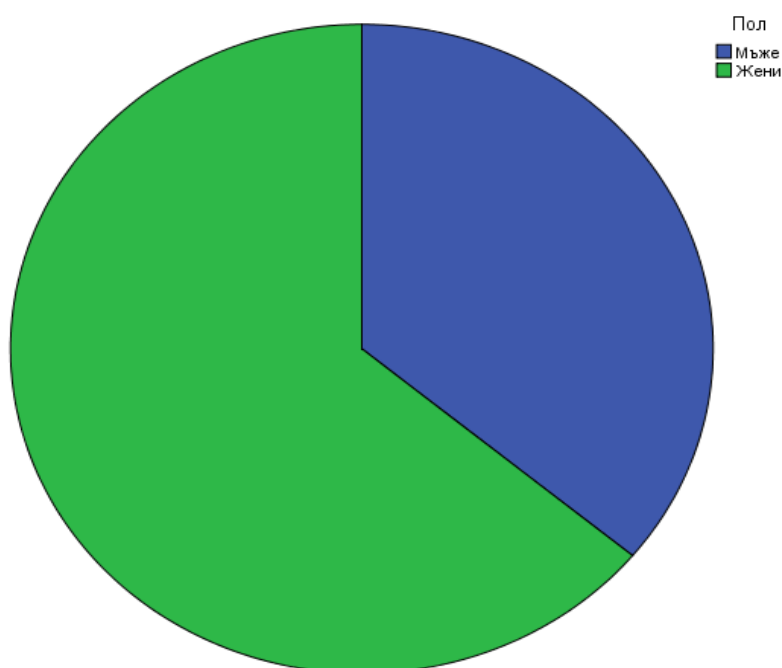
Таблица 2. Демографски и клинични характеристики на общата кохорта пациенти с множествена склероза

Възраст	41.16 ± 10.89
Пол (Ж/М)	64/36
Образование	13.5 ± 2.57
Продължителност на заболяването в години	8.46 ± 8.13
EDSS	3.1 ± 1.6
MMSE	27.66 ± 2.02
MoCA	24.89 ± 4.3
Fatigue Severity Scale	3.66 ± 1.79
Beck's Depression Scale	13.41 ± 11.46

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. EDSS – Expanded Disability Status Scale; MMSE – Mini-Mental State Examination; MOCA – Montreal Cognitive Assessment

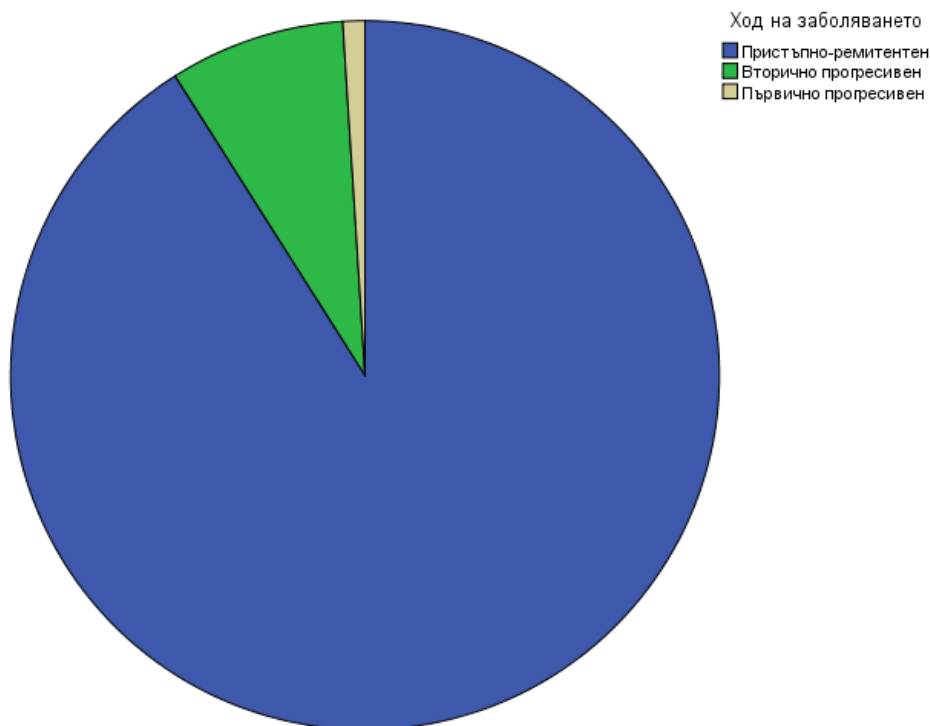
Половото разпределение на изследваните пациенти е представено в следната диаграма (Фигура 3):

Фигура 3. Полово разпределение на пациентите с множествена склероза



От изследваните 100 пациенти 91 са с пристъпно-ремитентен ход на заболяването, 8 са с вторично прогресивен ход, а 1 пациент е диагностициран с първично прогресивна множествена склероза. Разпределението на пациентите спрямо хода на протичане на заболяването е представено в следната диаграма (Фигура 4):

Фигура 4. Разпределение на пациентите с множествена склероза спрямо хода на протичане на заболяването



Пациентите бяха разделени спрямо продължителността на заболяването си в три групи – пациенти с продължителност на заболяването <1 година (n = 20), пациенти с продължителност на заболяването между 1 и 10 години (n = 43) и пациенти с продължителност на заболяването >10 години (n = 37). Основните демографски и клинични данни на тези групи, както и тези на здравите контроли (n = 57) са представени в следната таблица:

Таблица 3. Демографски и клинични характеристики на групите, разделени спрямо продължителността на заболяването

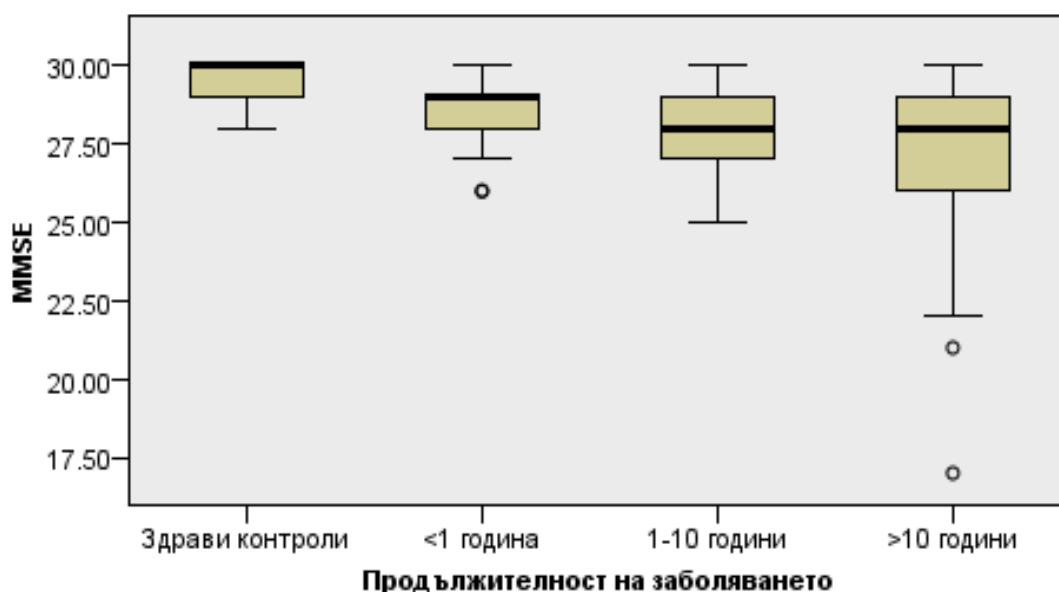
	Здрави контроли (n = 57)	Пациенти с продължителност на заболяването <1 година (n = 20)	Пациенти с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (n = 43)	Пациенти с продължителност на заболяването >10 години (n = 37)
Възраст	35.35 ± 5.89	35.2 ± 9.29	39.56 ± 10.68	46.24 ± 9.92
Пол (Ж/М)	35/22	15/5	19/24	30/7
Образование	13.91 ± 1.71	13.45 ± 2.7	13.58 ± 2.63	13.43 ± 2.4
Продължителност на заболяването в години	–	0.15 ± 0.25	5 ± 2.7	16.97 ± 6.8
EDSS	–	2.05 ± 0.76	2.91 ± 1.44	3.89 ± 1.73

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. EDSS – Expanded Disability Status Scale

3.1.2 Динамика на резултатите от скалите за общо когнитивно функциониране (MMSE, MoCA) в зависимост от продължителността на заболяването

За да се уточни има ли разлика между резултатите от скалата MMSE между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите от скалата MMSE са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 40.782$, $p < 0.001$. Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите от скалата MMSE между здравите контроли (101.34) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (69.38) ($p = 0.016$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (54.76) ($p < 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (48.46) ($p < 0.001$), но не и между групите пациенти с различна продължителност на заболяването (Фигура 5).

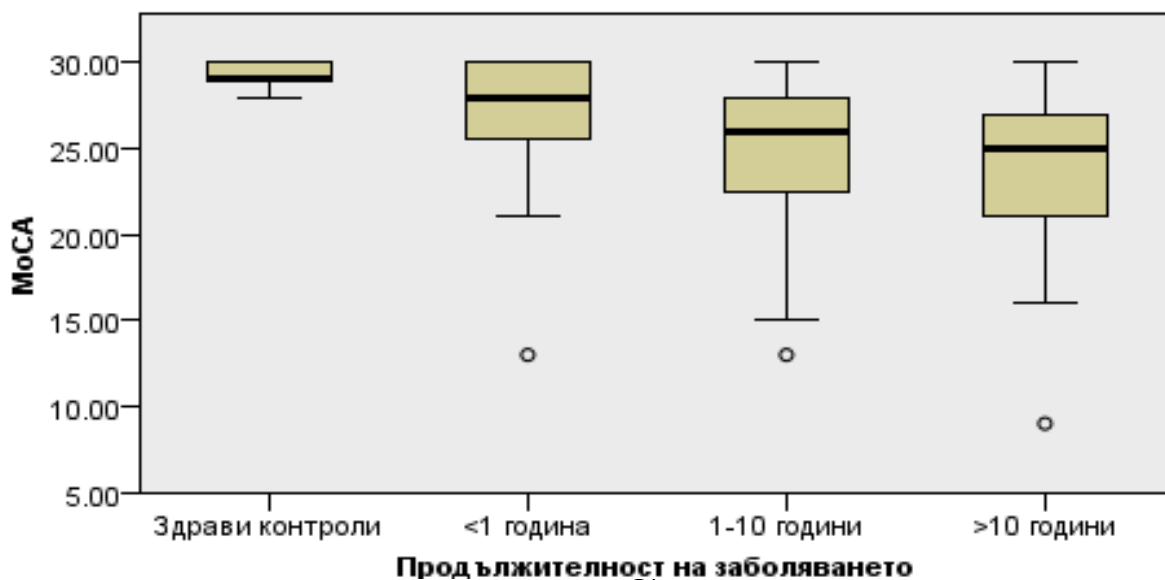
Фигура 5. Динамика в резултатите от MMSE в зависимост от продължителността на



заболяването

За да се уточни има ли разлика между резултатите от скалата МоСА между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите от скалата МоСА са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 43.492$, $p < 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите от скалата МоСА между здравите контроли (100.12) и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (43.82) ($p < 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (48.46) ($p < 0.001$), както и между пациентите с продължителност на заболяването <1 година (75.48) и тези с продължителност на заболяването >10 години ($p = 0.009$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 6).

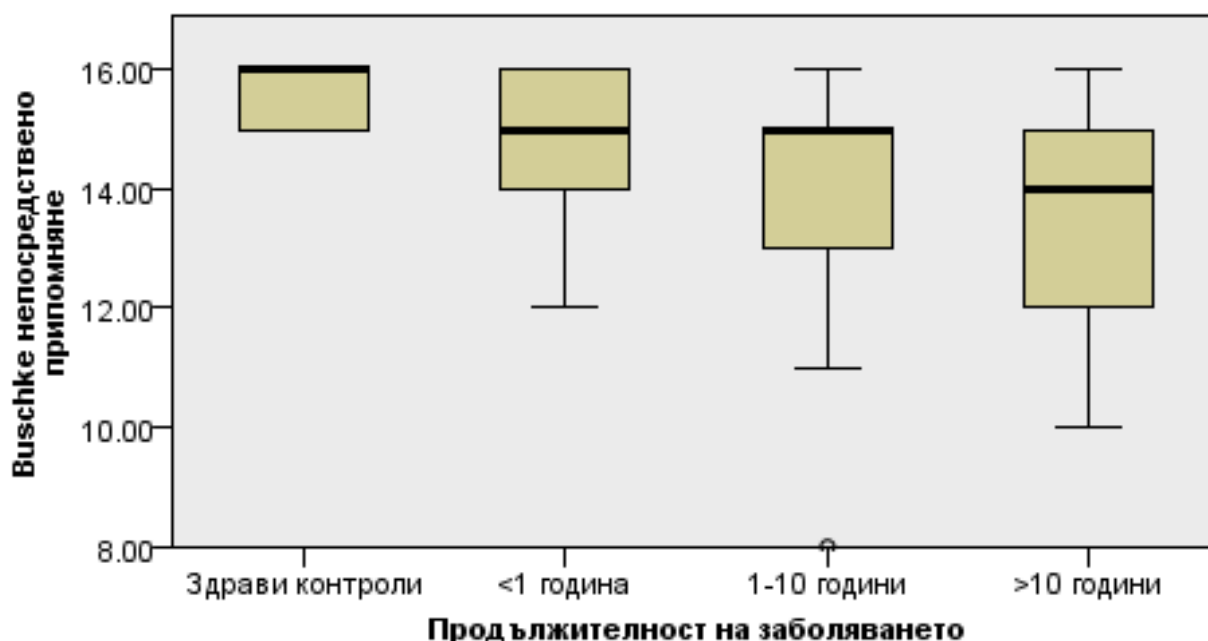
Фигура 6. Динамика в резултатите от МоСА в зависимост от продължителността на заболяването



3.1.3 Динамика на резултатите за вербална епизодична памет (FCSRT – тест на Buschke) в зависимост от продължителността на заболяването

За да се уточни има ли разлика между резултатите за непосредствено припомняне от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите за непосредствено припомняне са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 35.298$, $p < 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за непосредствено припомняне между здравите контроли (97.89) и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (54.45) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (50.39) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 7).

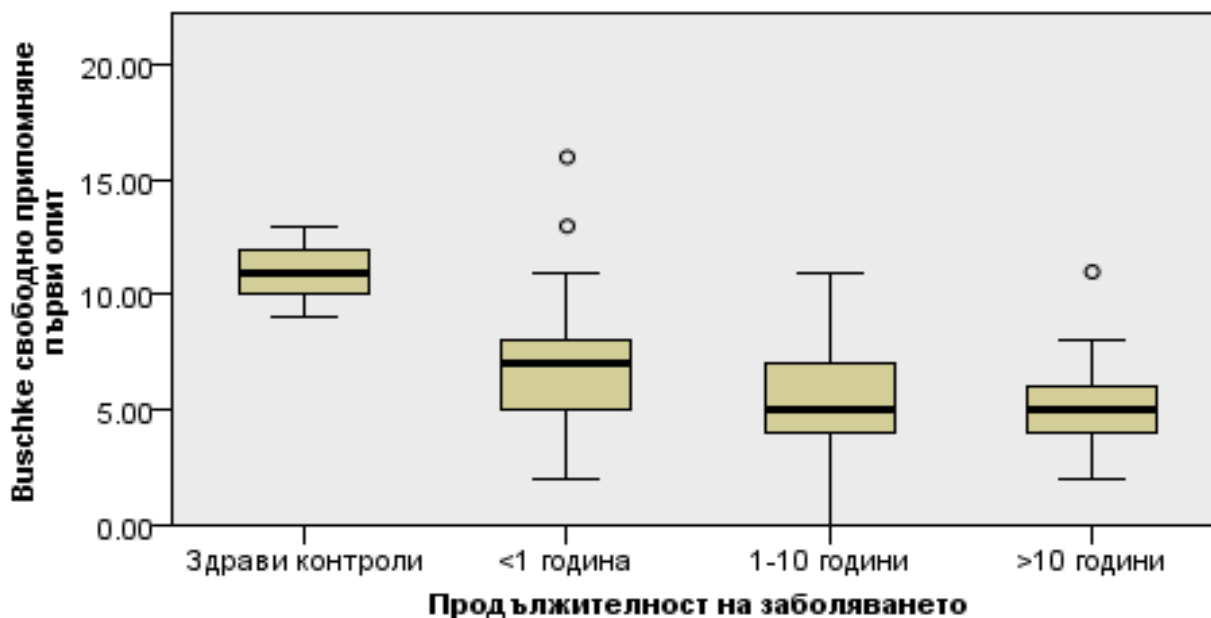
Фигура 7. Динамика в резултатите за непосредствено припомняне в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



За да се уточни има ли разлика между резултатите за свободно припомняне при първи опит от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за свободно припомняне при първи опит са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 68.425$, $p < 0.001$ Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за свободно припомняне от първи опит между здравите контроли (11.00) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (7.00) ($p < 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (5.00) ($p < 0.001$) и между здравите

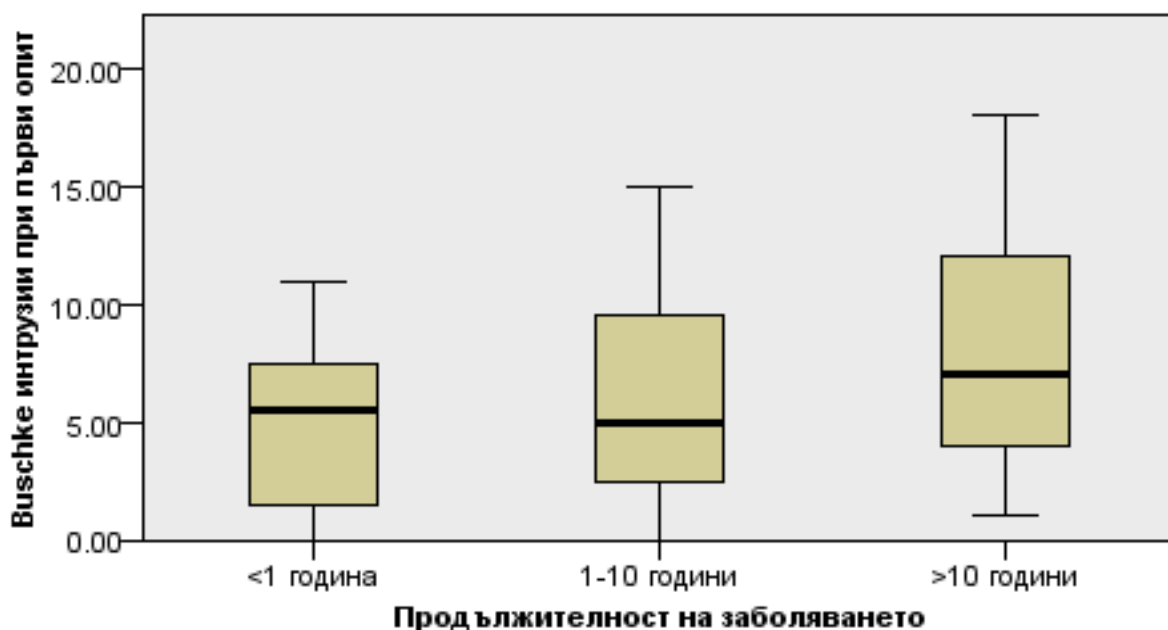
контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (5.00) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 8).

Фигура 8. Динамика в резултатите за свободно припомняне от първи опит в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



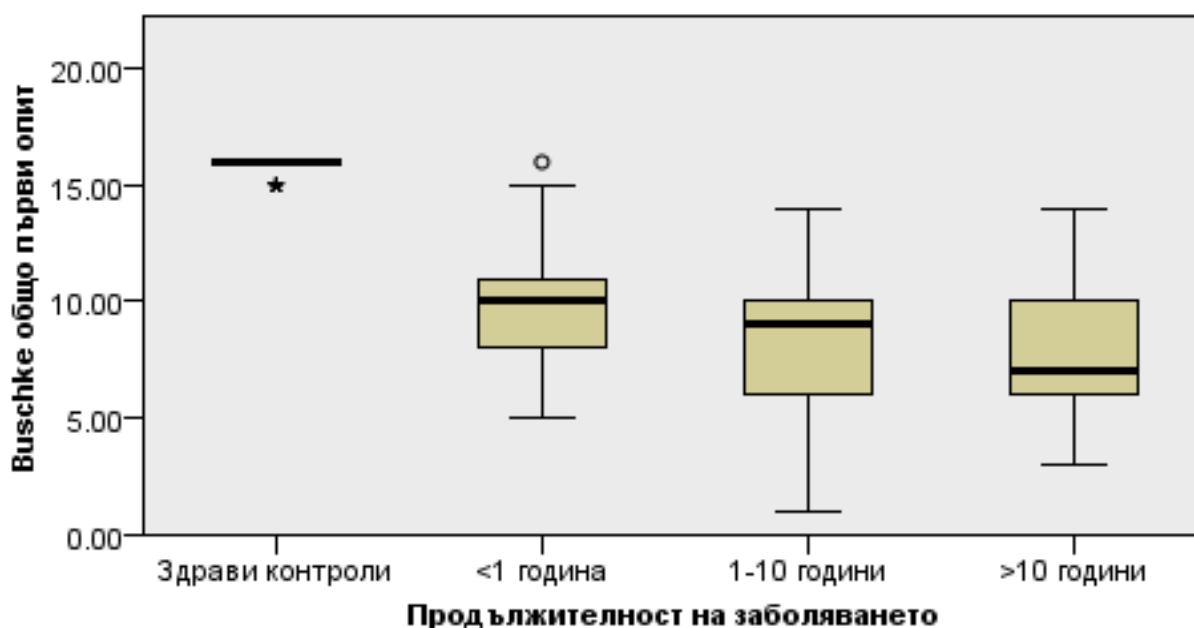
За да се уточни има ли разлика между резултатите за общо припомняне при първи опит от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите за общо припомняне при първи опит са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 74.597$, $p < 0.001$. Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за общо припомняне при първи опит между здравите контроли (115.84) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (63.98) ($p < 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (49.28) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (45.20) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 9).

Фигура 9. Динамика в резултатите за общо припомняне от първи опит в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



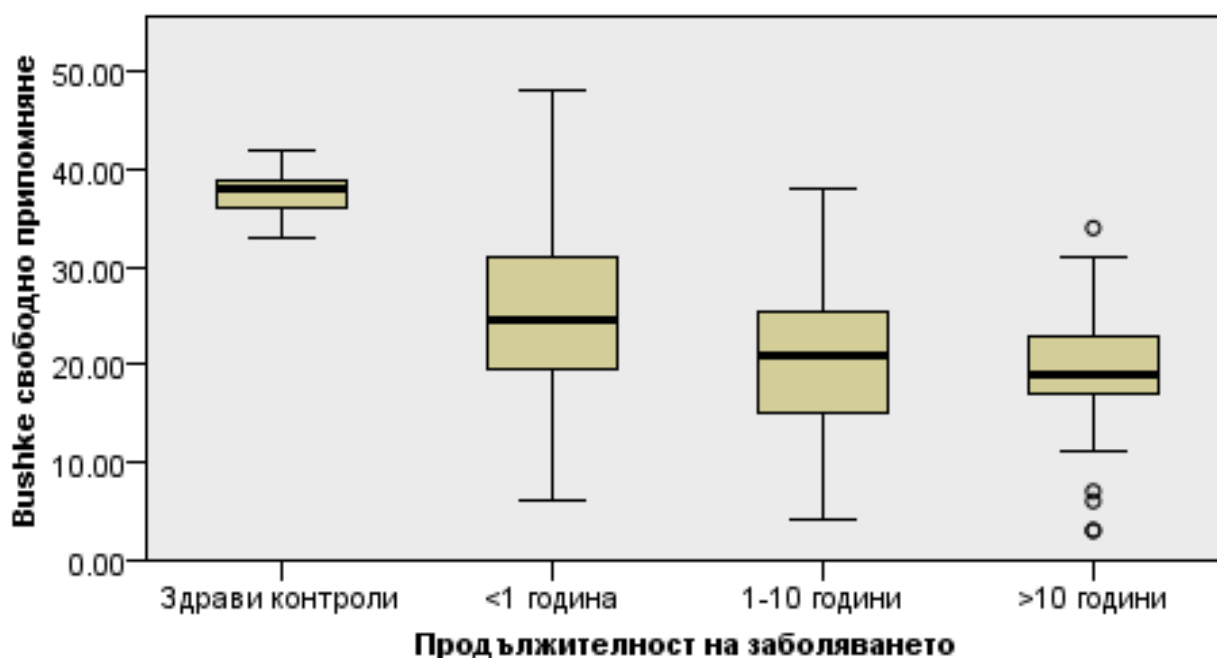
За да се уточни има ли разлика между резултатите за броя интрузии при първи опит от FCSRT (тест на Buschke) между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за броя интрузии при първи опит не са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(2) = 5.553$, $p = 0.062$ (Фигура 10).

Фигура 10. Динамика в броя интрузии при първи опит в зависимост от продължителността на заболяването



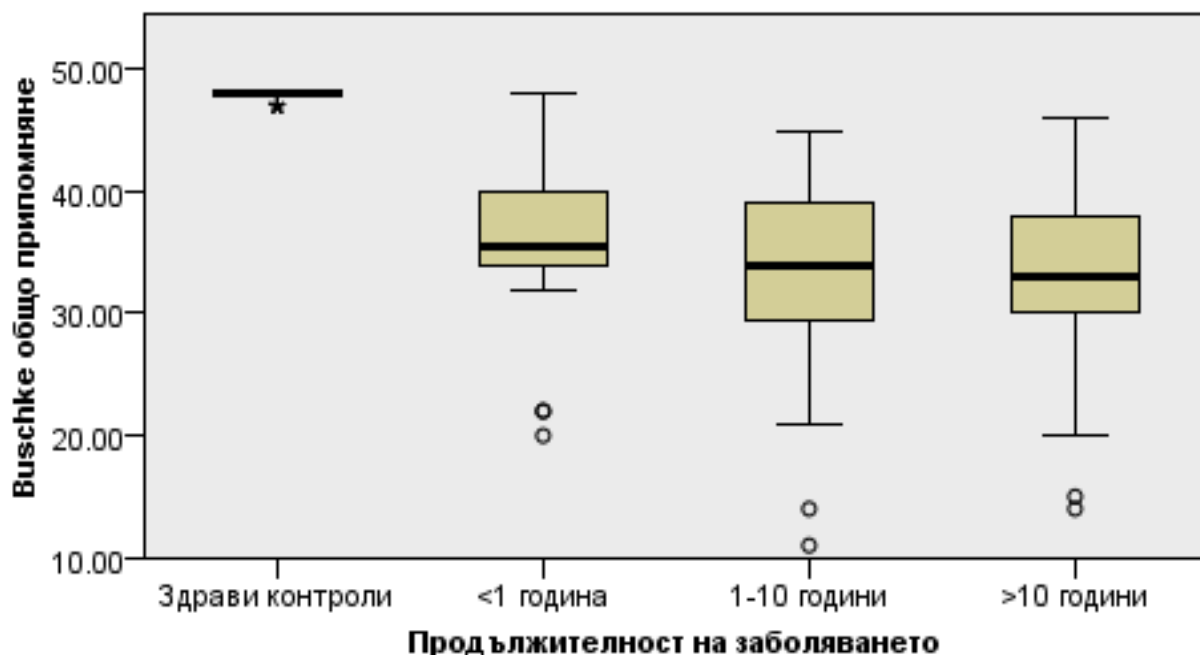
За да се уточни има ли разлика между резултатите за свободно припомняне от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за свободно припомняне са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 65.164$, $p < 0.001$ Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за свободно припомняне между здравите контроли (38.00) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (24.50) ($p < 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (21.00) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (19.00) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 11).

Фигура 11. Динамика в резултатите за свободно припомняне в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



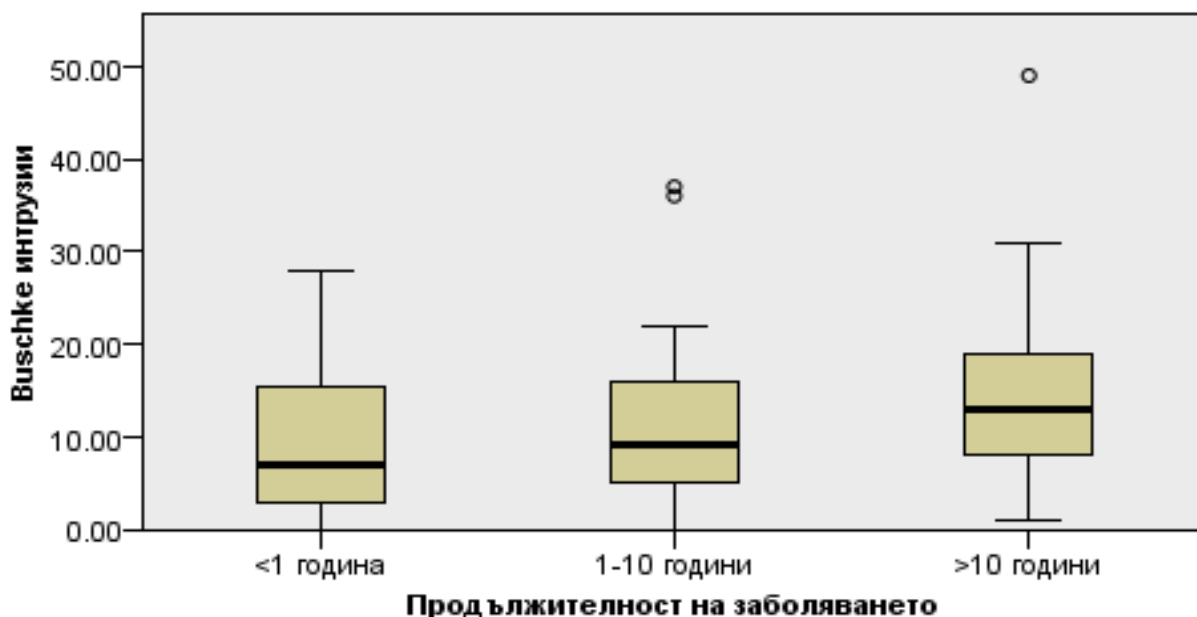
За да се уточни има ли разлика между резултатите за общо припомняне от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис.. Разпределенията на резултатите за общо припомняне са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 72.556$, $p < 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за общо припомняне между здравите контроли (115.84) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (59.58) ($p < 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (49.88) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (46.88) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 12).

Фигура 12. Динамика в резултатите за общо припомняне в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



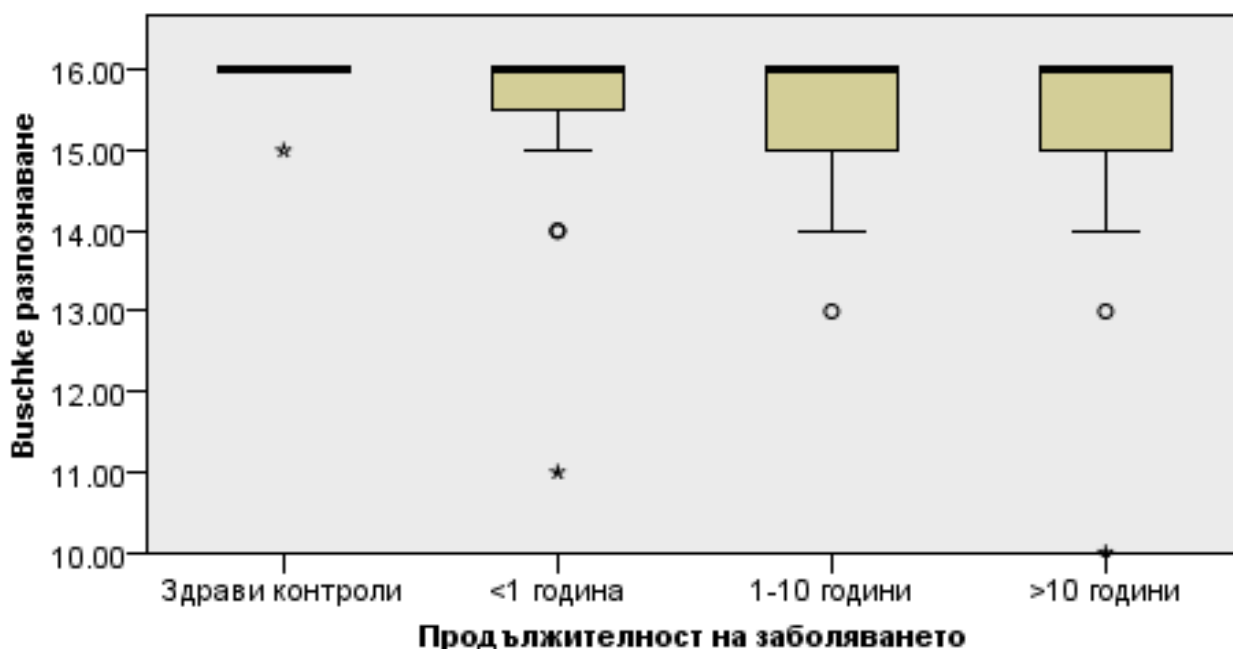
За да се уточни има ли разлика между резултатите за броя интрузии от FCSRT (тест на Buschke) между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за броя интрузии не са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(2) = 4.365$, $p = 0.113$ (Фигура 13).

Фигура 13. Динамика в броя интрузии в зависимост от продължителността на заболяването



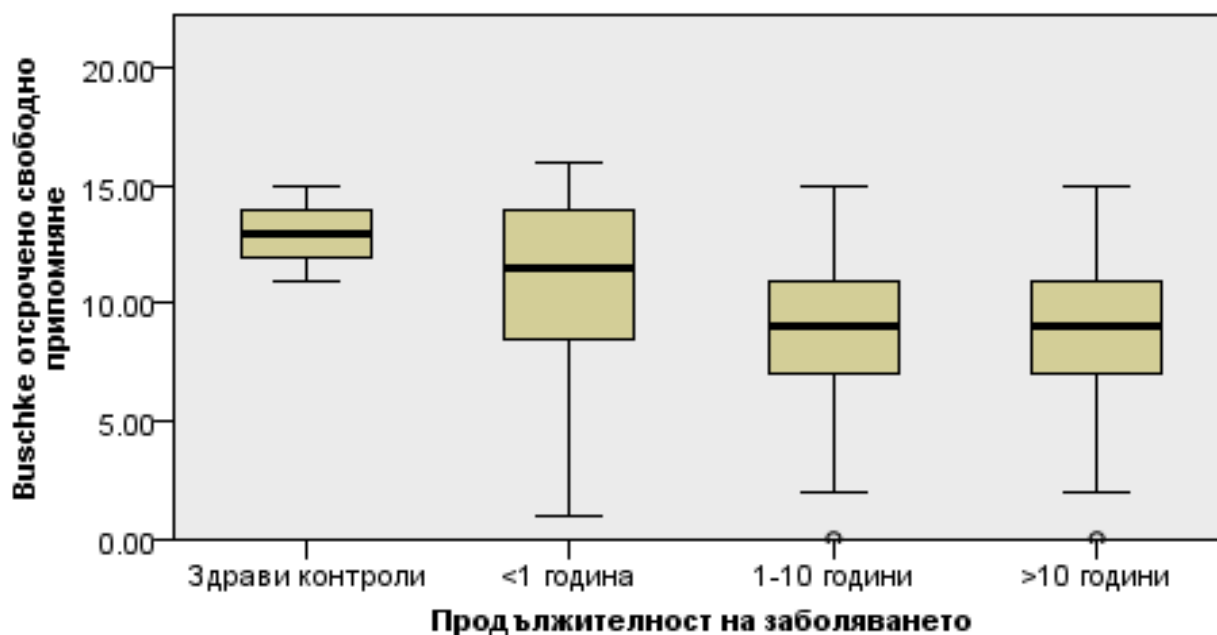
За да се уточни има ли разлика между резултатите за разпознаване от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите за разпознаване са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 16.258$, $p = 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за разпознаване между здравите контроли (84.66) и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (58.20) ($p = 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (59.27) ($p = 0.004$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 14).

Фигура 14. Динамика в резултатите за разпознаване в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



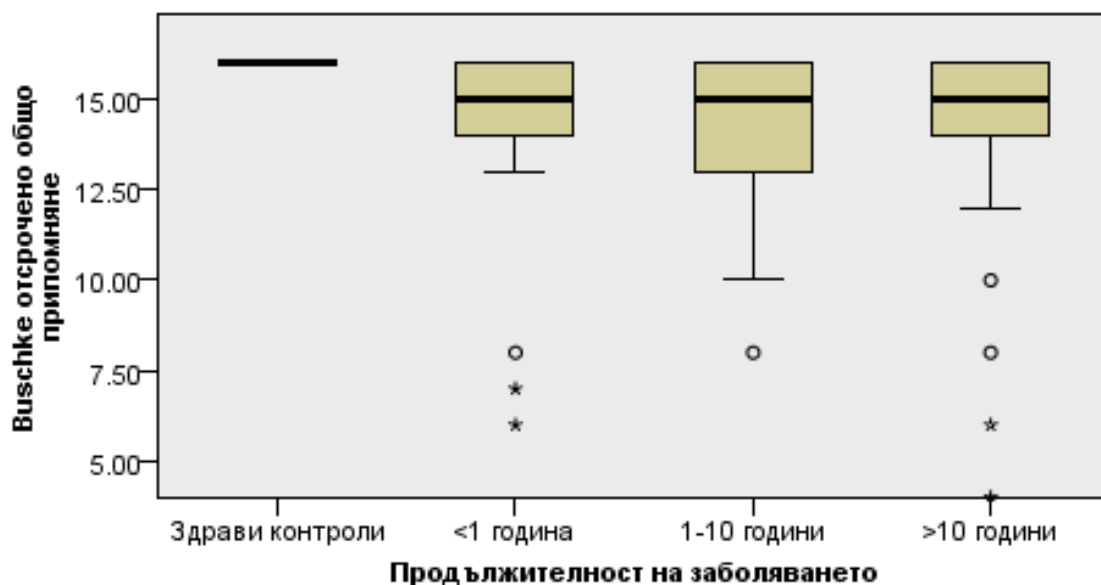
За да се уточни има ли разлика между резултатите за отсрочено свободно припомняне от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за отсрочено свободно припомняне са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 39.858$, $p < 0.001$ Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за отсрочено свободно припомняне между здравите контроли (13.00) и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (9.00) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (9.00) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 15).

Фигура 15. Динамика в резултатите за отсрочено свободно припомняне в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



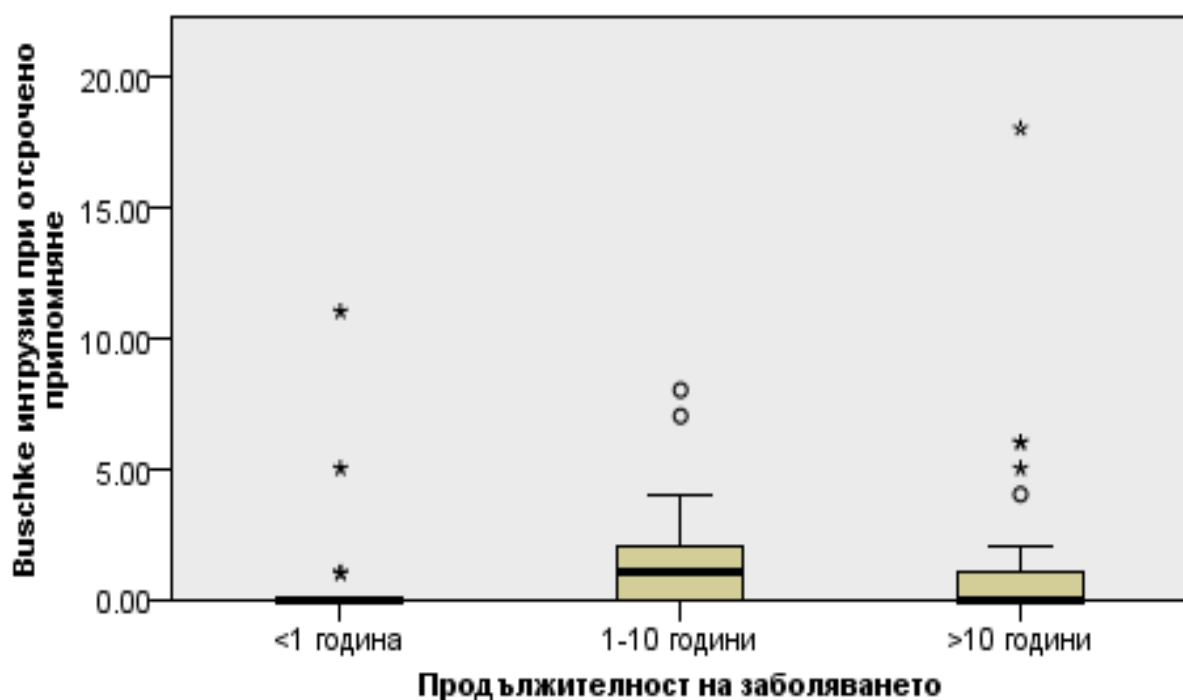
За да се уточни има ли разлика между резултатите за отсрочено общо припомняне от FCSRT (тест на Buschke) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите за отсрочено общо припомняне са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 36.927$, $p < 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите за отсрочено общо припомняне между здравите контроли (99.50) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (60.92) ($p = 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (53.42) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (56.18) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 16).

Фигура 16. Динамика в резултатите за отсрочено общо припомняне в зависимост от продължителността на заболяването (брой думи)



За да се уточни има ли разлика между резултатите за броя интрузии при отсрочено припомняне от FCSRT (тест на Buschke) между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Средните рангове за броя интрузии не са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(2) = 4.563$, $p = 0.102$ (Фигура 17).

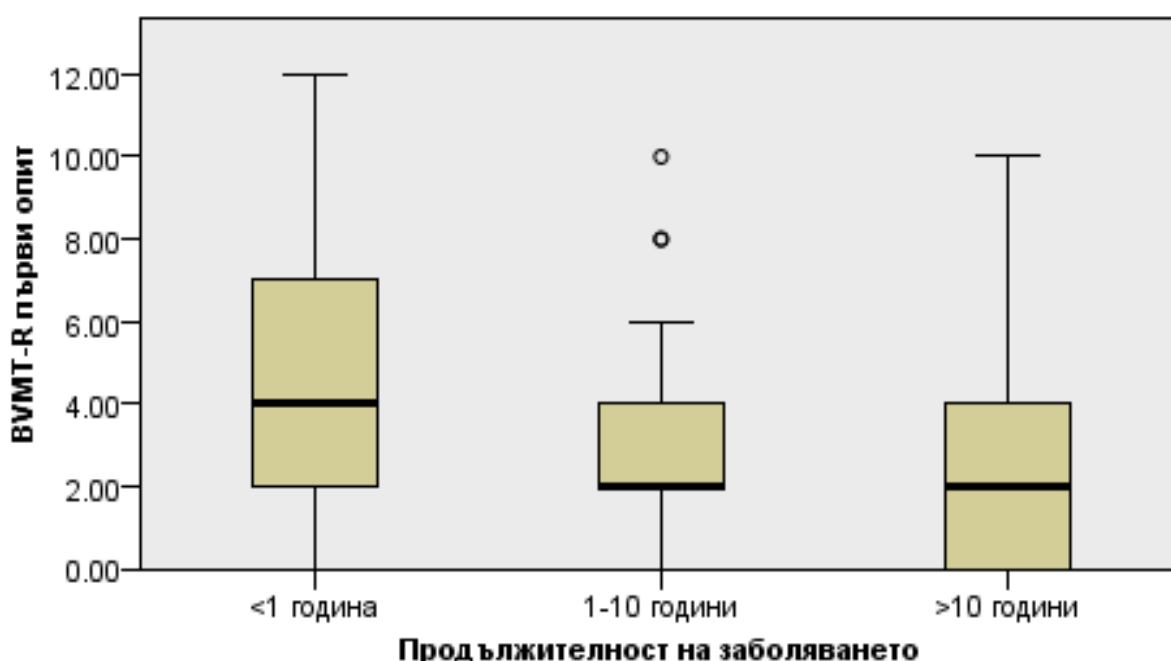
Фигура 17. Динамика в броя интрузии при отсрочено припомняне в зависимост от продължителността на заболяването



3.1.4 Динамика на резултатите за зрително-пространствена памет (BVMT-R) в зависимост от продължителността на заболяването

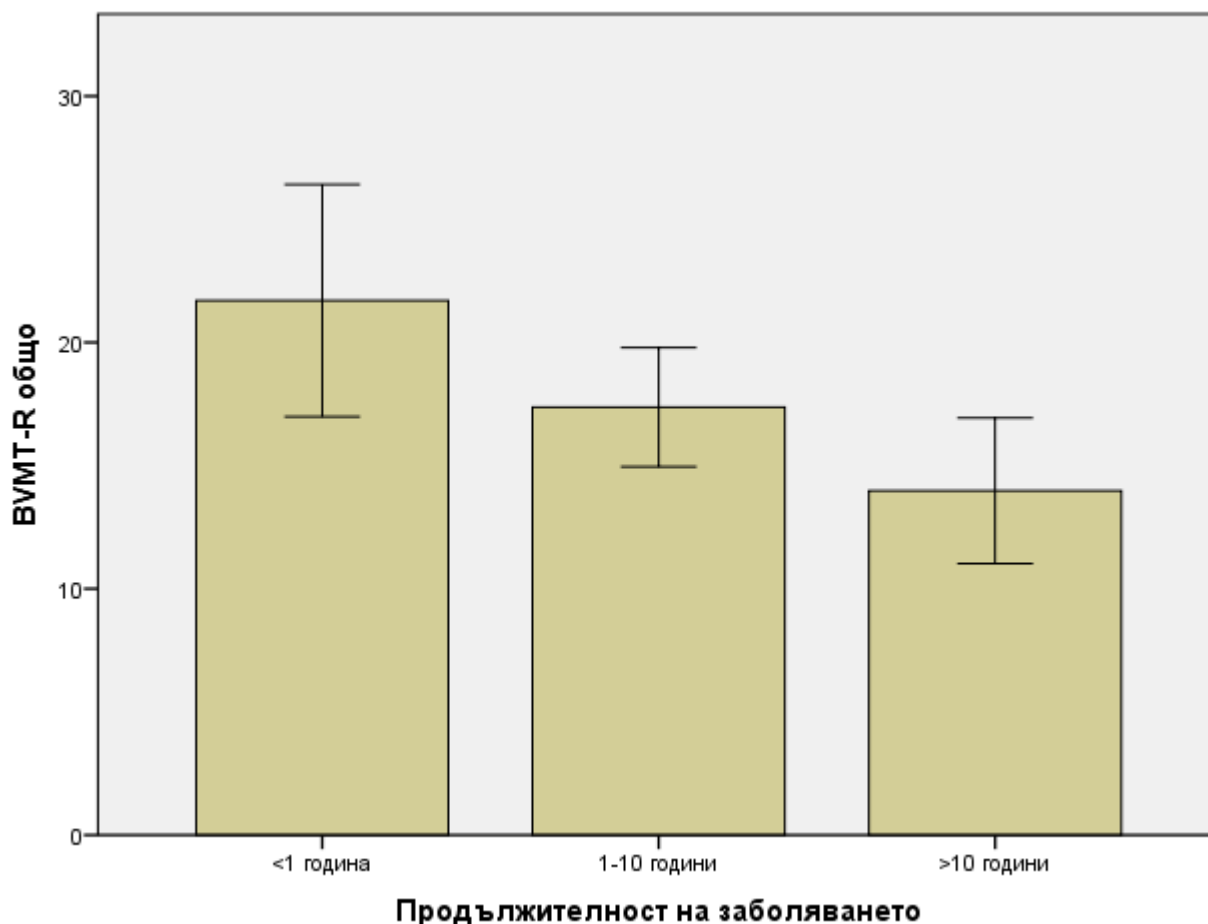
За да се уточни има ли разлика между резултатите при първи опит за теста BVMT-R между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Средните рангове за резултатите при теста BVMT-R не са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(2) = 5.109$, $p = 0.078$ (Фигура 18).

Фигура 18. Динамика в резултатите от BVMT-R – първи опит в зависимост от продължителността на заболяването



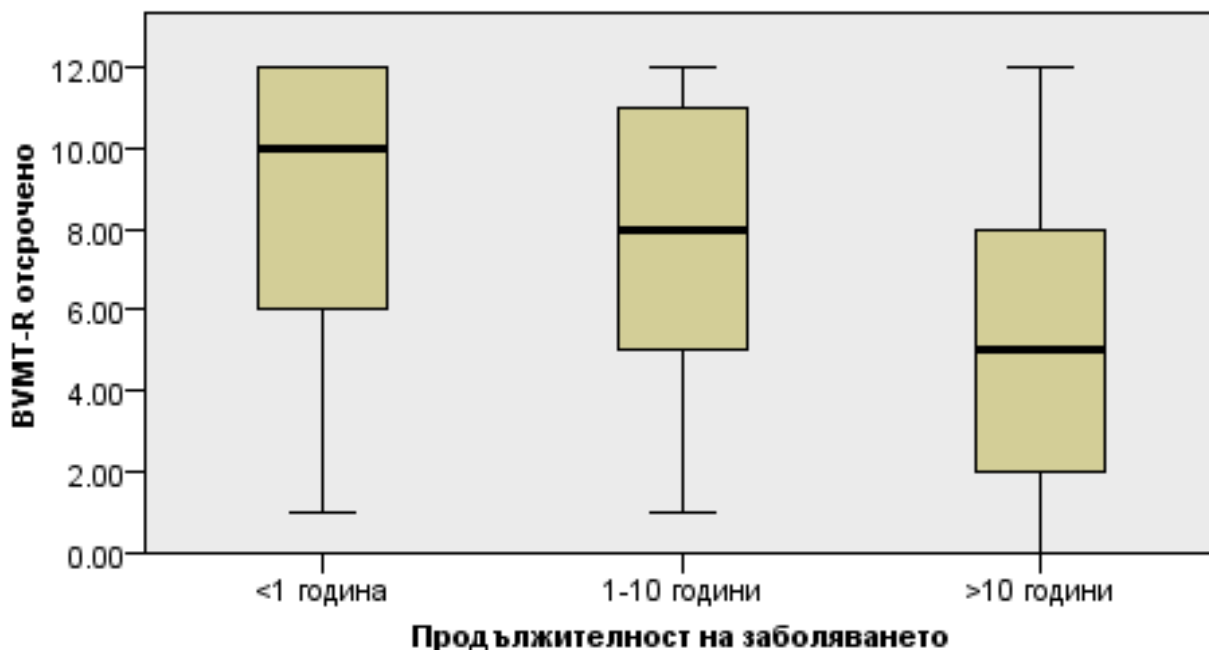
За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста BVMT-R между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се проведе еднофакторен дисперсионен анализ (one-way ANOVA). Данните са представени като средни стойности \pm стандартни отклонения. Резултатът намалява от групата с продължителност на заболяването <1 година (21.7 ± 10.07) през групата с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (17.37 ± 7.85) до групата с продължителност на заболяването >10 години (13.97 ± 8.87), като разликите са статистически значими, $F(2, 97) = 5.195$, $p = 0.007$, $\eta^2 = 0.097$. Post hoc анализът на Тюки разкрива, че намалението на резултата между групата пациенти с продължителност на заболяването <1 година и тези с продължителност на заболяването >10 години (7.73 , 95% доверителен интервал (1.98 до 13.48)) е статистически значимо ($p = 0.005$), но такава значимост не се наблюдава при останалите комбинации от групи (Фигура 19).

Фигура 19. Динамика в резултатите от BVMT-R в зависимост от продължителността на заболяването



За да се уточни има ли разлика между отсрочените резултати от теста BVMT-R между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности на отсрочените резултати от теста BVMT-R са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(2) = 11.238$, $p = 0.004$. Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значима разлика в отсрочените резултати от теста BVMT-R между пациентите с продължителност на заболяването <1 година (10.00) и тези с продължителност на заболяването >10 години (5.00) ($p = 0.009$), но не и при останалите комбинации от групи (Фигура 20).

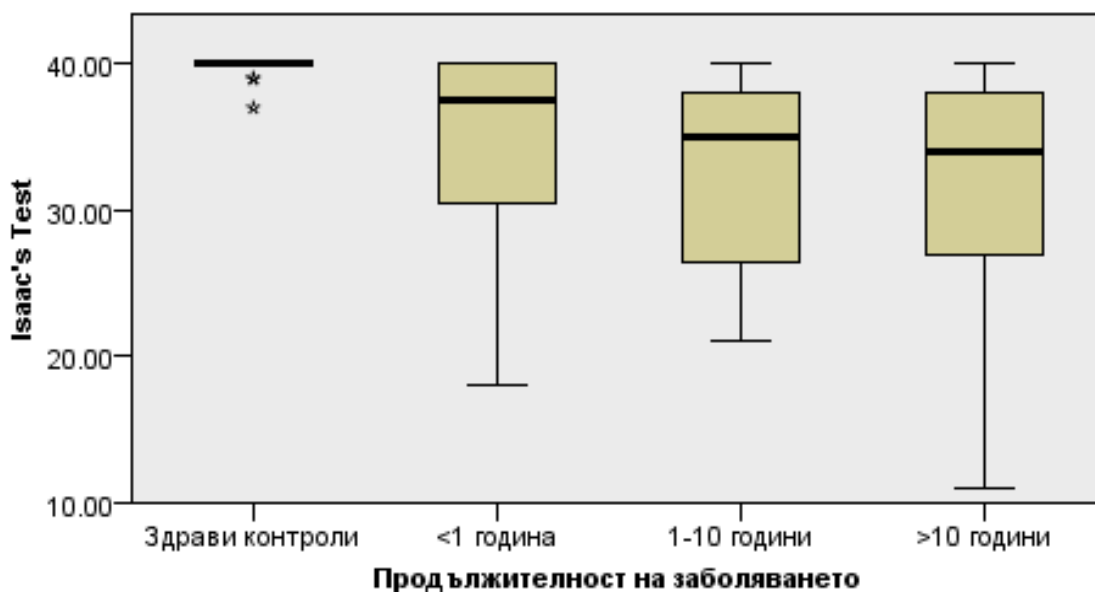
Фигура 20. Динамика в резултатите за отсрочено припомняне в BVMT-R в зависимост от продължителността на заболяването



3.1.5 Динамика на резултатите за вербална флуентност в зависимост от продължителността на заболяването

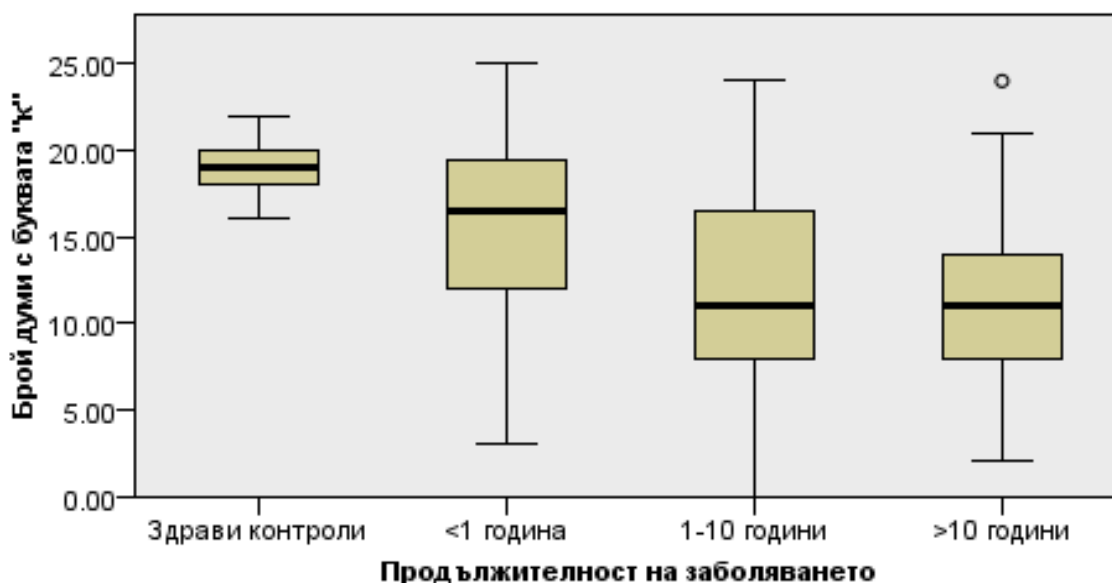
За да се уточни има ли разлика между резултатите от Isaac's Set Test между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите от Isaac's Set Test са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 41.178$, $p < 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите от Isaac's Set Test между здравите контроли (102.78) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (63.92) ($p = 0.002$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (50.05) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (50.68) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 21).

Фигура 21. Динамика в резултатите от Isaac's Test в зависимост от продължителността на заболяването



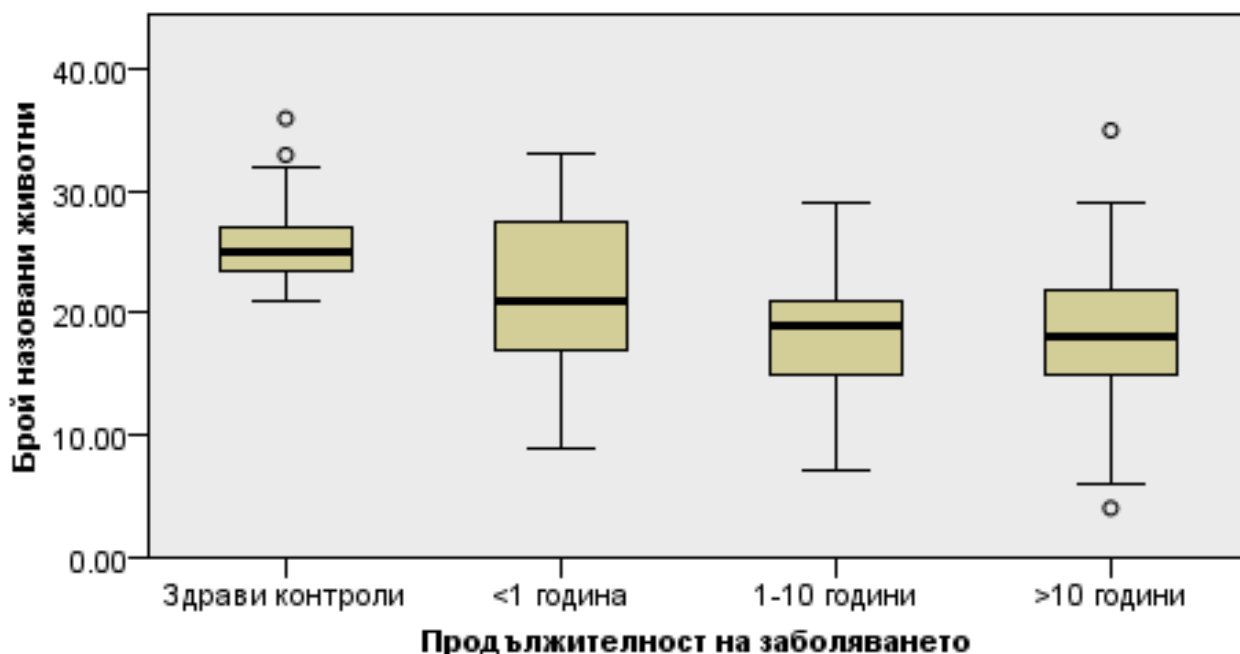
За да се уточни има ли разлика между броя назовани думи с буквата „к“ между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за броя думи са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 45.773$, $p < 0.001$. Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в броя назовани думи с буква „к“ между здравите контроли (19.00) и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (11.00) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (11.00) ($p < 0.001$), както и между пациентите с продължителност на заболяването <1 година (16.50) и тези с продължителност на заболяването >10 години ($p = 0.04$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 22).

Фигура 22. Динамика във фонемната флуентност в зависимост от продължителността на заболяването



За да се уточни има ли разлика между броя назовани животни между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за броя назовани животни са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 40.452$, $p < 0.001$. Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в броя назовани животни между здравите контроли (25.00) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (21.00) ($p = 0.044$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (19.00) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (18.00) ($p < 0.001$), но не и между други комбинации от групи (Фигура 23).

Фигура 23. Динамика в семантичната флуентност в зависимост от продължителността на заболяването

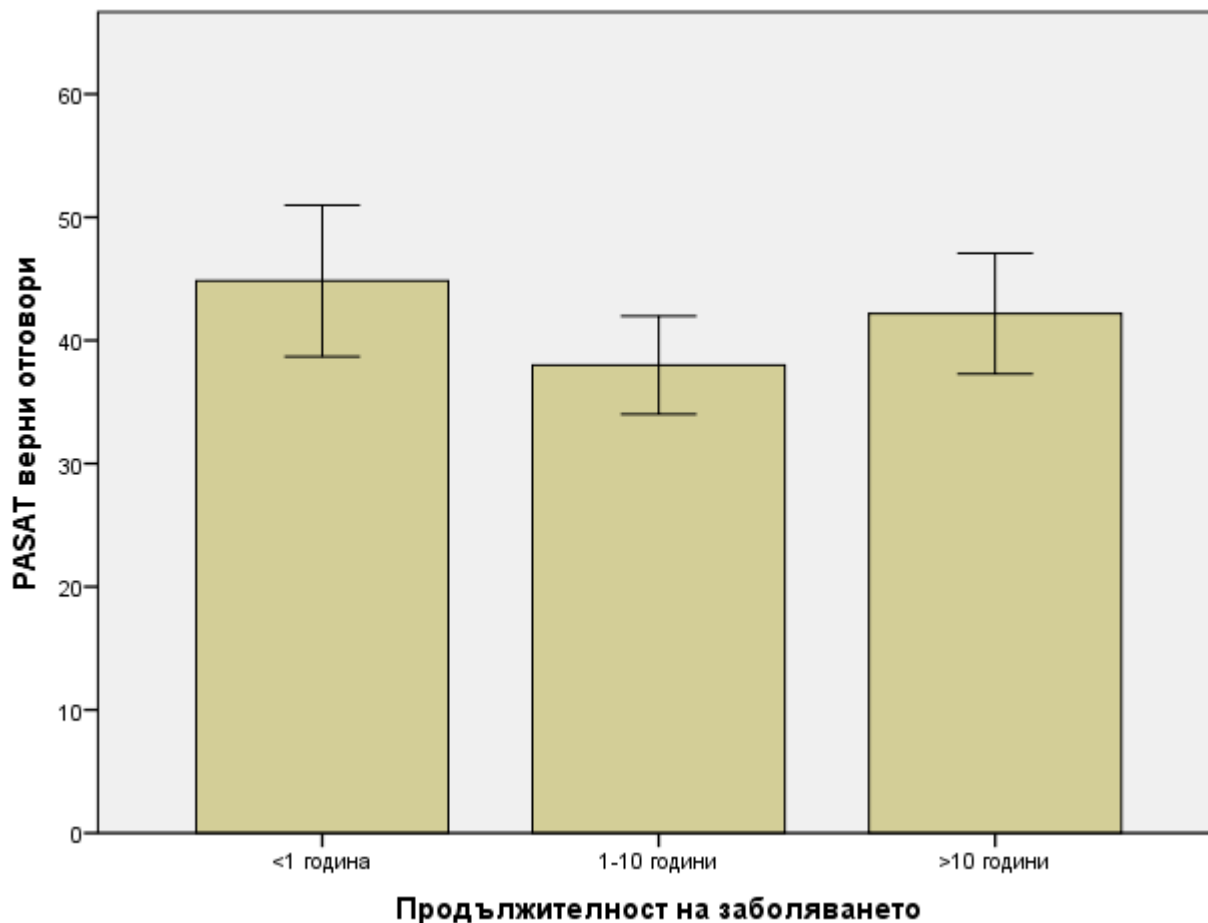


3.1.6 Динамика на резултатите за внимание, скорост на обработка на информацията, екзекутивни функции (PASAT, SDMT, DSMT, TMT, Stroop) в зависимост от продължителността на заболяването

За да се уточни има ли разлика между броя верни отговори от теста PASAT между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се проведе еднофакторен дисперсионен анализ (one-way ANOVA). Данните са представени като средни стойности \pm стандартни отклонения. Резултатът намалява от групата с продължителност на заболяването <1 година (44.83 ± 12.34) спрямо групата с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (38 ± 11.23), но се увеличава между

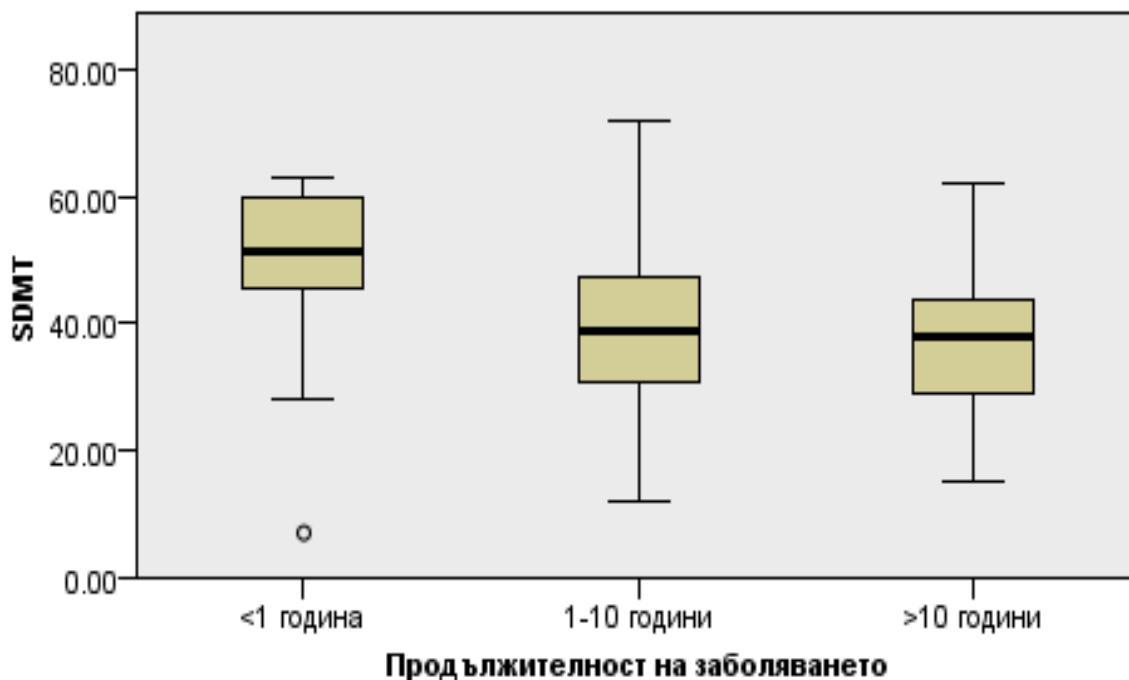
групата с продължителност на заболяването 1-10 години и групата с продължителност на заболяването >10 години (42.18 ± 11.05), като разликите не са статистически значими, $F(2, 70) = 2.253$, $p = 0.113$, $\eta^2 = 0.06$ (Фигура 24).

Фигура 24. Динамика в резултатите от PASAT в зависимост от продължителността на заболяването



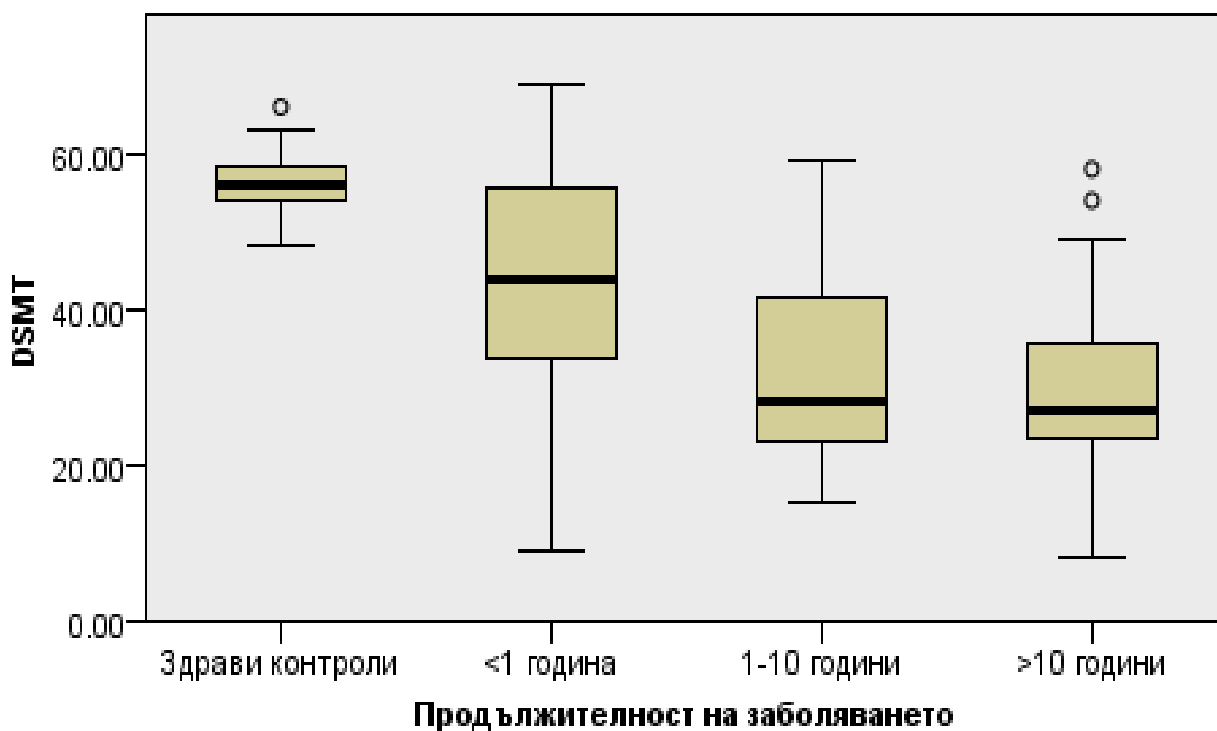
За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста SDMT между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности на резултатите са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(2) = 11.914$, $p = 0.003$. Стойностите са медианни, освен ако не е посочено друго. Post hoc анализът разкрива статистически значима разлика в резултатите от теста SDMT между пациентите с продължителност на заболяването <1 година (51.50) и тези с продължителност на заболяването 1-10 години (39.00) ($p = 0.018$), както и между пациентите с продължителност на заболяването <1 година и тези с продължителност на заболяването >10 години (38.00) ($p = 0.006$), но не и между пациентите с продължителност на заболяването 1-10 години и тези с продължителност на заболяването >10 години (Фигура 25).

Фигура 25. Динамика в резултатите от SDMT в зависимост от продължителността на заболяването



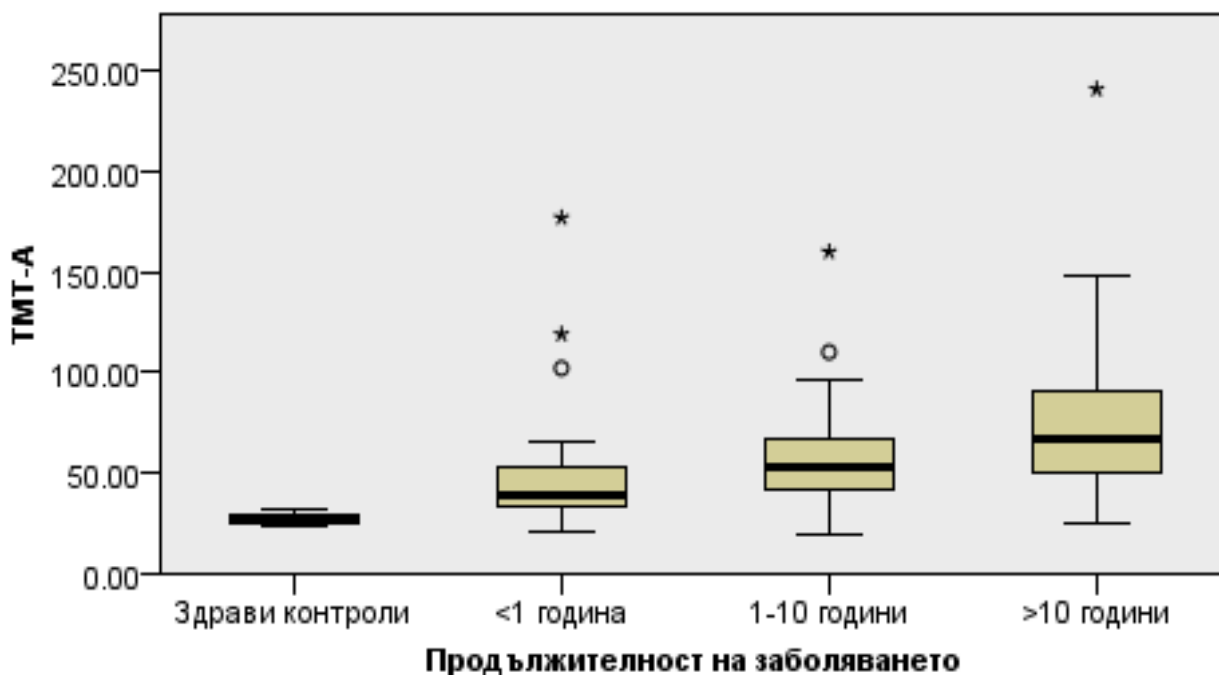
За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста DSMT между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за резултатите са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 66.102$, $p < 0.001$ Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите между здравите контроли (56.00) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (44.00) ($p = 0.012$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (28.00) ($p < 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (27.00) ($p < 0.001$), между пациентите с продължителност на заболяването <1 година и тези с продължителност на заболяването от 1 до 10 години ($p = 0.034$), както и между пациентите с продължителност на заболяването <1 година и тези с продължителност на заболяването >10 години ($p = 0.013$). Статистически значима разлика липсва единствено между групата с продължителност на заболяването от 1 до 10 години и тази с продължителност на заболяването >10 години (Фигура 26).

Фигура 26. Динамика в резултатите от DSMT в зависимост от продължителността на заболяването



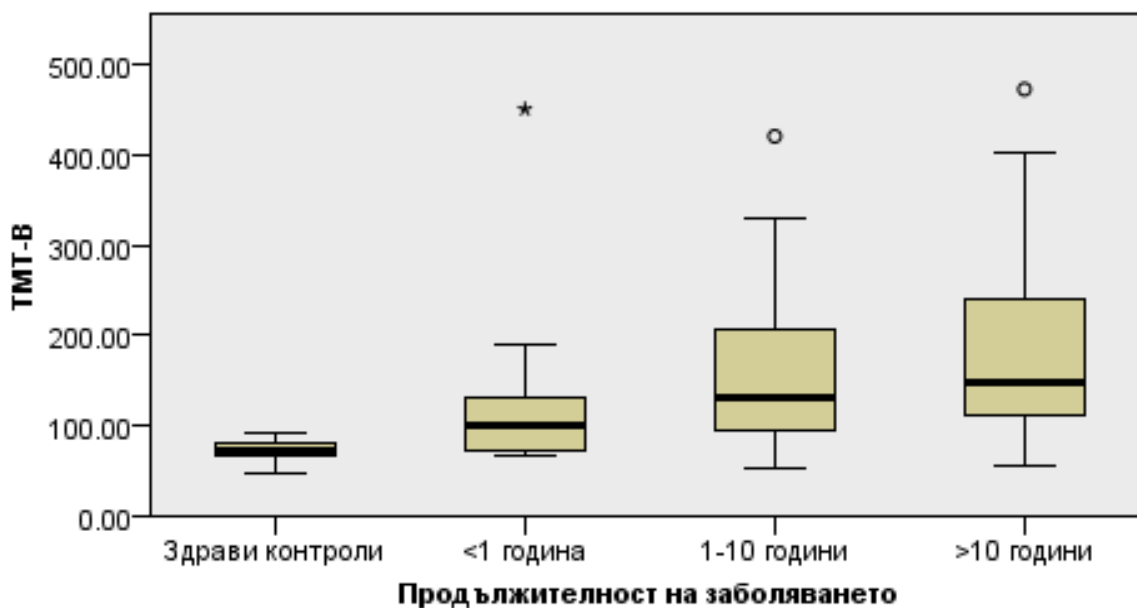
За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста ТМТ-А (време, необходимо за изпълнение на задачата, измерено в секунди) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите от теста ТМТ-А са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 65.157$, $p < 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите от теста ТМТ-А между здравите контроли (21.48) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (63.52) ($p = 0.001$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (78.06) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (91.44) ($p < 0.001$), както и между пациентите с продължителност на заболяването <1 година и тези с продължителност на заболяването >10 години ($p = 0.049$) (Фигура 27).

Фигура 27. Динамика в резултатите от ТМТ-А в зависимост от продължителността на заболяването (секунди, нужни за изпълняване на теста)



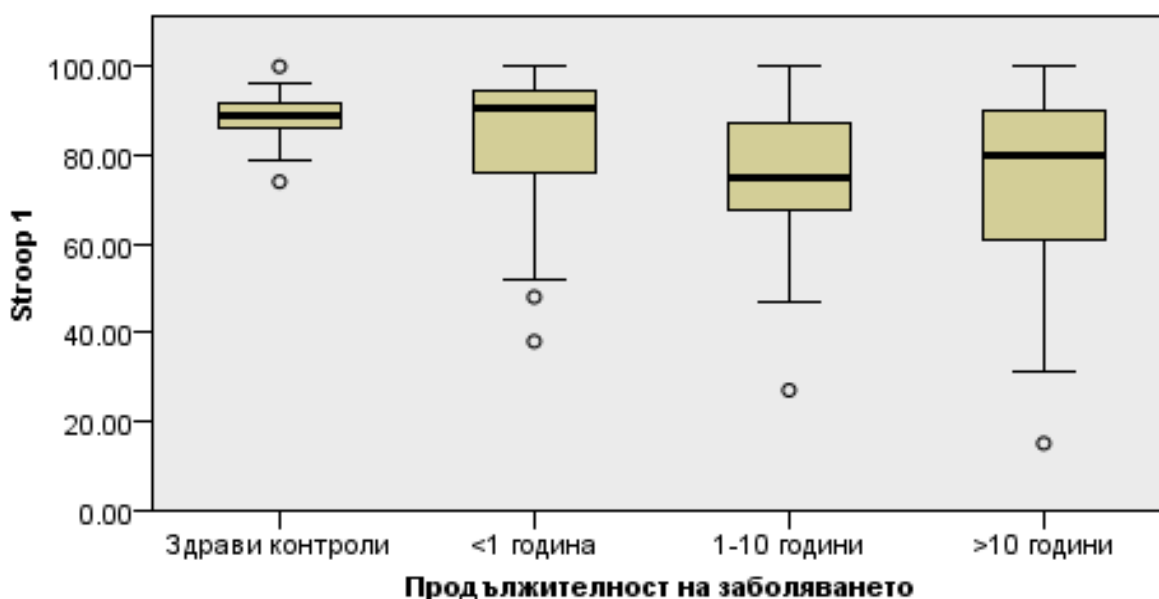
За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста ТМТ-В (време, необходимо за изпълнение на задачата, измерено в секунди) между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Разпределенията на резултатите от теста ТМТ-В са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 46.044$, $p < 0.001$ Стойностите са средни рангове. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите от теста ТМТ-В между здравите контроли (26.17) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (54.22) ($p = 0.022$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (68.50) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (79.26) ($p < 0.001$), но не и между останалите комбинации от групи (Фигура 28).

Фигура 28. Динамика в резултатите от TMT-B в зависимост от продължителността на заболяването (секунди, нужни за изпълняване на теста)



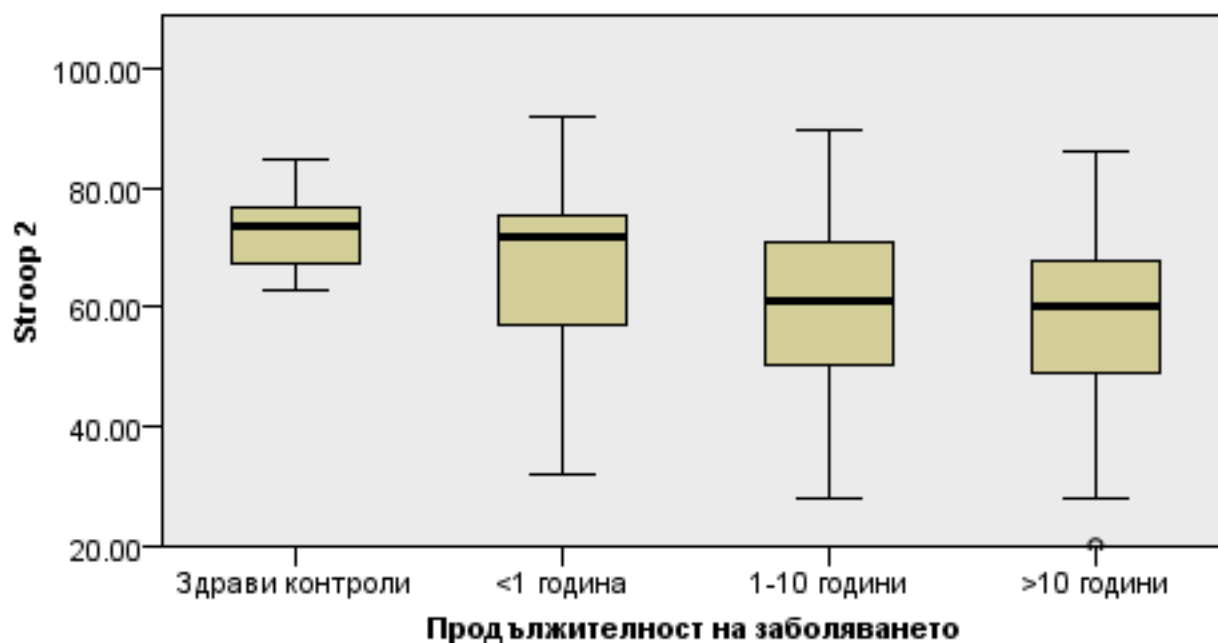
За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста Stroop 1 между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за резултатите са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 14.115$, $p = 0.003$ Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите между здравите контроли (89.00) и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (75.00) ($p = 0.013$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (80.00) ($p = 0.02$), но не и между останалите комбинации от групи (Фигура 29).

Фигура 29. Динамика в резултатите от Stroop 1 в зависимост от продължителността на заболяването



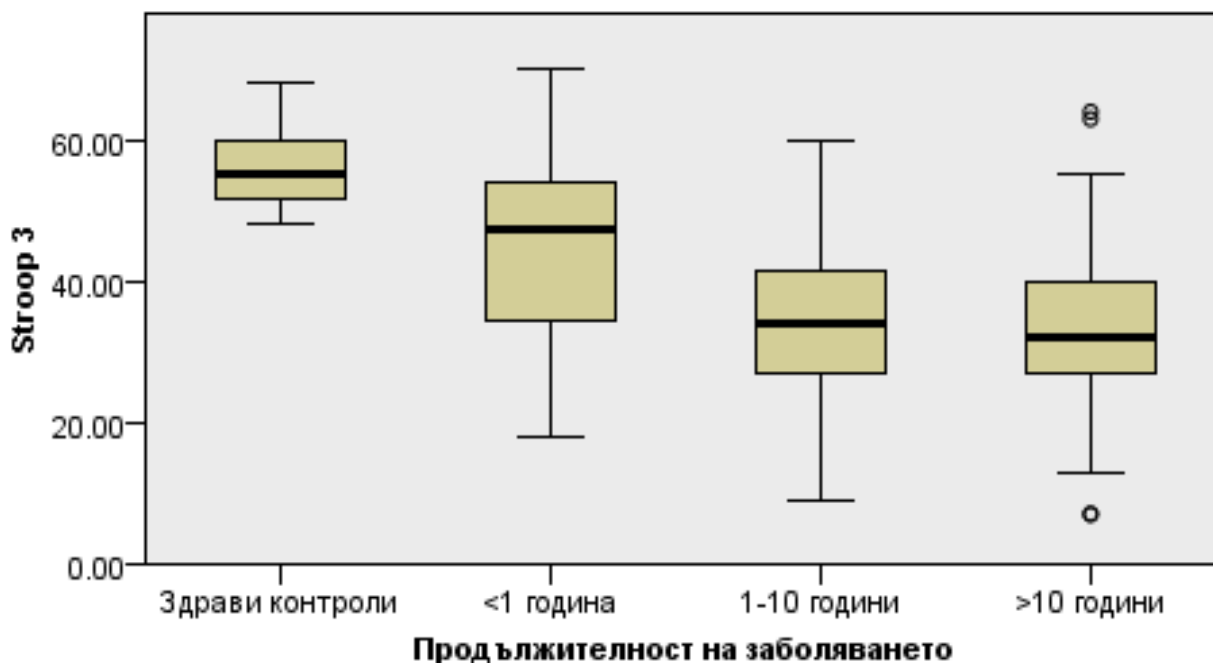
За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста Stroop 2 между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за резултатите са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 27.419$, $p < 0.001$ Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите между здравите контроли (73.50) и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (61.00) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (60.00) ($p < 0.001$), но не и между останалите комбинации от групи (Фигура 30).

Фигура 30. Динамика в резултатите от Stroop 2 в зависимост от продължителността на заболяването



За да се уточни има ли разлика между резултатите от теста Stroop 3 между четирите групи, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за резултатите са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(3) = 55.712$, $p < 0.001$ Стойностите са медианни. Post hoc анализът разкрива статистически значими разлики в резултатите между здравите контроли (55.00) и пациентите с продължителност на заболяването <1 година (47.50) ($p = 0.019$), между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (34.00) ($p < 0.001$) и между здравите контроли и пациентите с продължителност на заболяването >10 години (32.00) ($p < 0.001$), както и между пациентите с продължителност на заболяването <1 година и пациентите с продължителност на заболяването >10 години ($p = 0.034$), но не и между останалите комбинации от групи (Фигура 31).

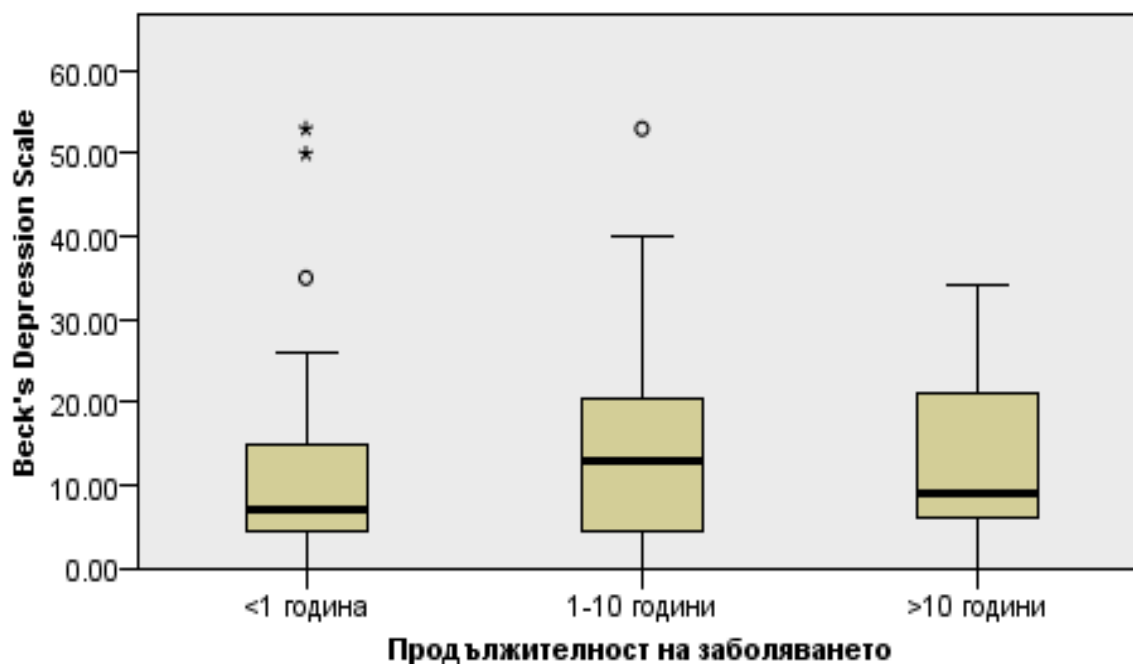
Фигура 31. Динамика в резултатите от Stroop 3 в зависимост от продължителността на заболяването



3.1.7 Динамика в скалите за депресия и умора в зависимост от продължителността на заболяването

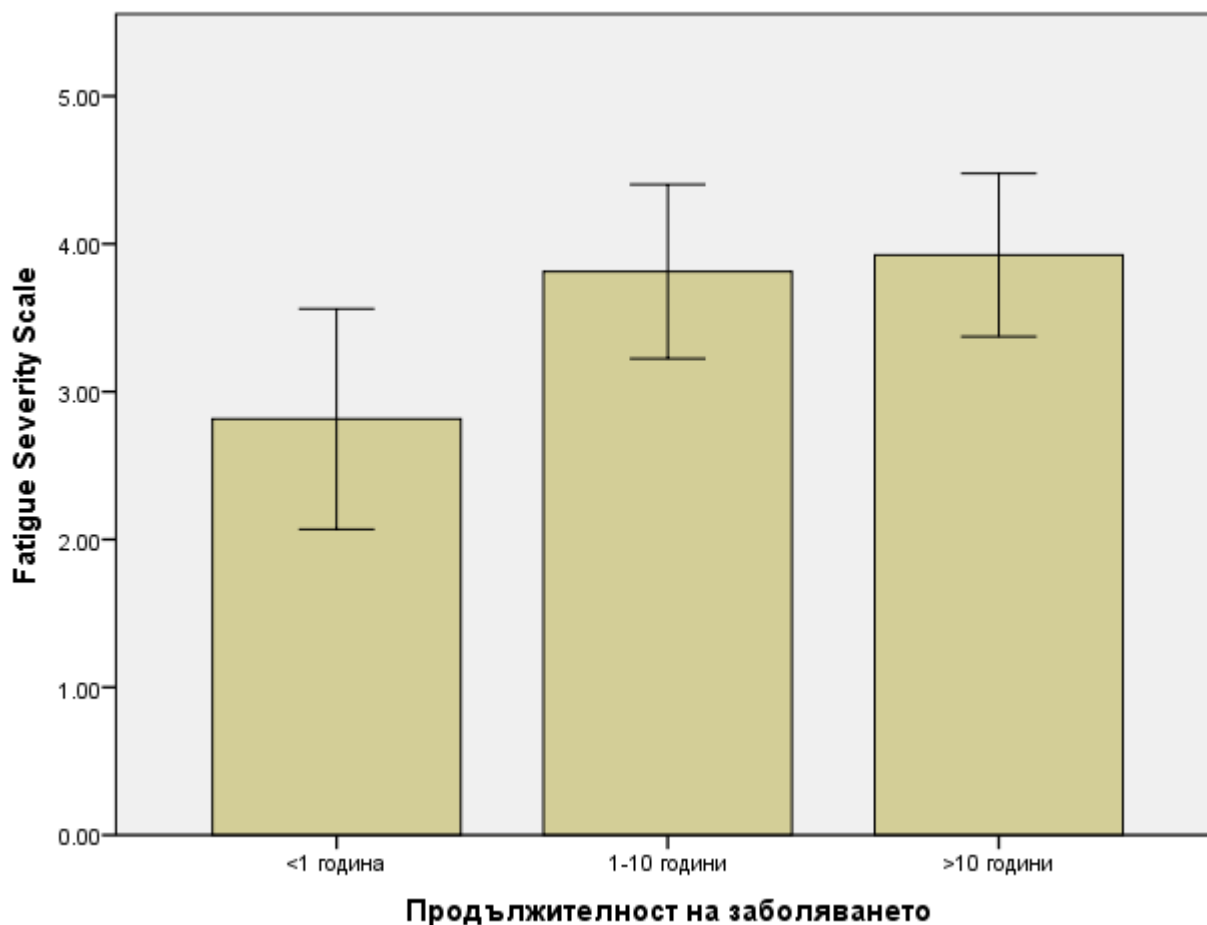
За да се уточни има ли разлика между резултатите от скалата за депресия на Beck между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се използва тестът на Кръскал-Уолис. Медианните стойности за резултатите от скалата за депресия на Beck се покачват между групата пациенти с продължителност на заболяването <1 година (7.00) и групата с продължителност на заболяването между 1 и 10 години (13.00), след което спадат между групата с продължителност на заболяването между 1 и 10 години и групата с продължителност на заболяването >10 години (9.00), но не са статистически значимо различни между групите, $\chi^2(2) = 1.182$, $p = 0.554$ (Фигура 32).

Фигура 32. Динамика в резултатите от скалата за депресия Beck's Depression Scale в зависимост от продължителността на заболяването



За да се уточни има ли разлика между резултатите от скалата за умора Fatigue Severity Scale между трите групи пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването, се проведе еднофакторен дисперсионен анализ (one-way ANOVA). Данните са представени като средни стойности \pm стандартни отклонения. Резултатите се увеличават от групата с продължителност на заболяването <1 година (2.82 ± 1.59) през групата с продължителност на заболяването от 1 до 10 години (3.81 ± 1.92) до групата с продължителност на заболяването >10 години (3.92 ± 1.66), но разликите не са статистически значими, $F(2, 97) = 2.882$, $p = 0.061$, $\eta^2 = 0.056$ (Фигура 33).

Фигура 33. Динамика в резултатите от скалата за умора Fatigue Severity Scale в зависимост от продължителността на заболяването



3.1.8. Обсъждане

Скалите за общо когнитивно функциониране MMSE и MoCA, които традиционно се свързват със скрининг и проследяване при класически деменции, имат ограничена употреба при изследване когнитивното функциониране при пациенти с множествена склероза. В текущото изследване статистически значими разлики при употреба на скалата MMSE се установяват между здравите контроли и трите групи с различна продължителност на заболяването, но не и между отделните групи пациенти с множествена склероза. Въпреки че спад се установява дори през първата година от заболяването, установените стойности остават във високия диапазон на теста дори и при пациентите с продължителност на заболяването >10 години (средна стойност за групата 27.05 точки), което прави скалата трудна за интерпретация за скринингова употреба и изключително ниско чувствителна за проследяване на когнитивния спад при пациенти с множествена склероза. Тази липса на чувствителност би могла да се интерпретира във връзка с насочеността на скалата към установяване на дефицити в когнитивни домейни, които обикновено се засягат при деменции с предимно корово засягане – памет (без възможност за диференциация между нарушения в

кодирането и извличането на информация) и езикови способности. Петстепенната субскала за внимание на MMSE също не успява да покаже достатъчна чувствителност за отчитане разликите в този домейн при пациентите с множествена склероза с различна продължителност на заболяването.

MoCA, от друга страна, е доказала определена стойност за когнитивен скрининг при пациенти с множествена склероза (Dagenais, 2013; Kaur, 2013; Freitas, 2016). По-широката употреба на скалата за когнитивен скрининг при това заболяване се дължи на насочеността ѝ към дефицити, типични за профила на когнитивно увреждане, типичен за заболяванията на бялото вещество – внимание и визуално-пространствени функции за сметка на по-слаба насоченост към езикови дефицити. В текущото проучване при употреба на скалата MoCA се установяват статистически значими разлики между здравите контроли и групите с продължителност на заболяването 1-10 години и >10 години, както и между групите с продължителност на заболяването <1 година и >10 години. При изследваната кохорта пациенти на първо място се откроява способността на MoCA, за разлика от MMSE, за отчитане на когнитивния спад с напредване на заболяването, което е видно от следната таблица (Таблица 4):

Таблица 4. Динамика в резултатите от скалите за общо когнитивно функциониране MMSE и MoCA в зависимост от продължителността на заболяването (стойностите са представени като средни стойности \pm стандартни отклонения):

	Здрави контроли	Продължителност на заболяването <1 година	Продължителност на заболяването 1-10 години	Продължителност на заболяването >10 години
MMSE	29.56 \pm 0.62	28.45 \pm 1.23	27.81 \pm 1.45	27.05 \pm 2.68
MoCA	29.32 \pm 0.75	26.95 \pm 4.11	24.77 \pm 4.2	23.92 \pm 4.24

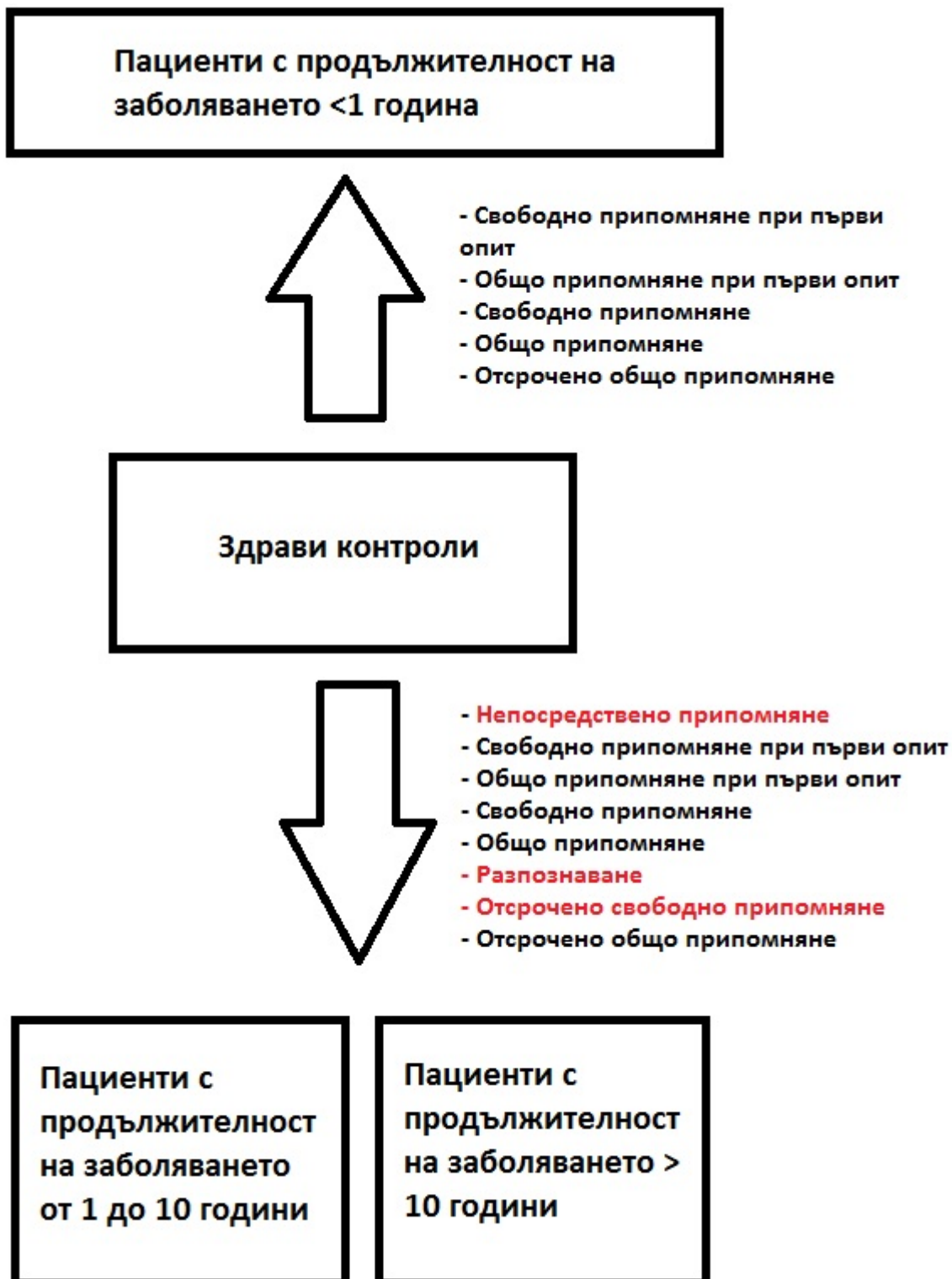
Въпреки че силата на скалата MoCA традиционно се свързва с възможността за ранно откриване на когнитивни дефицити, типични за множествена склероза и съответно за скрининговата ѝ употреба, от текущото изследване се установява и способността ѝ за адекватно проследяване на пациентите, т.е. евентуалната ѝ чувствителност за отразяване както на ранните дефицити, причинени от дисконекция в бялото вещество, така ѝ по-късните промени, свързани предимно с преобладаващия в този етап на заболяването невродегенеративен процес. Тази роля на MoCA се потвърждава и от изследването на Ashrafi et al., които свързват спада в резултатите с ширината на трети вентрикул и общата загуба на мозъчен паренхим, но не и с общия обем на лезиите в бялото вещество (Ashrafi, 2016). От

отделните субскали на МоСА статистически значима разлика се установява при субскалата за визуално-пространствени функции, но не и при останалите субскали, което подчертава нуждата от детайлни и специфични тестове за съответните когнитивни домейни и недостатъчността на скалите за общо когнитивно функциониране като единствен когнитивен инструмент за оценка при пациентите с множествена склероза.

Профилът на паметови нарушения при множествена склероза класически се описва с предимно нарушение в извличането на информацията (Rao, 1984) и съхраненото ѝ кодиране, за разлика от болестта на Алцхаймер, където хипокампалната увреда причинява дефицит в кодирането. При съхранено кодиране и затруднения в извличането на информация, припомнянето може да се подобри чрез семантични подсказвания или представяне на списък с думи, в който пациентът трябва да разпознае вече споменатите. Специфичните пътища, които се увреждат при дефицит в извличането не са категорично идентифицирани, но все повече изследвания в тази насока целят установяването им. Според Markowitsch извличането на складираната в темпоралния дял информация се осъществява в челния дял и по тази причина предлага прекъсването на *fasciculus uncinatus* като специфичната увреда за този тип паметов дефицит (Markowitsch, 1995). В тази насока се провеждат и модерни изследвания, включително с fMRI, които представят една по-широка вентрална фронтотемпорална мрежа, част от която е и *fasciculus uncinatus*, която участва в извличането на информация при здрави хора (Barredo, 2015). Предполага се, че сравнително по-лекото засягане на сивото вещество през началните етапи от заболяването обуславя предимно дефицит в извличането, макар да са описани и хипотетични механизми за увреда в кодирането на информация при прекъсването на някои по-големи аферентни и еферентни хипокампални пътища, както и при демиелинизация в *alveus* (Laule, 2008).

Резултатите от текущото изследване с използване на теста FCSRT (тест на Buschke) представят от една страна типичната за увреди на бялото вещество констелация от нарушено свободно припомняне при запазено разпознаване при пациентите с продължителност на заболяването <1 година (липса на статистически значима разлика със здрави контроли при разпознаване и наличие на такава при свободно припомняне при първи опит), но от друга представят и разлика в общото припомняне (т.е. включително и след семантично подсказване) още при групата пациенти с продължителност на заболяването <1 година, включително при отсрочено (отдалечено) припомняне (Фигура 34).

Фигура 34. Статистически значими разлики в отделните субдомейни на вербалната епизодична памет при пациенти с множествена склероза с различна продължителност на заболяването



Този факт е дискутиран и в предишни изследвания, в които се обсъжда алтернативната идея за увреди в декларативната памет при множествена склероза не само поради трудности в извличането на информация, но и в усвояването ѝ (DeLuca, 1998). Този тип увреда на паметовите процеси доказано корелира с обема на хипокампаалните структури при пациенти с множествена склероза, включително в ранните стадии на заболяването (Pardini, 2014). Beatty et al. прилагат теста върху 99 пациента с множествена склероза и 32 здрави контроли и описват хетерогенно увреждане на паметовите процеси, в който само двама пациенти демонстрират чист дефицит в извличането, докато 22% от пациентите се представят с дефицит и в кодирането на информация (Beatty, 1996). Възможно е да страдат и двата процеса предвид сложната, зависима от продължителността на заболяването, а вероятно и до известна степен индивидуална при всеки пациент, невропатология при множествена склероза. Във всички случаи при групите с продължителност на заболяването между 1 и 10 години и >10 години се заличава известната специфичност на паметовия дефицит при групата с продължителност на заболяването <1 година и страдат всички паметови процеси с ниски резултати при всички показатели, включително разпознаване и непосредствено припомняне, което вероятно е резултат от напредването на невродегенеративния процес и мозъчната атрофия с обхващане на сивото вещество и мозъчни структури, включително хипокампаалните, които обикновено се засягат при класическите деменции. В текущото проучване броят интрузии не показва статистически значима разлика между групите пациенти с различна продължителност на заболяването.

Засягането на зрително-пространствените функции и като цяло невербалните умения показва селективна зависимост към увреди в бялото вещество в множество проучвания (Chiang, 2009). Текущото изследване с употреба на теста BVMT-R за оценка на зрително-пространствената памет показва постоянно намаляване на резултатите с увеличаване на продължителността на заболяването като статистическа значимост се достига при сравнение на пациентите с продължителност на заболяването <1 година и тези с продължителност на заболяването >10 години. В това отношение невербалната памет би могла да се сравни с вербалната по отношение на комплексната си патогенеза и съучастието на двата паралелни процеса – невровъзпалителния и дегенеративния – в нейните увреди. Резултатите от теста BVMT-R показват най-постепенно намаляване от всички тестове в използваната батерия от невропсихологични тестове без определени остри спадове между групите. Това би могло да се интерпретира като относително равна тежест на двата процеса в генерирането на увредите на невербалната памет предвид еднаквата степен на спад на резултатите през цялата продължителност на заболяването и различната степен на значимост на двата процеса през различните стадии на множествената склероза.

Тестовите за вербална флуентност, от друга страна, са сред най-ранно чувствителните за откриване на когнитивна увреда като резултатите от Isaac's Set Test и теста за семантична флуентност с назоваване на максимален брой животни показват статистически значима разлика спрямо здравите контроли още в първата година от началото на заболяването. Както беше споменато по-горе, езиковите способности рядко се засягат при множествена склероза или заболявания на бялото мозъчно вещество като цяло, от една страна поради изразената локализация и латерализация на тези функции, а от друга поради факта, че коровите зони, отговарящи за тях (зоните на Брока и Вернике например) са свързани с дебело миелинизирани пътища, които се простират на относително кратки разстояния (Anderson, 1999). Дифузният характер на разпространение на увредите в бялото вещество обикновено засяга пътища, несвързани с езиковите способности или увредата в тях обикновено не достига значимост, която да се прояви с клинично забележимо нарушение. Въпреки това нарушената вербална флуентност е ранна проява при пациенти с множествена склероза и това се дължи на факта, че вербалната флуентност е продукт на екзекутивно функциониране поне дотолкова, колкото и на езикови умения. С натрупването на все повече данни от провежданите изследвания екзекутивните функции са достигнали статуса на определящ дефицит в заболяванията на бялото вещество, които засягат когницията (Filley, 2010). Това важи в пълна сила и при множествената склероза (Feinstein, 2007), а изследванията с МРТ свързват тези увреди предимно с наличието на демиелинизационен товар в челните дялове и последващата дисконекция (Arnett, 1994). В тази светлина тестовите за вербална флуентност представляват едни от най-добрите кандидати за бързо и чувствително оценяване на когнитивна увреда при пациенти дори и в ранните етапи на развитие на заболяването. В текущото изследване тестът за фонемна флуентност показва по-ниска чувствителност спрямо Isaac's Set Test и теста за назоваване на животни като статистически значима разлика се установява между здравите контроли спрямо пациентите с продължителност на заболяването >1 година, но не и спрямо пациентите в първата година от диагностициране на заболяването.

Един от най-използваните в изследването на когнитивните нарушения при множествена склероза невропсихологични тестове е PASAT, който също има силно изразен екзекутивен компонент. PASAT се използва за оценка на скоростта на обработка на информацията, устойчивото внимание и близко свързаната с него работна памет. Всички тези когнитивни домейни са сред рано увреждащите се в хода на заболяванията на бялото вещество, засягащи когницията и са част от характерния за тях профил на когнитивни увреди. Засягането на скоростта на обработка на информацията е отдавна доказан основен компонент от профила на увреди при множествена склероза (Demaree, 1999) и макар че все още липсват данни за специфични анатомични модели на увреда, корелиращи със забавянето

на обработка на информацията, изследванията с МРТ и DTI установяват, че увреждането на интегритета на пътищата в бялото вещество най-значимо води до този феномен (Haász, 2013), а фронталните подкорови мрежи в бялото вещество и ролята им в активирането на съответните корови зони играят основна роля за обработката на информация. По подобен начин вниманието също има за анатомичен корелат мрежа от взаимосвързани мозъчни структури, а не силно локализирани и ограничени мозъчни области, което обяснява ранното му засягане при болести, засягащи бялото вещество и уязвимостта му към дисконекция. Множество проучвания представят доказателства, че и тук челните дялове, и в частност десният, и връзките им с по-задни области са основният медиатор на това умение (Fillee, 2012). Съществуват и доказателства за ролята на корпус калозум за поддържането на устойчиво внимание, както при здрави хора, така и за връзката между обема му и нарушеното внимание при пациенти с множествена склероза (Yaldizli, 2014). В текущото проучване представянето на теста PASAT между групите с различна продължителност на заболяването не показва статистически значима разлика, макар резултатите да се влошават между групите с продължителност на заболяването <1 година и между 1 и 10 години и парадоксално да се подобряват при групата с продължителност на заболяването над 10 години. Този феномен основно се обяснява с характера на самия тест, чиито изисквания за продължително внимание и превключването му между различни задачи при ограничено време го прави трудно приложим при пациенти с по-напреднала степен на когнитивни увреди. Докато при групата с продължителност на заболяването <1 година само двама пациенти (10%) не са успели да разберат инструкциите на теста и да го изпълнят, в групата с продължителност на заболяването между 1 и 10 години тези пациенти са 10 (23.3%), а в групата с продължителност на заболяването >10 години пациентите са 15 (40.5%). Изключването на големия брой пациенти, които не са успели да се справят с теста, а вероятно това е и групата с най-тежко когнитивно увреждане, от статистическата обработка на резултатите е причината за по-добрите резултати в групата с продължителност на заболяването >10 години, тъй като те представляват извадката от пациенти, които се справят с теста и за които се предполага, че са най-когнитивно съхранените в групата си. Това е и основната критика към теста – трудното му приложение при пациенти с „когнитивна умора“ го прави непредпочитан пред по-лесно приложими тестове като SDMT, например (Drake, 2010).

SDMT и DSMT също са когнитивни тестове, изследващи скоростта на обработка на информацията, вниманието и работната памет, като изискват подчертан езекутивен контрол и постоянно превключване на вниманието. Чувствителността на тези два теста за ранно откриване на когнитивни увреди при пациенти с множествена склероза е изключително висока, като статистически значими разлики в резултатите се отчитат още при първата година

от развитие на заболяването спрямо здравите контроли. Тези резултати изцяло могат да се обяснят с гореописаните характеристики на вниманието и скоростта на обработка на информация като когнитивни домейни – функционирането им в рамките на дифузно разпределени невронни мрежи, уязвимостта им към дисконекция при увреди на бялото вещество, особено в челните дялове, както и преобладаването на невровъзпалителната компонента в първите години от развитието на множествената склероза и съответното прекъсване на тези мрежи. Показателна е и липсата на значими разлики между резултатите между групата с продължителност на заболяването от 1 до 10 години и тези с продължителност на заболяването >10 години – период, за който се очаква постепенно преобладаване на невродегенеративния компонент на множествената склероза и при който увредите, причинени от дисконекция са малко или повече стационарни. Тестът SDMT показва леко по-силно значими разлики в резултатите спрямо DSMT между групите <1 година и от 1 до 10 години продължителност на заболяването ($p = 0.018$ и 0.034 респективно), както и <1 година и >10 години продължителност на заболяването ($p = 0.006$ и 0.013 респективно). Високата чувствителност на тези тестове още при поставяне на диагнозата, лесната им и бърза употреба и възможното им приложение дори и при по-тежко когнитивно засягане (в текущото проучване с тестовете SDMT и DSMT не се справят и не успяват да разберат инструкциите само двама пациенти с продължителност на заболяването >10 години (5.4% от тази група)) ги превръщат в едни от най-значимите за търсене на когнитивни увреди при множествена склероза и силно подходящи за когнитивен скрининг (Van Schependom, 2014). Доказана е и корелацията им със способността за справяне с ежедневните дейности (Генов, 2015). Като недостатък на теста може да се подчертае изкуственото подобряване на резултатите при честа употреба в рамките на когнитивно проследяване (т.нар. „practice effect”) – проблем, който налага промяна на легендата на теста при многократно приложение (Roar, 2016).

Гореописаният модел на увреда се затвърждава и при останалите тестове, изследващи скоростта на преработка на информация, вниманието и екзекутивните функции – ТМТ и теста на Stroop. Резултатите от теста ТМТ показват високата му чувствителност за ранна детекция на когнитивни нарушения при пациенти с множествена склероза – разликите спрямо здравите контроли са статистически значими дори през първата година от развитие на заболяването. Смята се, че докато тестът ТМТ-А оценява предимно скоростта на преработка на информация, то ТМТ-В оценява основно екзекутивните функции поради нуждата от постоянно превключване между числата от естествения ред и буквите от азбуката. Предвид ранното увреждане на тези две когнитивни системи при пациентите с множествена склероза, не е изненадващ спадът на резултатите още през първата година от заболяването. В текущото

проучване резултатите прогресивно намаляват с увеличаване продължителността на заболяването, но тестът ТМТ-А показва склонност за по-продължителна чувствителност при късни етапи на заболяването и представя и вътрегрупова разлика сред пациентите с множествена склероза (продължителност на заболяването <1 година и >10 години), каквато не се установява при ТМТ-В. Този резултат би могъл да се интерпретира като показател за по-продължителната устойчивост и съответно по-дълготрайното влошаване на скоростта на обработка на информацията сред пациентите с множествена склероза и по-бързата увреда на екзекутивните функции и тяхната ранна декомпенсация. Лесната и бърза употреба на теста ТМТ и ранната му чувствителност го правят подходящ за скринингова функция наред с тестовете SDMT и DSMT и тестовете за вербална флуентност.

Аналогични са и резултатите при употреба на теста на Stroop. Докато първата и втората част от теста изследват предимно скоростта на обработка на информация, третата изследва устойчивото внимание, устойчивостта към интерференции и екзекутивния контрол. Резултатите за първите две части се различават статистически значимо само между здравите контроли и пациентите с продължителност от 1 до 10 и над 10 години, като значимост липсва при сравнение с пациентите с продължителност на заболяването <1 година. Макар тези две части да изследват когнитивна сфера с типично ранно засягане при пациенти с множествена склероза, когнитивният товар при тях е нисък, което обяснява добрите резултати в групата с продължителност на заболяването <1 година. Тези две части основно служат за подготовка за третата част на теста, при която се установяват статистически значими разлики спрямо здравите контроли още през първата година на заболяването. Запазва се наблюдаваният и при повечето останали тестове, изследващи типично ранно увреждащи се когнитивни сфери при множествена склероза (тестове за вербална флуентност, SDMT, DSMT, свободно припомняне), феномен на задържане на сравнително еднакви ниски резултати в късните стадии на заболяването след ранния им спад през първите години. Описаните дотук характеристики на теста го правят подходящ за скрининг и детекция на ранни нарушения и донякъде подходящ за проследяване, особено дългосрочно при напреднали стадии на заболяването.

При оценка на депресията при пациенти с множествена склероза чрез скалата за депресия на Beck не се установиха статистически значими разлики между групите с различна продължителност на заболяването. Пациентите с продължителност на заболяването <1 година се представят с точки на горна граница на нормата (норма <9 точки, медианна стойност за групата 7 точки), но в тази група се наблюдават и най-голям брой пациенти (трима) с отдалечаващи се стойности много над нормата, което би могло да се свърже с реакцията след поставяне на диагнозата. Стойностите се покачват при групата с

продължителност на заболяването от 1 до 10 години (медианна стойност 13 точки), което описва характерното афективно състояние на пациента, диагностициран с множествена склероза с тази продължителност на заболяването, като лека депресия. Стойностите отново падат при групата с продължителност на заболяването >10 години до границата между норма и лека депресия (медианна стойност на групата 9 точки). Този парадоксален резултат би могъл да се обясни като намалена критичност към собственото състояние при по-напреднал дегенеративен процес или като привикване и по-стабилно възприемане на състоянието след над 10-годишен период на психологична адаптация към заболяването. Трайно завишените стойности при пациентите с продължителност на заболяването над 1 година потвърждават резултатите за хроничния характер на депресията при множествена склероза, което би могло да се дължи на различна патофизиология от депресивните епизоди при общата популация (Koch, 2015). Неясната генеза на депресивните прояви при множествена склероза и неизяснения анатомичен корелат правят трудни за интерпретация резултатите за депресивност, които показват и противоречиви връзки с показателите за когнитивни функции и физическа инвалидизация. Все пак, резултатите досега подсказват, че депресията при множествена склероза поне отчасти се дължи на увреди в бялото вещество между челните и темпорални дялове и че влошава предшестващите когнитивни увреди (Feinstein, 2007).

Резултатите за умора, от друга страна, показват постепенно увеличение с напредъка на заболяването, като разликите приближават статистическата значимост ($p = 0.06$). Субективният характер на умората, липсата на обективен инструмент за измерване и неясните патофизиологични механизми, подобно на депресията, правят трудна интерпретацията на резултатите. Отново подобно на депресията, връзките на умората с когнитивните нарушения и физическата инвалидизация са противоречиви и до голяма степен индивидуални. Предвид образните данни за корелация между някои локални атрофични промени (nucleus accumbens, десен долен темпорален гирус, ляв горен фронтален гирус и други) и умората (Росса, 2014), не е изключено в бъдеще депресията и умората да бъдат обяснени с поне отчасти общ патофизиологичен механизъм, който да е свързан с напредващата дегенеративна компонента на заболяването.

В заключение и като обобщение на резултатите от всички невропсихологични тестове е редно да се подчертае на първо място ранната когнитивна увреда при пациенти с множествена склероза. Макар в повечето случаи тя да не е клинично значима при поставяне на диагнозата и в изследвания в текущото проучване период от 1 година след това, насоченото невропсихологично изследване закономерно установява тази увреда. Смята се, че тя е директен резултат дори от най-ранните патофизиологични механизми на заболяването и съответно обикновено придружава, макар и понякога субклинично, останалите симптоми

дори преди осъществяването на първото образно изследване и поставянето на диагнозата (Sinay, 2015). На второ място следва да се обърне внимание на характерния профил на когнитивните нарушения при заболяването. През първите години, когато водещ е невровъзпалителният компонент, водещи са предимно дисекзекутивните прояви, нарушенията на скоростта на обработка на информацията, вниманието, вербалната флуентност и извличането на информация, които обикновено се свързват с феномена на дисконекция и прекъсване предимно на уязвимите връзки на челния дял. С напредване на заболяването, когато невродегенеративният компонент е водещ, този специфичен профил „се размива“ и в късните стадии на болестта се наблюдава универсална увреда на почти всички когнитивни области с относително съхранение единствено на основните езикови способности и процедурната памет. Въпреки това, следва да се подчертае паралелността на развитие на двата процеса във всички стадии на заболяването, за което свидетелстват както някои неспецифични за заболяванията на бялото вещество когнитивни нарушения в групата с продължителност на заболяването <1 година (нарушено общо припомняне, например), така и прогресивно влошаващите се резултати на всички тестове с напредване на заболяването. Тези данни насочват към мисълта, че поради специфичната си патофизиология е възможно множествената склероза да притежава уникални невропсихологични характеристики, които я разграничават не само от коровите деменции, но и до голяма степен от подкоровите такива.

В допълнение, резултатите от проведените в текущото изследване невропсихологични тестове позволяват да се оценят възможностите им за ранен скрининг и проследяване, като най-подходящите тестове са представени в следната таблица (Таблица 5):

Таблица 5. Разделяне на невропсихологичните тестове в зависимост от способността им за ранен скрининг и/или достатъчно чувствително проследяване на състоянието

Тестове, подходящи за ранен скрининг	Тестове, подходящи за проследяване
FCSRT (тест на Buschke)	SDMT, DSMT
TMT	BVMT-R
Тестове за вербална флуентност (Isaac's Set Test, семантична флуентност)	MoCA
SDMT, DSMT	Тест на Stroop
Тест на Stroop	Тестове за вербална флуентност (фонемна флуентност?)
	TMT

3.2 Връзка между невроизобразяване и когнитивни нарушения

3.2.1 Оценка чрез визуални скали на Pasquier и Scheltens

3.2.1.1 Демографски и клинични характеристики на изследваната група

Сред пациентите, чиито образни изследвания бяха оценени с визуалните скали на Pasquier и Scheltens, 12 (54.5%) бяха класифицирани като пациенти с когнитивен дефицит, а останалите 10 (45.5%) - като когнитивно съхранени. Основните демографски и клинични данни на двете групи пациенти са представени в следната таблица (Таблица 6):

Таблица 6. Демографски и клинични характеристики на пациентите с множествена склероза, оценени чрез визуалните скали на Pasquier и Scheltens

	Пациенти с когнитивен дефицит (n = 12)	Когнитивно съхранени пациенти (n = 10)	p
Възраст	43.9 ± 9.2	32.7 ± 7.6	0.006
Пол (Ж/М)	8/4	7/3	0.87
Образование	3.2 ± 1.3	2.2 ± 1.4	0.12
Продължителност на заболяването в години	9.5 ± 7	3.2 ± 4.8	0.02
EDSS	3.4 ± 1.8	2.3 ± 1	0.11
MMSE	26.7 ± 2	29 ± 0.9	0.003
MoCA	22 ± 4	29 ± 1.1	<0.001
Fatigue Severity Scale	4.3 ± 1.9	2.6 ± 1.3	0.03
Скала за депресия на Beck	15.6 ± 9	8.1 ± 5.8	0.03

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. EDSS – Expanded Disability Status Scale; MMSE – Mini-Mental State Examination; MOCA – Montreal Cognitive Assessment

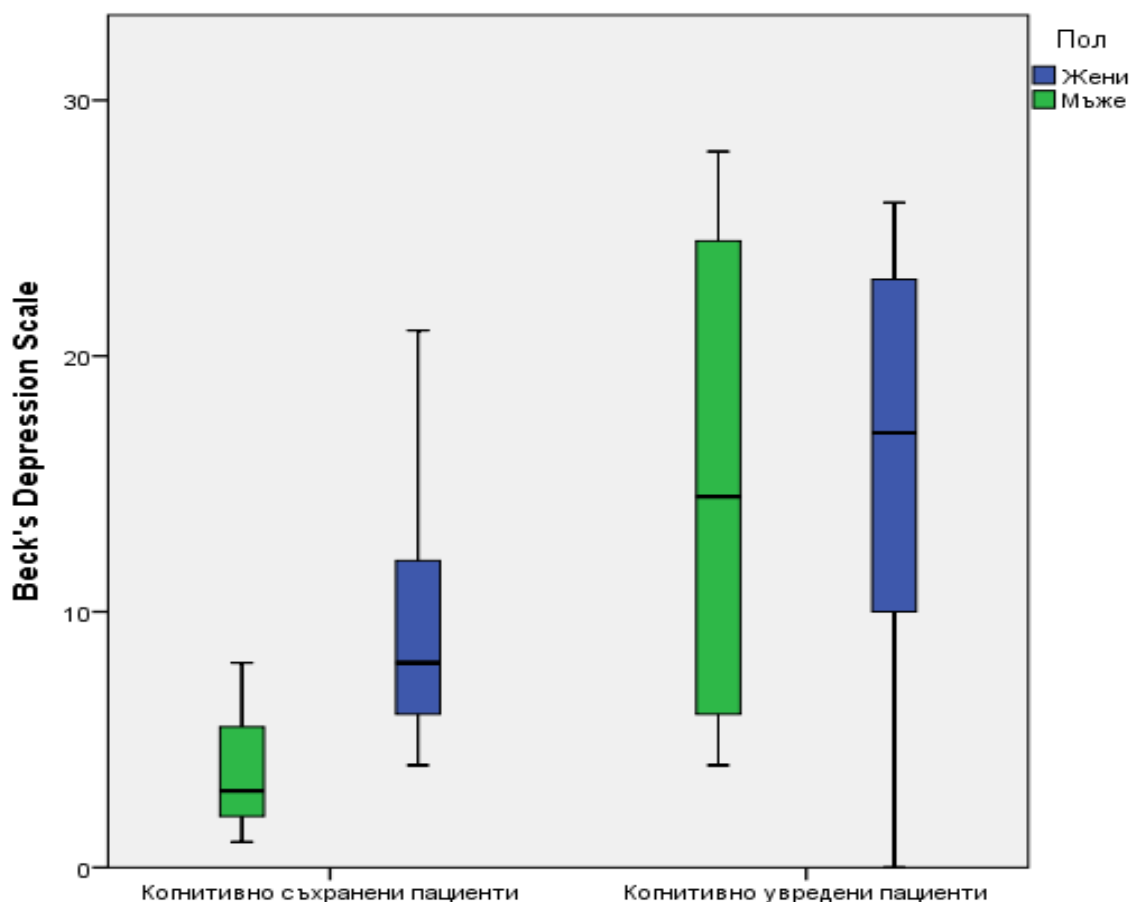
Няма съществена разлика между двете групи пациенти по отношение на пол, образование и степен на физическа инвалидизация, измерена чрез скалата EDSS. Анализът на резултатите от изследването показва статистически значима разлика в постиженията от всички невропсихологични тестове между когнитивно съхранените пациенти и тези с когнитивен дефицит – както по отношение на общото когнитивно функциониране (MMSE, MoCA), така и на селективните тестове за изследваните когнитивни сфери. В текущото изследване пациентите и в двете групи получиха значително по-нисък резултат при оценка на общото когнитивно функциониране чрез скалата MoCA, която отново се доказва като почувствителната за откриване на когнитивни нарушения при този контингент пациенти. Установи се статистически значима връзка между продължителността на заболяването и наличието на когнитивен дефицит. Такава връзка не беше установена между нивото на физическа инвалидизация, измерена чрез скалата EDSS, и наличието на когнитивен дефицит. Разликата в нивото на образование между двете групи не достигна статистическа значимост.

3.2.1.2 Разлики в скалите за депресия и умора между когнитивно съхранени и когнитивно увредени пациенти, оценени с визуалните скали на Pasquier и Scheltens

За да се уточни има ли разлика в резултатите от скалата за депресия на Beck между пациентите с и без когнитивни нарушения, се използва тестът на Ман-Уитни. Разпределенията на резултатите за двете групи са сходни, оценени чрез визуална инспекция. Медианните стойности за резултатите от скалата са статистически значимо различни между когнитивно съхранените (7.00) и когнитивно увредените пациенти (17.00), $U = 91$, $z = 2.049$, $p = 0.043$ (Фигура 35).

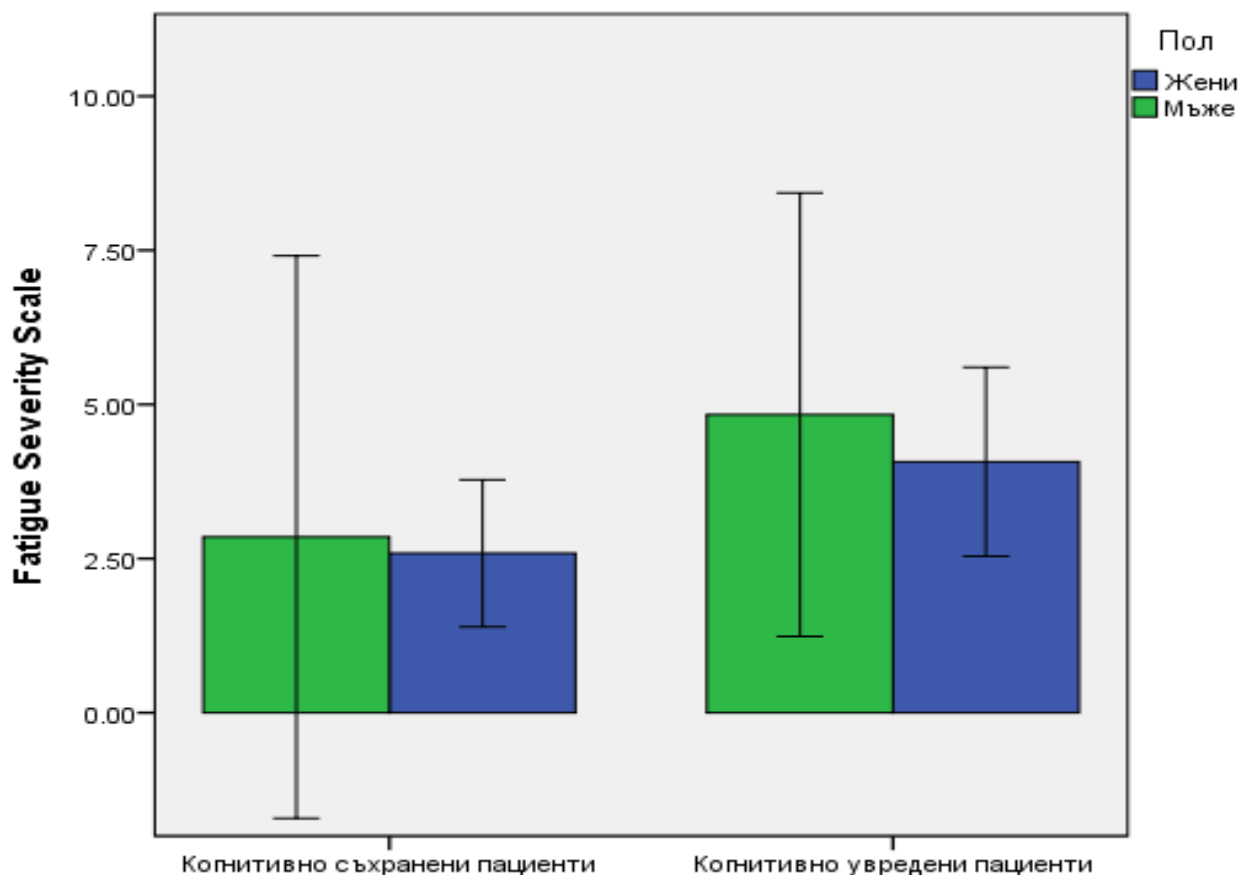
Фигура 35. Сравняване на резултатите от скалата за депресия Beck's Depression Scale

между пациенти с множествена склероза с и без когнитивни нарушения



За да се установи има ли разлика в резултатите от скалата за умора Fatigue Severity Scale между пациентите с и без когнитивни нарушения, се използва Т-тест за сравнение на независими извадки. Няма отдалечаващи се стойности след оценка на кватилна диаграма; стойностите са нормално разпределени за двете групи след теста на Шапиро-Уилк ($p > 0.05$), има равенство на дисперсиите след оценка чрез теста на Левин ($p = 0.289$). Данните са представени като средни стойности \pm стандартни отклонения. Стойностите от скалата са по-високи при когнитивно увредените пациенти (4.33 ± 1.92) спрямо когнитивно съхранените пациенти (2.67 ± 1.37), статистически значима разлика от -1.66 (95% доверителен интервал (от -3.17 до -0.15)), $t(20) = -2.291$, $p = 0.033$ (Фигура 36).

Фигура 36. Сравняване на резултатите от скалата за умора Fatigue Severity Scale между пациенти с множествена склероза с и без когнитивни нарушения

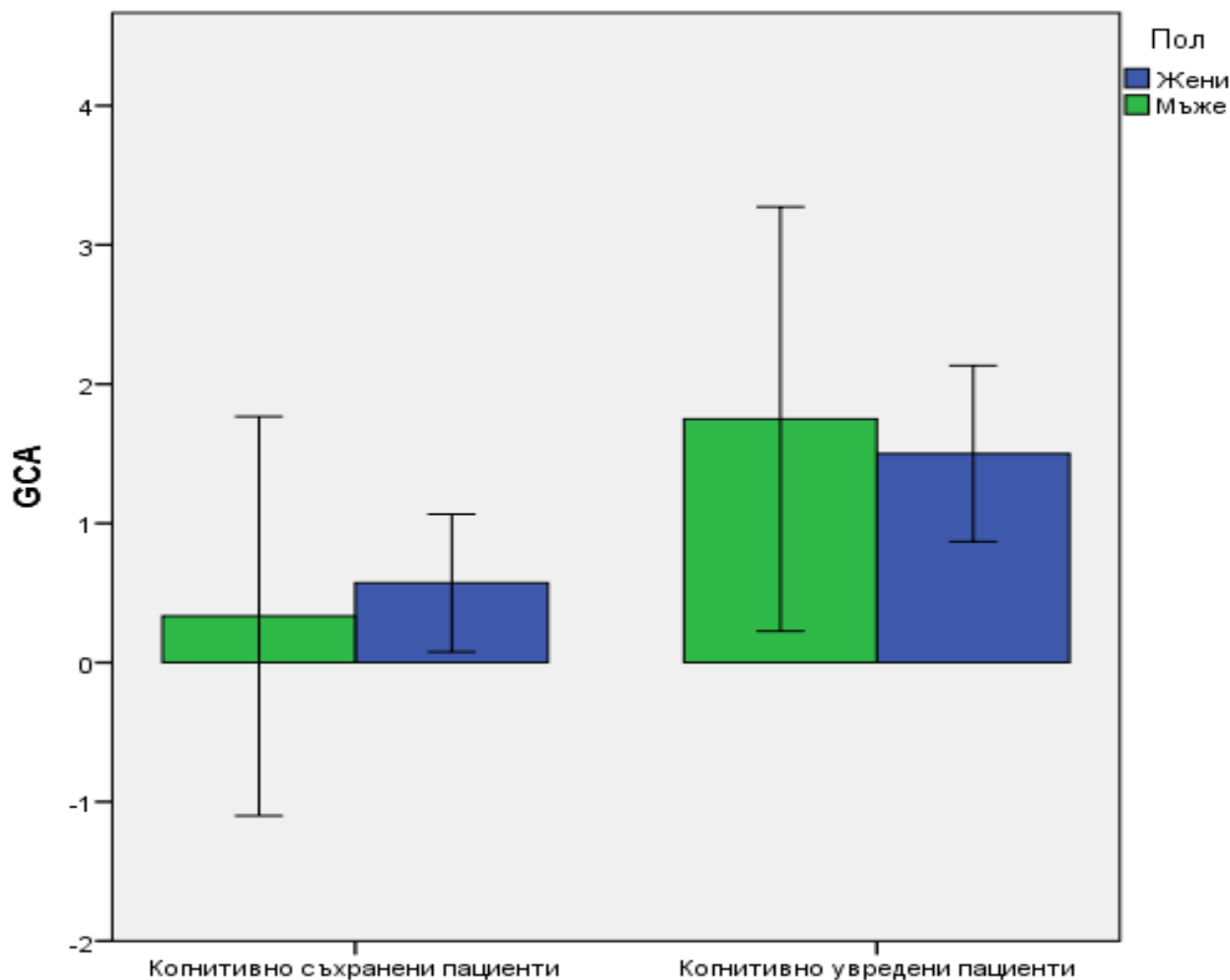


Пациентите с когнитивен дефицит се представиха със значително повече точки на скалата за оценка на депресивни състояния спрямо когнитивно съхранените пациенти, както и със значително повече точки на скалата за наличие на хронична умора и влиянието ѝ върху ежедневието на заболялите.

3.2.1.3 Разлики в скалата на Pasquier между когнитивно съхранени и когнитивно увредени пациенти

За да се уточни има ли разлика в резултатите от скалата на Pasquier за обща корова атрофия между пациентите с и без когнитивни нарушения, се използва тестът на Ман-Уитни. Разпределенията на резултатите за двете групи не са сходни, оценени чрез визуална инспекция. Средните рангове за резултатите от скалата са статистически значително различни между когнитивно съхранените (7.25) и когнитивно увредените пациенти (15.04), $U = 102.5$, $z = 3.086$, $p = 0.03$ (Фигура 37).

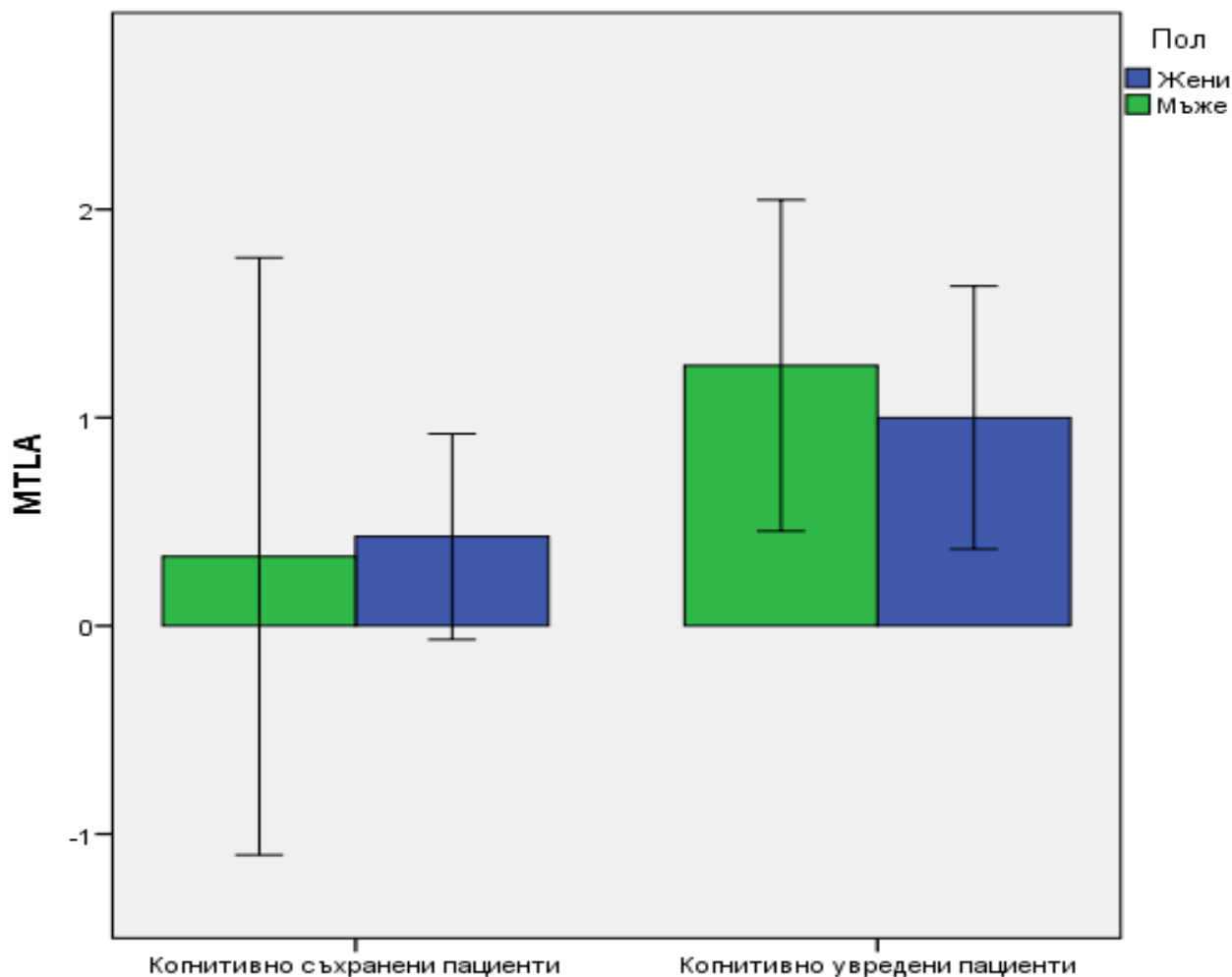
Фигура 37. Разлики в тежестта на общата корова атрофия, оценена чрез визуалната скала на Pasquier, между пациенти с множествена склероза с и без когнитивни нарушения (GCA – Global Cortical Atrophy)



3.2.1.4 Разлики в скалата на Scheltens между когнитивно съхранени и когнитивно увредени пациенти

За да се уточни има ли разлика в резултатите от скалата на Scheltens за атрофия на медиалния темпорален дял между пациентите с и без когнитивни нарушения, се използва тестът на Ман-Уитни. Разпределенията на резултатите за двете групи не са сходни, оценени чрез визуална инспекция. Средните рангове за резултатите от скалата са статистически значимо различни между когнитивно съхранените (8.3) и когнитивно увредените пациенти (14.17), $U = 92$, $z = 2.322$, $p = 0.036$ (Фигура 38).

Фигура 38. Разлики в тежестта на медиалната темпорална атрофия, оценена чрез визуалната скала на Scheltens, между пациенти с множествена склероза с и без когнитивни нарушения (MTLA – Medial Temporal Lobe Atrophy)



По отношение на магнитнорезонансната находка при пациентите с когнитивен дефицит се установи значително по-изразена обща корова атрофия спрямо групата на когнитивно съхранените ($p = 0.03$). Разликата в атрофията на медиалния темпорален дял при когнитивно съхранените пациенти спрямо пациентите с когнитивен дефицит е също статистически значима, ($p = 0.036$).

3.2.1.5 Корелация между различните невропсихологични тестове и резултатите от визуалните скали на Pasquier и Scheltens

В допълнение се установи корелация между резултатите от някои невропсихологични тестове и различните типове атрофия. За тази цел се използва ранговата корелация на Спирман. Атрофията на медиалния темпорален дял корелира статистически значимо с резултатите от тестовете за вербална и невербална памет (FCSRT (тест на Buschke), BVMT-R), както и с тестовете за семантична и фонемна вербална флуентност (Таблица 7):

Таблица 7. Корелации между медиалната темпорална атрофия, оценена чрез визуалната скала на Scheltens и някои невропсихологични тестове

	Buschke свободно припомняне	Buschke отсрочено свободно припомняне	BVMT- R общо	BVMT-R отсрочено	Брой думи с буквата „к“	Брой назовани животни	TMT-A (секунди)	Stroop 3
MTLA (r_s)	-0.517	-0.573	-0.518	-0.606	-0.476	-0.729	0.319	-0.376
MTLA (p)	0.014	0.005	0.014	0.003	0.025	<0.001	0.148	0.085

Данните са представени като рангови коефициенти на корелация (коефициенти на Спирман) на първия ред и като сила на статистическата значимост на втория. BVMT-R – Brief Visual Memory Test – Revised; TMT – Trail Making Test; MTLA – Medial Temporal Lobe Atrophy

От друга страна, общата корова атрофия корелира в голяма степен с тестове, оценяващи екзекутивните функции (SDMT, Stroop 3), както и с тестовете за вербална и невербална памет (Таблица 8):

Таблица 8. Корелации между общата корова атрофия, оценена чрез визуалната скала на Pasquier и някои невропсихологични тестове

	SDMT	Stroop 3	TMT-A (секунди)	Buschke свободно припомняне	Buschke отсрочено свободно припомняне	BVMT- R общо	BVMT-R отсрочено	Брой думи с буквата „к“	Брой назовани животни
GCA (r_s)	-0.619	-0.634	0.537	-0.554	-0.564	-0.645	-0.73	-0.466	-0.64
GCA (p)	0.002	0.002	0.01	0.007	0.006	0.001	<0.001	0.029	0.001

Данните са представени като рангови коефициенти на корелация (коефициенти на Спирман) на първия ред и като сила на статистическата значимост на втория. SDMT – Symbol Digit Modalities Test; TMT – Trail Making Test; BVMT-R – Brief Visual Memory Test – Revised; GCA – Global Cortical Atrophy

3.2.2 Корова патология и когнитивни нарушения

3.2.2.1 Демографски и клинични данни на изследваната група

Основните демографски и клинични данни на пациентите, изследвани с DIR-секвенция на МРТ, са представени в следната таблица (Таблица 9):

Таблица 9. Демографски и клинични данни на пациентите, оценени с DIR-секвенция на МРТ

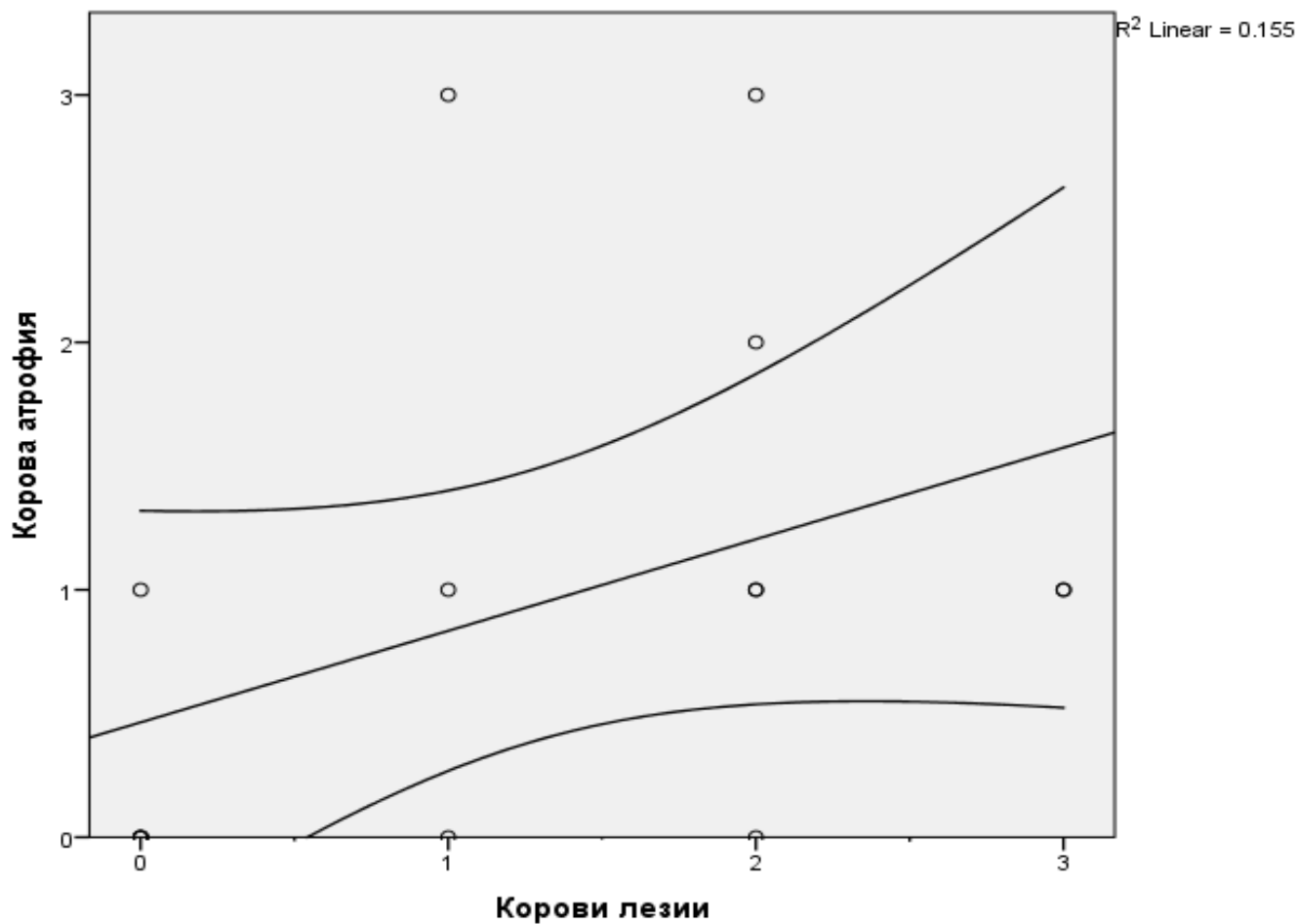
Възраст	40.8 ± 9.2
Пол (Ж/М)	11/4
Образование (в години)	12.9 ± 2.4
Продължителност на заболяването (в години)	9.8 ± 9.4
EDSS	2.5 ± 1.3
MMSE	27 ± 3.1
MoCA	23.7 ± 6.1
Beck's Depression Scale	10.9 ± 10.3
Fatigue Severity Scale	3 ± 1.9

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. EDSS – Expanded Disability Status Scale; MMSE – Mini-Mental State Examination; MOCA – Montreal Cognitive Assessment

3.2.2.2 Корелации между корови лезии, перивентрикуларни лезии и корова атрофия

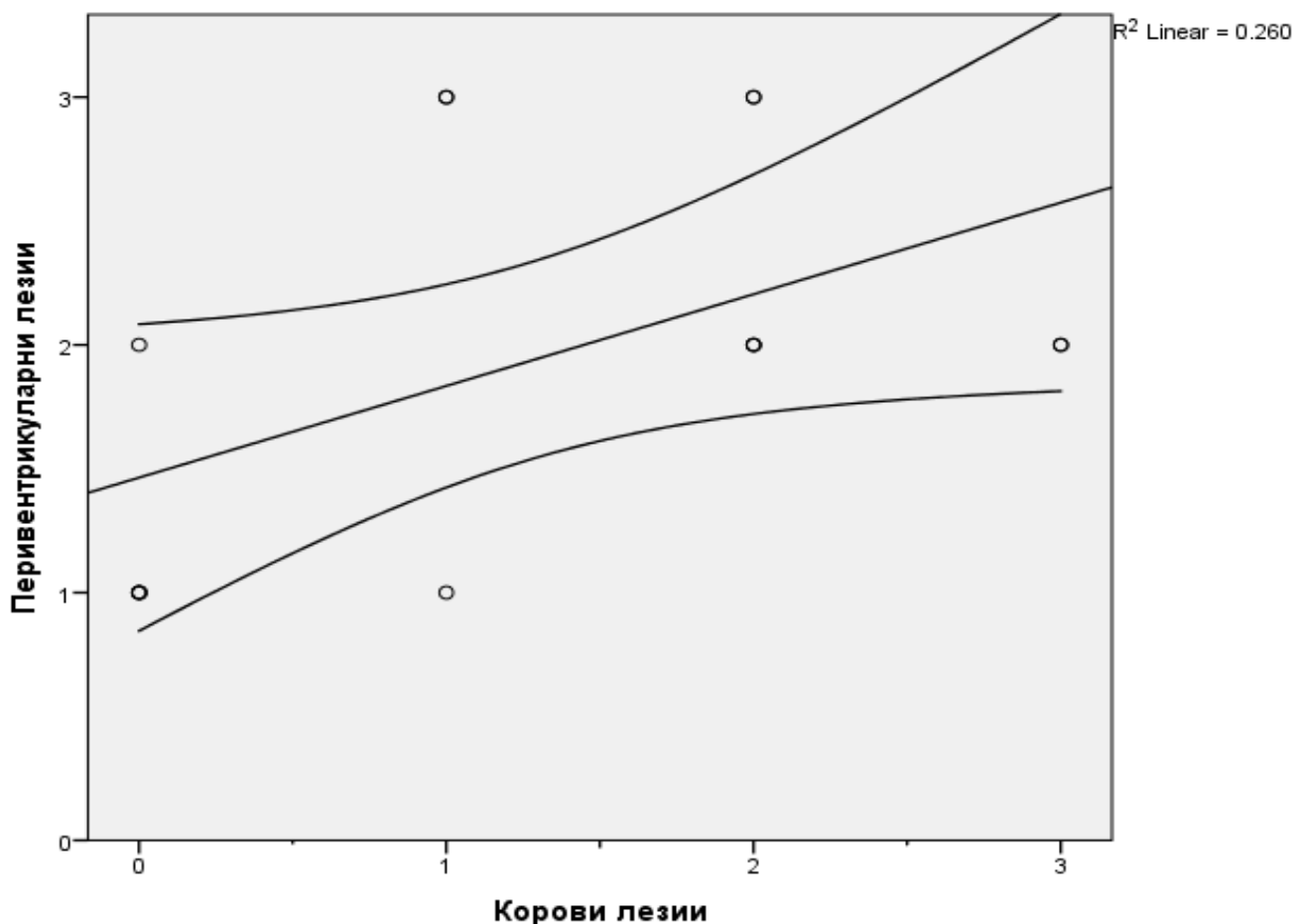
За да се установи връзката между коровите лезии от една страна и коровата атрофия и броя на перивентрикуларните лезии от друга, се използва ранговата корелация на Спирман. Установи се позитивна корелация между броят на коровите лезии и степента на корова атрофия, $r_s = 0.512$, $p = 0.05$ (Фигура 39).

Фигура 39. Корелация между броя корови лезии и тежестта на коровата атрофия



Установи се позитивна корелация между броят на коровите лезии и броя на перивентрикуларните лезии, $r_s = 0.537$, $p = 0.039$ (Фигура 40).

Фигура 40. Корелация между броя корови и перивентрикуларни лезии



3.2.2.3 Корелации между корова патология и представяне на невропсихологичните тестове

Анализът на получените резултати представи статистически значима корелация между коровата атрофия и някои невропсихологични тестове – както по отношение на общото когнитивно функциониране (MMSE, MoCA, включително подskalата за зрително-пространствени функции), така и по отношение на селективните тестове за съответните когнитивни сфери – FCSRT (тест на Buschke) отсрочено общо припомняне и брой на интрузитте при отсрочено припомняне. Корелацията достигна нива, близки до статистическата значимост, за подskalите на MMSE за памет и внимание, подskalата на MoCA за внимание, свободно и общо припомняне при първи опит в теста на Buschke, общият брой интрузии, както и общ и отсрочен резултат при BVMТ-R, Isaac's Set Test и теста на Струп, включително броя грешки (Таблица 10):

Таблица 10. Корелации между тежестта на коровата атрофия и някои невропсихологични тестове

	Средни стойности ± стандартни отклонения	Корелационен коефициент с корова атрофия
MMSE	27.27 ± 3.11	-0.6580*
MMSE памет	2.53 ± 0.83	-0.4408
MMSE внимание	4.4 ± 0.91	-0.3556
MoCA	23.67 ± 6.08	-0.5929*
MoCA зрительно-пространствени функции	3.53 ± 1.6	-0.5567*
MoCA внимание	5.2 ± 1.01	-0.2982
Buschke свободно припомняне	18.93 ± 8.02	-0.3659
Buschke общо припомняне	31.8 ± 6.96	-0.4496
Buschke интрузии	15.47 ± 12.43	0.3021
Buschke разпознаване	15.2 ± 1.42	-0.2932
Buschke отсрочено свободно припомняне	8.8 ± 4.13	-0.3701
Buschke отсрочено общо припомняне	13.33 ± 3.5	-0.7279*
Buschke интрузии при отсрочено припомняне	2.33 ± 4.91	0.6548*
BVMT-R общо	14.13 ± 9.07	-0.4441
BVMT-R отсрочено	6.27 ± 3.6	-0.4718
IST	30.87 ± 7.3	-0.3906
SCWT 1	74.2 ± 23.48	-0.4699
SCWT 2	59.4 ± 14.73	-0.3574
SCWT грешки	1.13 ± 1.3	0.3825

Със звезда (*) са представени корелационни коефициенти със статистическа значимост $p < 0,05$.

MMSE – Mini-Mental State Examination; MOCA – Montreal Cognitive Assessment; BVMT-R – Brief Visual Memory Test-Revised; IST – Isaac’s Test; SCWT – Stroop Colour Word Test

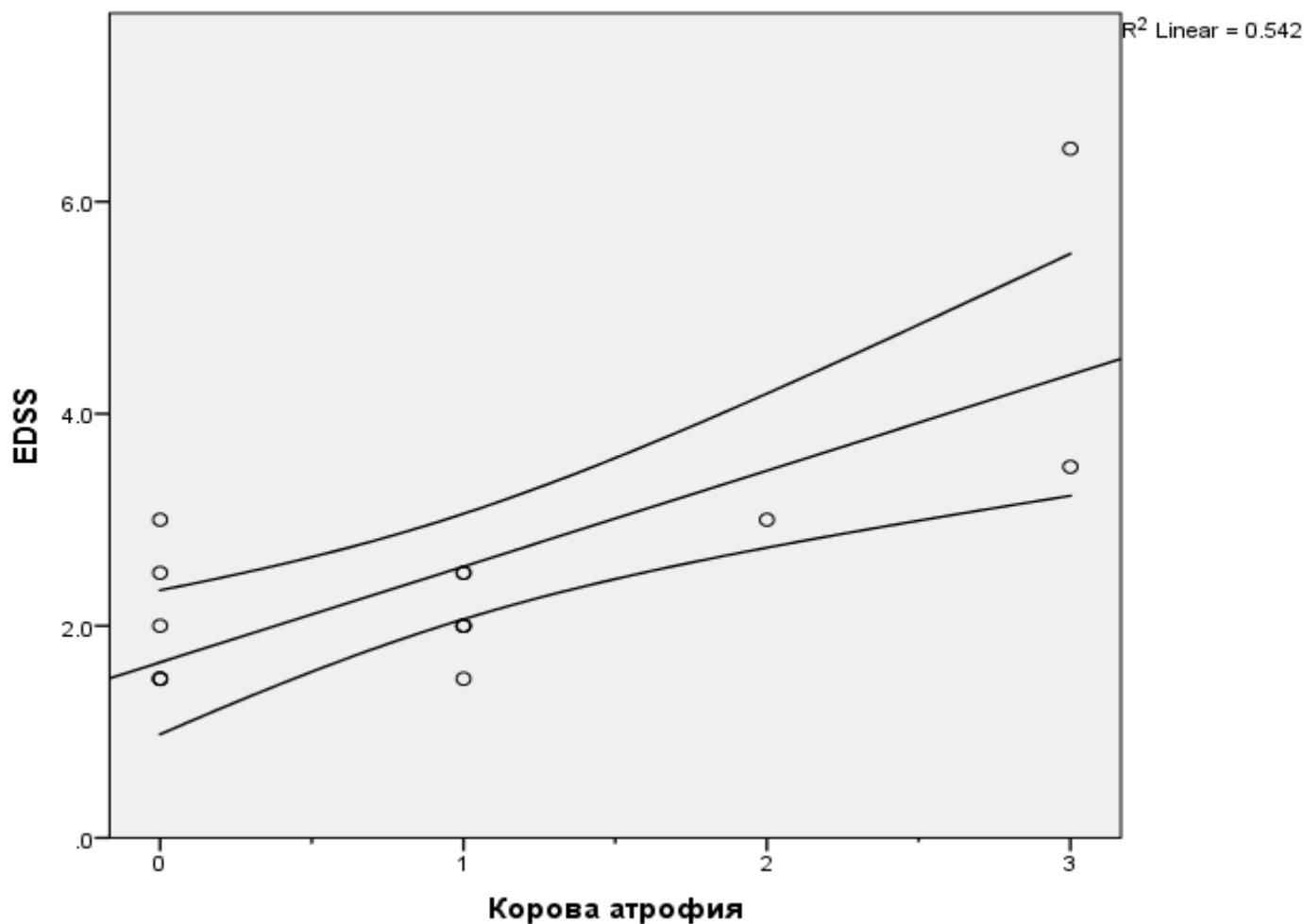
Броят на подкоровите лезии от друга страна достигна близост до статистическата значимост при корелация със скалата за депресия на Beck (корелационен коефициент 0.4098), а броят на перивентрикулните лезии достигна близост до статистическата значимост при корелация с разпознаването в теста на Buschke ($p = 0.06$).

В текущото проучване пациентите се представиха значимо по-лошо при оценка на общото когнитивно функциониране чрез МоСА в сравнение с MMSE (средни стойности 23.7 ± 6.1 за МоСА и 27 ± 3.1 за MMSE), което е поредното доказателство за по-голямата чувствителност на МоСА за откриване на когнитивни нарушения при пациенти с множествена склероза.

3.2.2.4 Корелация между корова атрофия и физическа инвалидизация

Установи се позитивна корелация между степента на корова атрофия и степента на физическа инвалидизация, измерена чрез EDSS, $r_s = 0.586$, $p = 0.022$ (Фигура 41).

Фигура 41. Корелация между коровата атрофия и физическата инвалидизация, оценена чрез EDSS



Нивото на образование на пациентите (измерено като години на обучение) корелира с глобалното им когнитивно функциониране, измерено чрез MMSE, $r_s = 0.593$, $p = 0.02$

3.2.3 Обсъждане

В настоящето изследване са представени данни за връзка между общата корова атрофия и атрофията на медиалния темпорален дял, от една страна, и нарушенията в специфични когнитивни сфери, от друга. Установи се, че докато общата корова атрофия корелира основно с тестове за езекутивни функции (SDMT, Stroop, TMT), атрофията на медиалния темпорален дял се асоциира с постиженията от тестове за вербална (FCSRT) и невербална (BVMT-R) памет, както и с вербална флуентност. Тази връзка между специфични атрофични промени и нарушения в определени когнитивни функции се наблюдава дори и при пациентите с клинично лека форма на пристъпно-ремитентна форма на множествена склероза. Тези данни предполагат наличието на определен анатомичен корелат за всяка когнитивна сфера и съответно на това до определена степен различен когнитивен профил при различните пациенти с множествена склероза в зависимост от конкретния профил на регионални атрофични промени. Докато все още няма достатъчно данни за категорично свързване на всеки невропсихологичен тест със строго определена мозъчна локализация, съществуват достатъчно изследвания, които полагат основите на тази идея – Nocentini et al. изследват пациенти с множествена склероза и откриват корелация между представянето на теста SDMT и атрофията предимно в челните дялове (основно среден и долен десен челен гирус), десен оперкулум и десен темпорален полюс, докато резултатите за тестовете за вербална памет корелират предимно с атрофията в ляв челен полюс, десен гирус супрамаргиналис, десен оперкулум и дясна инсула (Nocentini, 2014). Очевидно съществува известна неспецифичност в тези корелации, която отчасти се дължи на невъзможността който и да е невропсихологичен тест да изследва изолирано и само една определена когнитивна област, сравнително разпределения, „мрежови“ характер на някои когнитивни функции (скорост на обработка на информацията, езекутивни функции), както и паралелното обхващане на атрофичните процеси на малко или много всички корови области. Въпреки това, текущите данни представят паметовите процеси като по-локализиран анатомично когнитивен домейн, който подчертано корелира с увредите в темпоралните дялове и при пациенти с множествена склероза.

Изследването потвърждава и данните от предишната глава за статистически значимата връзка между когнитивното функциониране и продължителността на болестта, зависимост характерна за прогресивно невродегенеративно заболяване. Това отново поставя въпроса за наличието на първична невродегенеративна компонента в патогенезата на заболяването, чиито механизми са все още недостатъчно изяснени, но са широко обсъждани през последните години – микроглиална активация, ексцитотоксичност, хроничен оксидативен стрес, водещи до митохондриална дисфункция, ретроградна и антероградна дегенерация на

демиелинизираните аксони поради липса на трофика и като краен резултат загуба на мозъчно вещество и изчерпване на функционалния резерв (Friese, 2014).

Депресията и умората са значително по-изразени при пациентите с когнитивно нарушение, което допълнително поставя въпроса за тяхната генеза по-скоро като вторичен спрямо атрофичните промени феномен, а не като първични синдроми (Hildebrandt, 2014). Като потенциален анатомичен корелат за появата на умора, например, се описват бифронталните увреди, както и подкоровите увреди в други области, включително корпус калозум, било то атрофични или предизвикани от невроинфламаторни лезии (Patejdi, 2016; Yaldizli, 2014). Интересно е сравнението между корелациите на депресията и умората от една страна с продължителността на заболяването и от друга с когнитивните нарушения. Данните от предишната глава представят противоречиви данни за връзката между продължителността на заболяването и депресията, отчасти поради появата на липса на критичност при по-тежките форми на заболяването, както и за по-консистентна, но въпреки това не достигаща статистическа значимост корелация между продължителността на заболяването и умората. Явно продължителността на заболяването сама по себе си не е достатъчно изразен фактор за генезата на тези феномени, докато появата на когнитивни нарушения много по-убедително може да се свърже с тях. Тези данни насочват към съждението, че депресията и умората биха могли да се свържат с когнитивните нарушения независимо от видимите от образните изследвания невроинфламаторни и дегенеративни промени. Тази връзка е и двупосочна – наличието на когнитивни увреди би могло да доведе до депресивност пациентите със запазена критичност, както и до т.нар. „когнитивна умора“, докато в същото време апатията, породена от депресивността, би довела до по-слабо представяне на невропсихологичните тестове, както и до субективното чувство за умора (Niino, 2014). Всички тези зависимости, често противоречиви в множеството изследвания, опитващи се да оценят причинно-следствената връзка между тях, подчертават липсата на достатъчно знания за генезата на депресията и умората при пациентите с множествена склероза, както и вероятното наличие на допълнителни фактори, играещи роля при появата им.

В допълнение, резултатите доказват, че визуалните магнитнорезонансни скали могат да бъдат лесен и достъпен метод за оценка на пациентите с множествена склероза спрямо когнитивните им нарушения.

По отношение на групата пациенти, изследвани с DIR-секвенцията, резултатите показват, че коровата атрофия е един от най-чувствителните образни корелати на когнитивната дисфункция при множествена склероза. Това е в съответствие с установената представа, че мерките за атрофия са много по-чувствителни при връзка с когнитивните нарушения, отколкото лезионния товар, измерен в секвенциите T1 и T2 – Deloire et al.

описват дифузната загуба на паренхим и увеличената вентрикулна фракция като основен лош прогностичен фактор за когнитивен спад при пациенти през първата година от развитие на заболяването (DeLoire, 2012). Ролята на кортикалната атрофия в частност в генезата на когнитивните нарушения при множествена склероза се дискутира широко през последните години (Morgen, 2006). Съвкупността от невропсихологични изследвания, която корелира с коровата атрофия е сравнително неселективна, но все пак се наблюдава тенденция за най-силна корелация при когнитивни области, които са по-типични за невродегенеративните заболявания – общо когнитивно функциониране, селективно увреждане на паметта чрез нарушение на кодирането и множество интрузии при по-слабо засягане на разпознаването, а когнитивните области, които показаха най-ранна увреда при пациентите с множествена склероза в предишната глава, тук се представят с по-ниски коефициенти на корелация (внимание, вербална флуентност, екзекутивни функции). Това не е изненадващо предвид факта, че коровата атрофия се приема основно като показател за невродегенеративната компонента на заболяването, за която се очаква да бъде основен двигател на по-късните и не дотолкова специфични за ранните етапи на развитие на заболяването когнитивни увреди в гореописаните области. Въпреки това, предишни изследвания на пациенти с множествена склероза, включително описаните по-горе, документират отрицателното въздействие на кортикалната патология (както кортикална атрофия, така и брой и големина на коровите лезии) върху когнитивни сфери, които обикновено се считат за типично засегнати при болести на бялата материя - скорост на обработка на информацията, екзекутивни функции, внимание, зрително-пространствени функции – доказателство за сложния и многофакторен характер на когнитивните увреди при множествена склероза (Calabrese, 2010; Filippi, 2010). Вероятно тук отново играе роля от една страна регионалната увреда и връзката ѝ със специфични когнитивни области, а от друга – специфичната генеза на коровата атрофия при всеки пациент – резултат от дисконекция при отдалечени плаки на демиелинизация и последваща дегенерация или от пряка увреда при демиелинизация в самото сиво вещество.

В текущото изследване коровите лезии представиха слаба и противоречива корелация с представянето на невропсихологичните изследвания, но се представиха като основна причина за развитието на корова атрофия и съответно като индиректна такава за когнитивния спад. На кортикалните лезии се приписва различна тежест като независим фактор на когнитивните нарушения (при абстрахиране от ролята им в генезата на коровата атрофия) (Paradouroulou, 2013), но резултатите все пак са по-убедителни от тези за лезиите в бялото вещество. Nelson et al. описват липса на значима връзка между когнитивните нарушения и броя на лезиите, ограничени в кората, но откриват такава за големите лезии, които се простират до съседното бяло вещество (Nelson, 2011), докато други автори откриват силна

връзка между броя на коровите лезии и наличието на когнитивен спад (Filippi, 2010). Във всички случаи корелацията им с коровата атрофия сама по себе си е интересен резултат, който предполага, че атрофията на сивото вещество е свързана с демиелинизиращите лезии в него, а не толкова с отдалечената аксонална трансекция. Това би обяснило резултатите от някои предишни изследвания, в които липсва значима връзка между тежестта на регионалната корова атрофия и топографски отговарящия ѝ юкстакортикален лезионен товар (Pareto, 2015). Въпреки това, следва да се има предвид, че подобно на когнитивните нарушения при множествена склероза, генезата на атрофичните промени има по-сложен характер и вероятно се дължи на паралелно действащи процеси.

Относителната роля на лезиите в бялото вещество сами по себе си в генезата на когнитивните нарушения в текущото изследване е слаба и противоречива, което отговаря на описанията в световната литература (Filippi, 2010). Както вече беше дискутирано, анатомичният корелат на депресията при множествена склероза е все още неясен, като съществуват доказателства за връзката ѝ с различни модели на мозъчна увреда. Gobbi et al. например свързват депресията с фронтална, париетална и окципитална атрофия, като най-силна корелация откриват при двустранна фронтална атрофия, докато такава връзка не се установява с лезионния товар и атрофията на бялото вещество (Gobbi, 2014). В тази връзка интересна в текущото изследване е корелацията на подкоровите лезии с депресията, оценена със скалата на Векс, което съответства на теорията, че депресията се генерира от структурните промени, водещи до дисконекция, особено в лимбичната система и префронталните зони с прекъснати и „удължени“ връзки между ключови региони, а не толкова от атрофичните промени (Nigro, 2015). В тази насока са и резултатите на Rocca et al., които свързват депресията при множествена склероза с дисконекция на хипокампите от останалите структури на т.нар. default-mode network или мозъчните структури, които показват активност при изследване с функционален магнитен резонанс при пълен покой (resting-state fMRI) (Rocca, 2015).

Лезионният товар в кората корелира не само със степента на корова атрофия, но и с лезионния товар в перивентрикуларното бяло вещество – корелация, която не се наблюдава с никоя друга изследвана област. Преди да се открие привидно невъзможното наличие на корови демиелинизационни лезии при множествена склероза, най-изразеният лезионен товар в перивентрикулната материя и подкоровите области е давал основание да се описва градиент на лезионната честота, който започвал от тези области и намалявал с отдалечаването от тях в дълбочина на бялото вещество, преди да започне да се увеличава отново при доближаване до пиалната повърхност/вентрикулите – сега знаем, че този градиент започва не от подкоровото бяло вещество, а от самата мозъчна кора. Такъв градиент съществува дори в самата мозъчна

кора, като най-тежките увреди се наблюдават в близост до пиалната повърхност (Mainero, 2015), което корелира и със скорошното откритие на менингеални струпвания от лимфоцити, подобни на лимфни фоликули, по-чести при прогресиращите форми на болестта (Pikor 2015). Този типичен модел на увреда („вътрешна и външна мозъчна обвивка“) вероятно е свързан с общ възпалителен фактор в цереброспиналната течност, но специфичните механизми засега остават неясни (Pardini, 2017).

Физическата инвалидизация, измерена чрез EDSS, корелира с тежестта на коровата атрофия – логична връзка предвид ролята на коровата атрофия като маркер на напредващия невродегенеративен компонент на заболяването. Подобна корелация се описва и в други проучвания, макар, подобно на връзката между EDSS и когнитивните нарушения, тя да е противоречива и сравнително слаба.

3.3 Аполипопротеин Е и множествена склероза

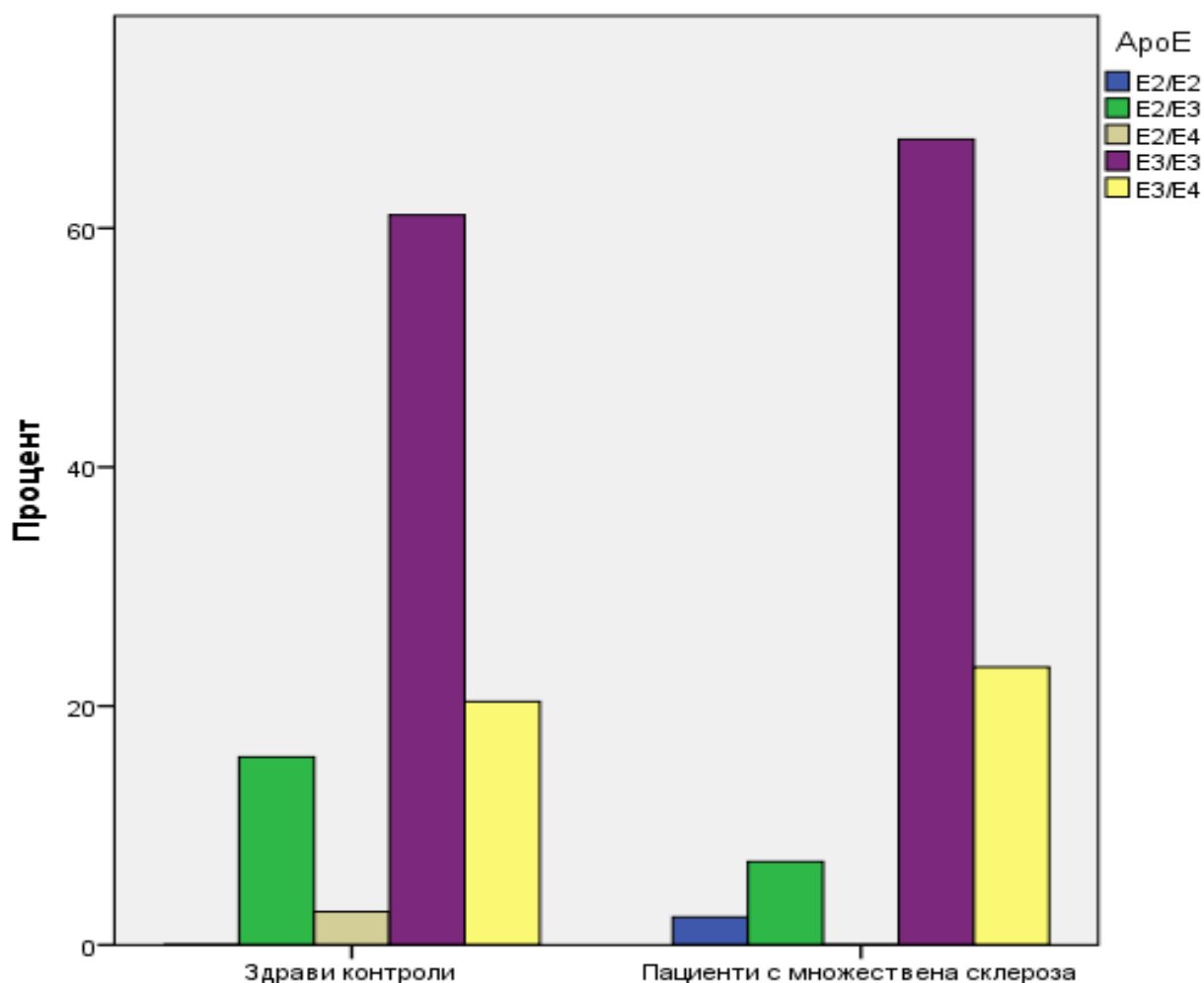
3.3.1 Процентно разпределение на отделните генотипове за аполипопротеин Е при пациенти с множествена склероза и при здрави лица

Разпределението на генотиповете на ApoE при група пациенти с множествена склероза и при здравите лица са представени в следните таблица (Таблица 11) и фигура (Фигура 42):

Таблица 11. Разпределение на генотиповете за аполипопротеин Е при пациенти с множествена склероза и здрави лица

	Пациенти с множествена склероза (n = 43)	Здрави контроли (n = 108)
E2/E2	1 (2.3%)	0 (0%)
E2/E3	3 (7%)	17 (15.7%)
E2/E4	0 (0%)	3 (2.8%)
E3/E3	29 (67.4%)	66 (61.1%)
E3/E4	10 (23.3%)	22 (20.4%)

Фигура 42. Графично изображение на разпределението на генотиповете за аполипопротеин Е при пациенти с множествена склероза и здрави лица



3.3.2 Честотно разпределение на отделните алели при пациенти с множествена склероза и при здрави лица

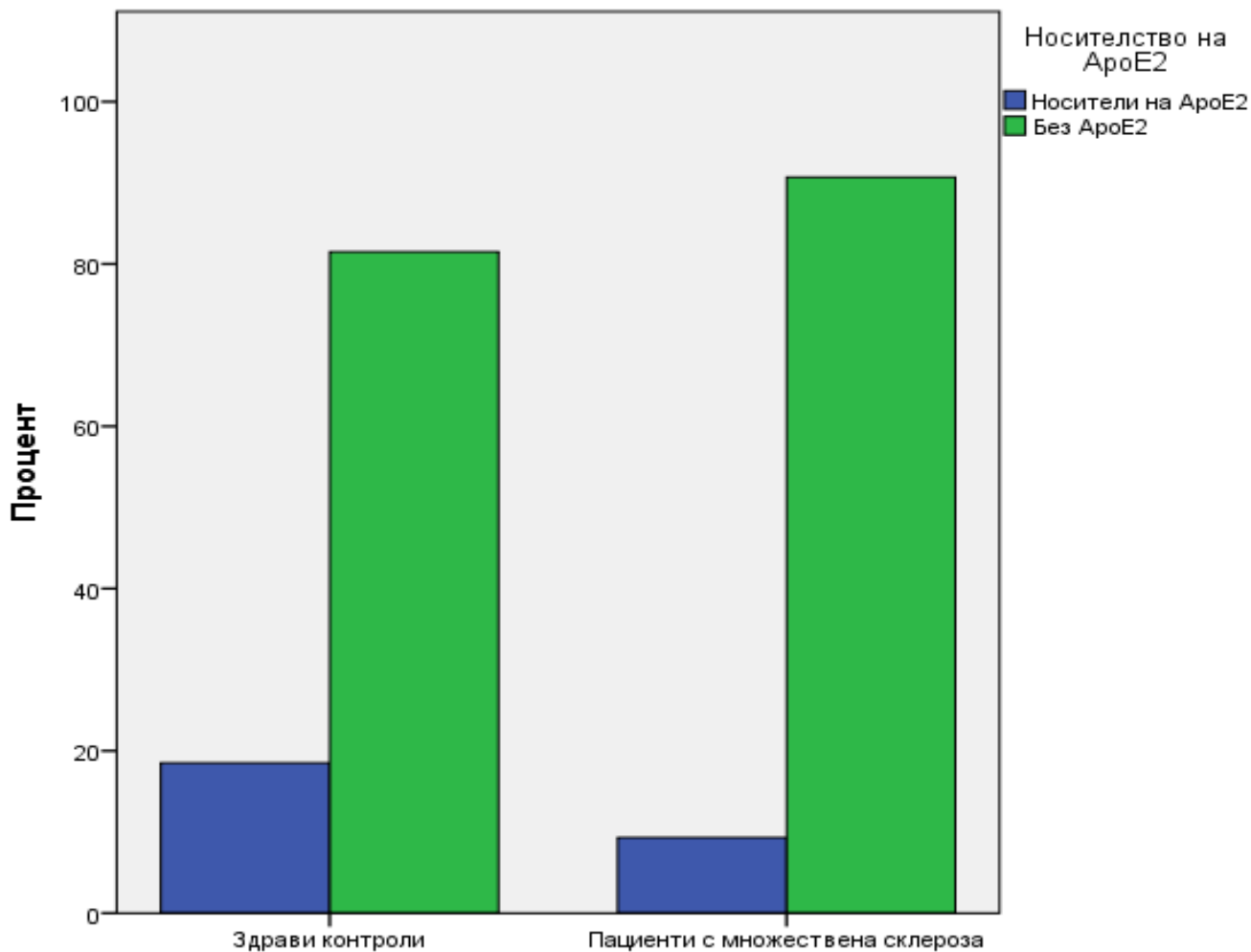
Процентното отношение на честотата на носителство на отделните алели в групата пациенти с множествена склероза и контролната група от здрави лица е представено в следната таблица (Таблица 12):

Таблица 12. Честотно разпределение на отделните алели за аполипопротеин Е при пациенти с множествена склероза и здрави лица

	Пациенти с множествена склероза (n = 43)	Здрави контроли (n = 108)
E2	9.3%	18.5%
E3	97.7%	97.2%
E4	23.3%	23.2%

За да се установи има ли статистически значима връзка между честотата на разпределение на алела E2 и наличието на множествена склероза, се използва Хи-квадрат тест на Пирсън. Очакваните честоти във всички клетки са по-големи от 5. Липсва статистически значима връзка между наличието на множествена склероза и честотата на разпределение на алела E2, $\chi^2(1) = 1.954$, $p = 0.162$ (Фигура 43).

Фигура 43. Сравняване на честотата на носителството на алел E2 между пациенти с множествена склероза и здрави лица



3.3.3 Когнитивно функциониране в зависимост от носителството на алел E4 при пациенти с множествена склероза

Пациентите с множествена склероза, при които се изследва генотипа на ApoE (43 пациента), бяха разделени на група хетерозиготи за алел E4 (10 пациента, 76.7%) и такива без алел E4 (33 пациента, 23.3%). Основните демографски и клинични данни на двете групи пациенти са представени в следната таблица (Таблица 13):

Таблица 13. Демографски и клинични характеристики на пациенти с множествена склероза, при които се изследва генотип на аполипопротеин Е.

	Хетерозиготи за алел Е4	Без алел Е4	Р
Възраст (години)	42.2 ± 12.12	40.52 ± 10.43	0.67
Пол (Ж/М)	7/3	18/15	0.48
Образование (години)	13.6 ± 2.07	14.09 ± 2.31	0.45
Продължителност на заболяването (години)	7.3 ± 7.1	8.4 ± 6.26	0.52
EDSS	3.15 ± 1.73	2.99 ± 1.39	0.75

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. EDSS – Expanded Disability Status Scale

Както е видно от таблицата, няма съществена разлика между двете групи пациенти по отношение на възраст, пол, образование, продължителност на заболяването и степен на физическа инвалидизация, измерена чрез скалата EDSS.

Сравнението на резултатите от невропсихологичните тестове между двете групи се осъществи чрез Т-теста за сравнение на независими извадки, а където е нужно, с непараметричния тест на Ман-Уитни. Представянето на невропсихологичните тестове при двете групи е представено в следната таблица (Таблица 14):

Таблица 14. Сравняване на когнитивното представяне между пациенти с множествена склероза с и без носителство на алел Е4

	Хетерозиготи за алел Е4 (n = 10)	Без алел Е4 (n = 33)	P
MMSE	28 ± 2.75	27.42 ± 1.5	0.11
MoCA	26 ± 3.74	24.15 ± 4.94	0.37
Buschke непосредствено припомняне	13.7 ± 1.49	13.85 ± 1.66	0.72
Buschke свободно припомняне при първи опит	5 ± 2.16	5.42 ± 3.23	0.68
Buschke общо припомняне при първи опит	9 ± 2.63	8.82 ± 3.69	0.97
Buschke свободно припомняне	21.4 ± 6.93	20.61 ± 10.23	0.9
Buschke общо припомняне	35.7 ± 5.23	33.61 ± 9.36	0.7
Buschke разпознаване	15.8 ± 0.42	15.15 ± 1.15	0.1
Buschke отсрочено свободно припомняне	9.6 ± 3.84	8.64 ± 4.05	0.51
Buschke отсрочено общо припомняне	14.7 ± 1.63	13.88 ± 2.55	0.44
BVMT-R първи опит	3.2 ± 2.97	3.58 ± 2.92	0.64
BVMT-R общо	16 ± 10.38	16.55 ± 10.11	0.88
BVMT-R отсрочено	7.4 ± 4.33	6.88 ± 4.29	0.77
Isaac's Set Test	36 ± 3.8	32.18 ± 7.09	0.27
Фонемна флуентност (брой назовани думи с буквата „к“)	14.7 ± 4.14	12.33 ± 6.59	0.19
Брой назовани животни	19.7 ± 4.52	18.73 ± 7.44	0.9
PASAT	37.88 ± 15.06	42.7 ± 10.09	0.33
PASAT грешки	8.43 ± 7.14	6.44 ± 4.13	0.7
PASAT пропуски	14.86 ± 13.57	10.72 ± 8.62	0.93
SDMT	42 ± 6.42	38.36 ± 14.78	0.29
DSMT	31.89 ± 10.12	31.79 ± 14.49	0.76
TMT-A	55.67 ± 20.94	66.94 ± 40.17	0.76
TMT-B	118.43 ± 56.26	158.04 ± 98.62	0.35
Stroop 1	77.7 ± 18.64	76.55 ± 19.97	0.92
Stroop 2	63.9 ± 13.16	59.85 ± 17.78	0.42
Stroop 3	36.9 ± 16.91	34.27 ± 11.81	0.58
Beck's Depression Scale	11.7 ± 8.47	12.12 ± 9.52	0.97
Fatigue Severity Scale	3.88 ± 1.5	3.46 ± 1.87	0.47

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. MMSE – Mini-Mental State Examination; MoCA – Montreal Cognitive Assessment; BVMT-R – Brief Visual Memory Test – Revised; PASAT – Paced Auditory Serial Addition Test; SDMT – Symbol Digit Modalities Test; DSMT – Digit Symbol Modalities Test; TMT – Trail Making Test

3.3.4 Обсъждане

Изследването на разпределението на различните алели на гена за аполипопротеин Е при пациенти с множествена склероза и здрави контроли разкрива почти абсолютна идентичност при разпределение на алелите Е3 и Е4 между двете групи (Е3 – 97.2% при здрави контроли и 97.7% при пациенти с множествена склероза; Е4 – 23.2% при здрави контроли и 23.3% при пациенти с множествена склероза). По-значителна, макар да липсва статистическа значимост, е разликата в разпределението на алел Е2 – 18.5% при здрави контроли и 9.3% при пациенти с множествена склероза. В текущото изследване това се дължи предимно на по-високия процент здрави контроли с генотип Е2/Е3 (15.7% спрямо 7% при пациентите с множествена склероза) за сметка на сравнително по-малка честота на най-често срещания генотип Е3/Е3 при сравнение с групата пациенти с множествена склероза (61.1% спрямо 67.4%). По-ниската честота на Е2 алела при пациенти с множествена склероза е описвана и от други автори (Zwemmer, 2004; Al-Shammri, 2005), докато влиянието му върху хода на заболяването се описва с противоречиви резултати – макар някои автори да свързват наличието на алела Е2 с по-доброкачествено клинично протичане (Schmidt, 2002), други описват наличието на алел Е2 като фактор за нарушена ремиелинизация, обяснявайки този ефект с по-ниския афинитет на рецепторите върху невроглиалните клетки към изоформата Е2 (Carlin, 2000). Макар че ролята на полиморфизма на гена за ApoE и в частност носителството на алел Е4 да е добре изучен и неоспорим фактор в генезата на някои невродегенеративни заболявания, най-вече болест на Алцхаймер, най-мащабните проучвания за значението на полиморфизма на ApoE гена за наличието и хода на множествената склероза представят липса на значима връзка. Няколко метапроучвания го доказват – през 2006г. Burwick et al. включват близо 3300 случая и изключват ролята на ApoE като фактор в заболяването (Burwick, 2006); през 2011г. Xuan et al. стигат до същото заключение, включвайки близо 5500 пациента (Xuan, 2011), а през 2012г. Lill et al. категорично отхвърлят тази връзка след изследване на около 12000 пациенти с множествена склероза (Lill, 2012). Тези данни подчертават значението на използването на големи извадки за противоречиви генотип-фенотипни корелации.

Липса на значими разлики в текущото изследване се установяват и при сравнение на невропсихологичните резултати между двете групи пациенти – носители на алел Е4 и пациенти без носителство на алела. Двете групи пациенти не се различават статистически значимо по възраст, пол, образование и продължителност на заболяването. Такава разлика не се установява и при сравнение на физическата инвалидизация, измерена чрез скалата EDSS. Подобно на изследванията за предиспозиция към развитие на заболяването в зависимост от полиморфизма на ApoE, съществуват и противоречиви данни за по-тежкото протичане на множествената склероза при носителство на алел Е4 (Tamam, 2011). Те се отнасят не само за нивото на физическа инвалидизация, но и за когнитивния статус – Shi et al. описват по-бърза прогресия на когнитивния дефицит при носители на алел Е4 (Shi, 2011), а Horáková et al. описват и по-бърза прогресия на мозъчната атрофия при тези пациенти (Horáková, 2010). На тези данни отговарят и множество проучвания, които не откриват такива връзки – както по

отношение на когнитивното представяне (Carmona, 2011), така и на образните характеристики (Ghaffar, 2011). Данните от текущото изследване подкрепят тезата за липса на връзка между носителството на алел Е4 и когнитивния статус на пациентите с множествена склероза – нито един от всичките невропсихологични тестове не показва значима разлика в резултатите между двете групи пациенти. Съвсем леко по-добри резултати всъщност постига групата пациенти хетерозиготи за алел Е4 (изключение за тестовете PASAT и BVMT-R) – факт, който не би трябвало да се обсъжда като значим и който вероятно се дължи на по-доброто индивидуално когнитивно представяне на отделни индивиди в тази група. Може би било достатъчно да се спомене, че гореспоменатото метапроучване на Burwick et al. от 2006г. не само изключва възможността носителите на определен алел на ApoE гена да са по-склонни към развитие на множествена склероза, но и липсата на какъвто и да е ефект на определен алел, включително Е4, върху тежестта на заболяването.

3.4 Изследване на биомаркери в цереброспинална течност и връзката им с когнитивните нарушения

3.4.1 Демографски и клинични характеристики на изследваната група

Основните демографски и клинични данни на пациентите, при които се проведе ликворно изследване, са представени в следната таблица (Таблица 15):

Таблица 15. Демографски и клинични характеристики на пациенти с множествена склероза, при които се осъществи изследване на ликвор

Възраст	37.07 ± 11.16
Пол (Ж/М)	7/8
Образование (в години)	13.6 ± 2.67
Продължителност на заболяването (в години)	0.84 ± 1.4
EDSS	2.2 ± 1.16
MMSE	28.13 ± 1.19
MoCA	26.13 ± 4.6
Beck's Depression Scale	11.73 ± 10.79
Fatigue Severity Scale	3.21 ± 1.74

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. EDSS – Expanded Disability Status Scale; MMSE – Mini-Mental State Examination; MOCA – Montreal Cognitive Assessment

В следната таблица са представени някои от данните от общото ликворно изследване при групата от 15 души с множествена склероза, при които бяха изследвани ликворни биомаркери (Таблица 16):

Таблица 16. Общ, белтък, албумин и имуноглобулини в цереброспинална течност на изследваните пациенти с множествена склероза

	Средни стойности ± стандартни отклонения	Референтни стойности
Общ белтък	0.43 ± 0.2 g/l	0.12 – 0.45 g/l
IgG	57.15 ± 28.81 mg/l	5 – 50 mg/l
IgA	5.92 ± 4.83 mg/l	1 – 5 mg/l
IgM	1.23 ± 1.31 mg/l	0.5 – 0.6 mg/l
Албумин	247.92 ± 106.28 mg/l	70 – 350 mg/l

3.4.2 Изследване на общ и фосфорилиран тау и амилоид-бета

По отношение на количеството общ тау протеин, от изследваните 15 души 3 са с нива над референтните граници на метода. Спрямо количеството фосфорилиран тау, 2 души са с нива над референтните граници, 3 са под тях, а останалите 10 са в референтни граници. Относно амилоид-бета в ликвор, 11 от пациентите се представиха със стойности под референтните граници, а останалите 4 – в норма. Сравнение на средните стойности от изследваните биомаркери в ликвора на пациентите с референтните стойности на метода, определени от производителя, представя дискретно завишено ниво на общ тау протеин при пациентите с множествена склероза, референтни нива на фосфорилиран тау протеин и значително понижени нива на амилоид-бета (Таблица 17):

Таблица 17. Сравнение на получените ликворни резултати с референтните граници на метода

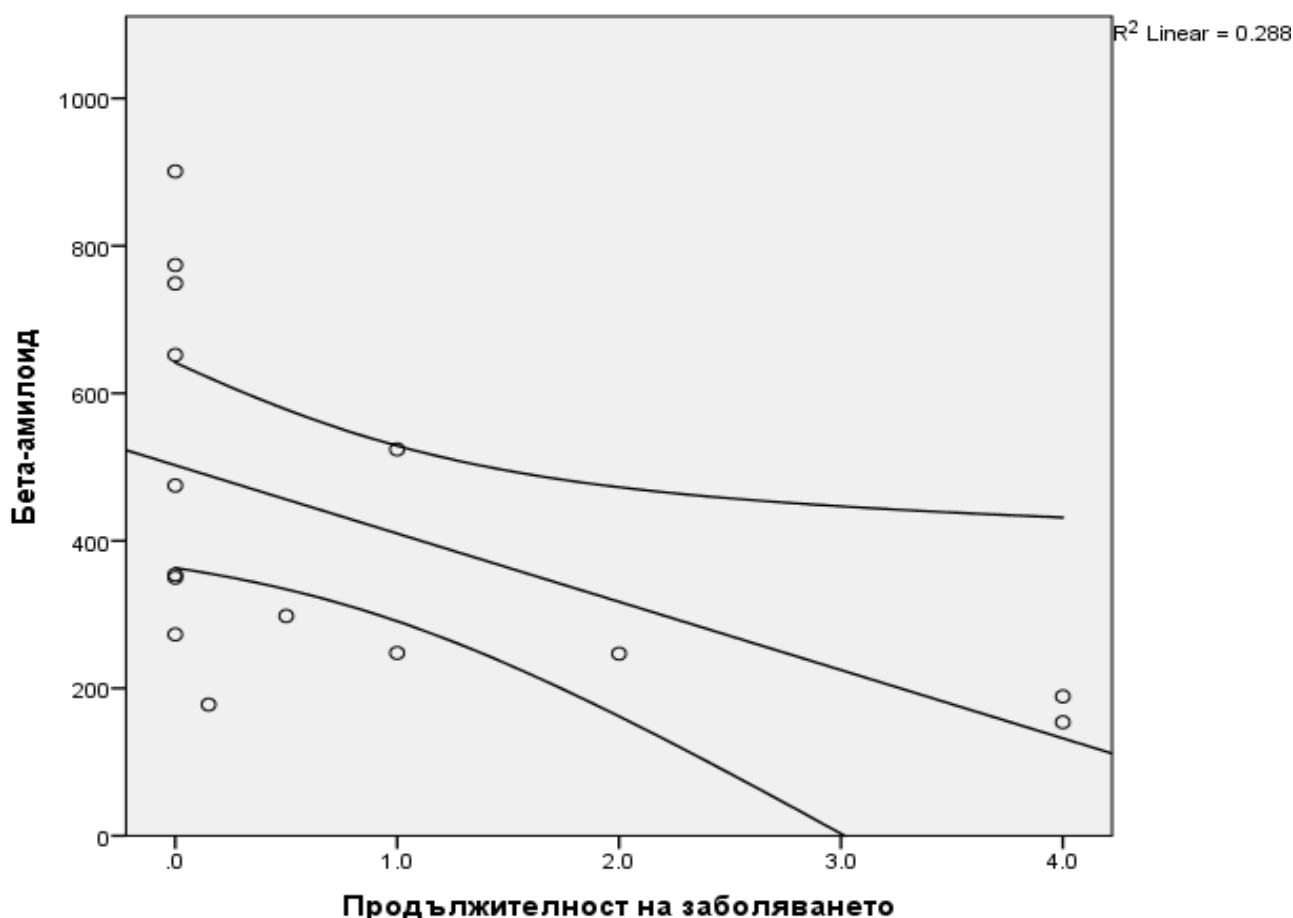
	Средни стойности ± стандартни отклонения	Референтни стойности на метода за съответната възраст
Общ тау протеин (T-tau)	155.79 ± 75.75 pg/ml	136 ± 89 pg/ml
Фосфорилиран тау протеин (P-tau)	29.6 ± 12.99 pg/ml	29.58 (19.66 – 45.67) pg/ml
Отношение T-tau/P-tau	5.14 ± 2.03	
Бета-амилоид	424.4 ± 242.05 pg/ml	792 ± 182 pg/ml

Проведеният статистически анализ на резултатите не откри съществени корелации между нивата на общ и фосфорилиран тау протеин и възрастта на пациентите и продължителността на заболяването им, както и такива не се откриха между нивата на общ и фосфорилиран тау и резултатите от представянето на пациентите в който и да е от невропсихологините тестове.

3.4.3 Корелация между количеството на амилоид-бета и продължителността на заболяването

За да се оцени връзката между продължителността на заболяването и нивата на амилоид-бета в ликвора на пациентите се използва корелация на Пирсън. Предварителният анализ показва линейна зависимост, като стойностите и на двете зависими са нормално разпределени след оценка чрез теста на Шапиро-Уилк ($p > 0.05$). Установи се статистически значима силна отрицателна корелация между двете зависими с намаляване на стойностите на амилоид-бета с увеличаване на продължителността на заболяването, $r = -0.537$, $p = 0.039$ (Фигура 44).

Фигура 44. Корелация между нивото на амилоид-бета в ликвор (измерено в pg/ml) и продължителността на заболяването



Подобна статистически значима отрицателна корелация се установи и между възрастта на пациентите и нивото на амилоид-бета в ликвора, като стойностите на амилоид-бета намаляват с увеличаване възрастта на пациента. Отрицателната корелация е силна, $r = -0.556$, $p = 0.031$.

3.4.4 Корелация между количеството на амилоид-бета и когнитивното представяне

При статистически анализ за оценка връзката между нивото на амилоид-бета в ликвора на пациентите и представянето им на невропсихологичните тестове се установи статистически значима корелация между нивото на амилоид-бета и резултатите при изследване на паметта с FCSRT (тест на Buschke), като такава не се установи при останалите невропсихологични тестове. За целта е използвана корелация на Пирсън (Таблица 18):

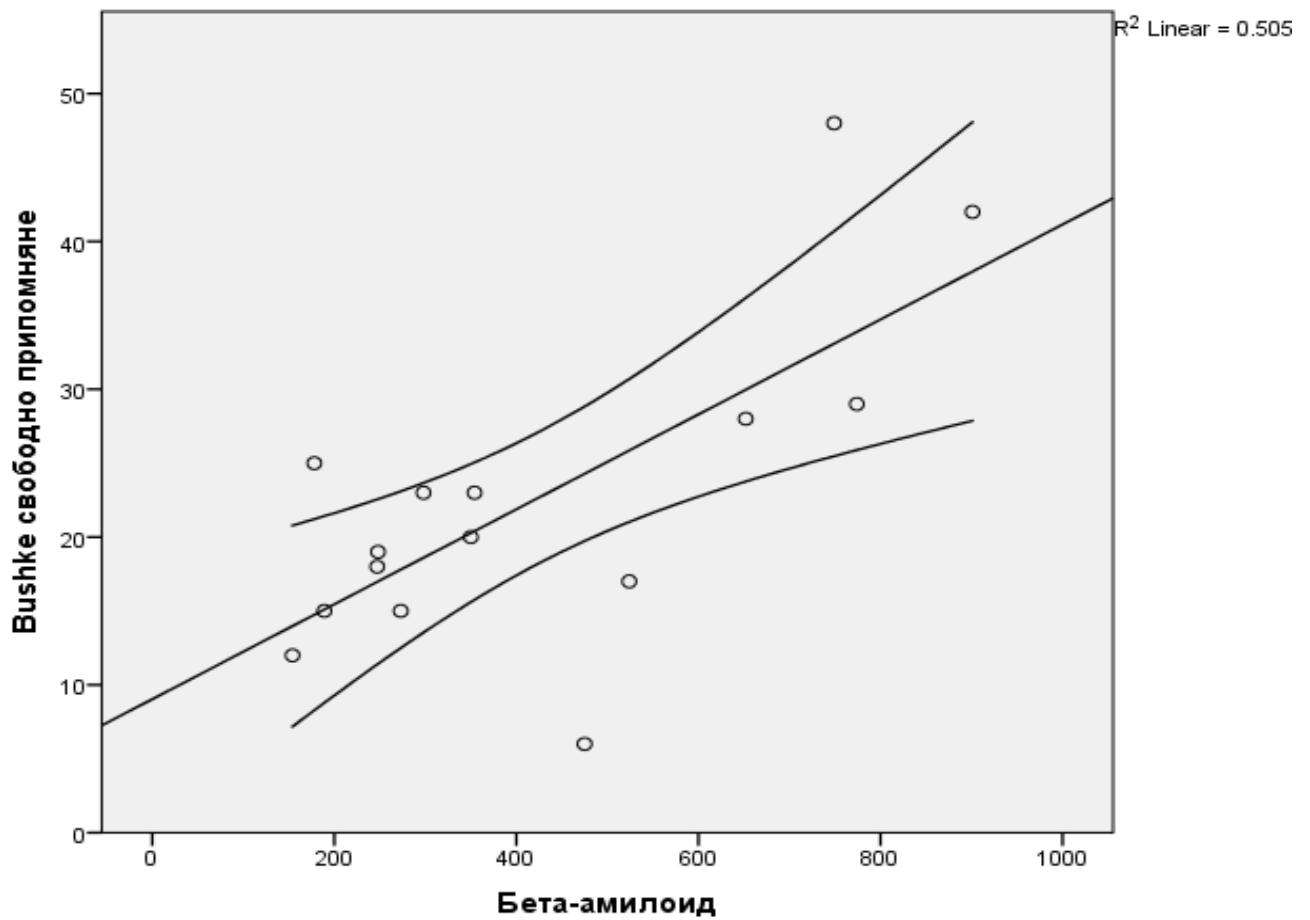
Таблица 18. Корелации между нивото на амилоид-бета в ликвора (измерено в pg/ml) и отделните компоненти от FCSRT (тест на Buschke)

	Buschke свободно припомняне при първи опит	Buschke общо припомняне при първи опит	Buschke интрузии при първи опит	Buschke свободно припомняне	Buschke общо припомняне	Buschke интрузии	Buschke отсрочено свободно припомняне
r	0.643	0.595	-0.703	0.711	0.666	-0.741	0.576
p	0.01	0.019	0.003	0.003	0.007	0.002	0.025

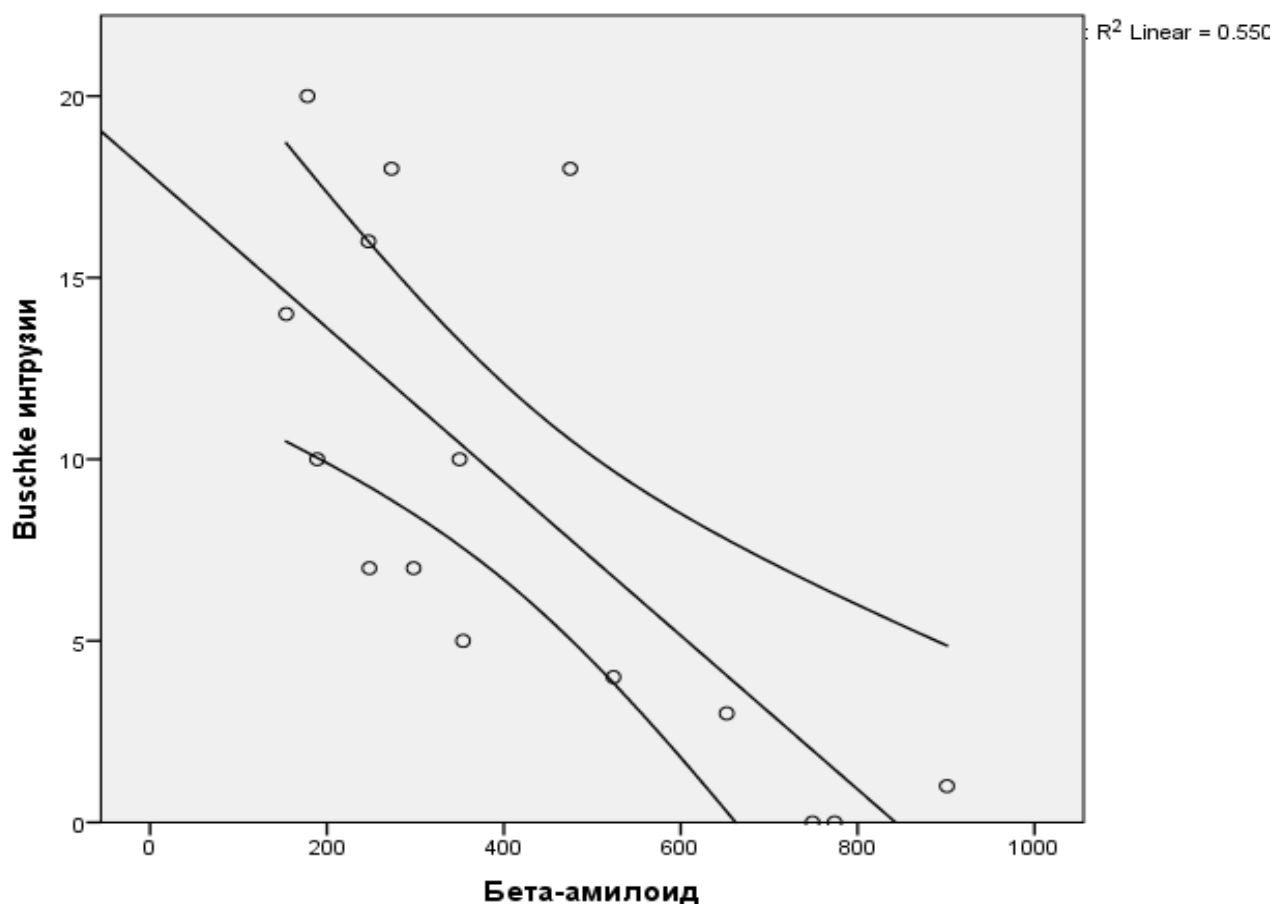
Представени са коефициентите на корелация и нивото на статистическа значимост при изследване на корелация между ниво на амилоид-бета в ликвора на пациентите и съответния компонент от FCSRT (тест на Buschke).

С намаляване на количеството амилоид-бета в ликвора се влошават както свободното, така и общото припомняне и се увеличава броят на интрузиите (Фигури 45 и 46):

Фигура 45. Корелация между нивото на амилоид-бета в ликвор (измерено в pg/ml) и свободно припомняне (брой думи)



Фигура 46. Корелация между нивото на амилоид-бета в ликвор (измерено в pg/ml) и броя интрузии при FCSRT



При 7 от 15-те пациенти, при които се проведе ликворно изследване, е изследван ApoE статус – 5 пациента с изоформа E3/E3, един пациент с изоформа E2/E3 и един пациент с изоформа E3/E4. При пациента с изоформа E3/E4 се отчита най-ниското ниво на амилоид-бета в текущата група – 154pg/ml.

3.4.5 Сравнение на ликворни биомаркери между пациенти с множествена склероза и болест на Алцхаймер

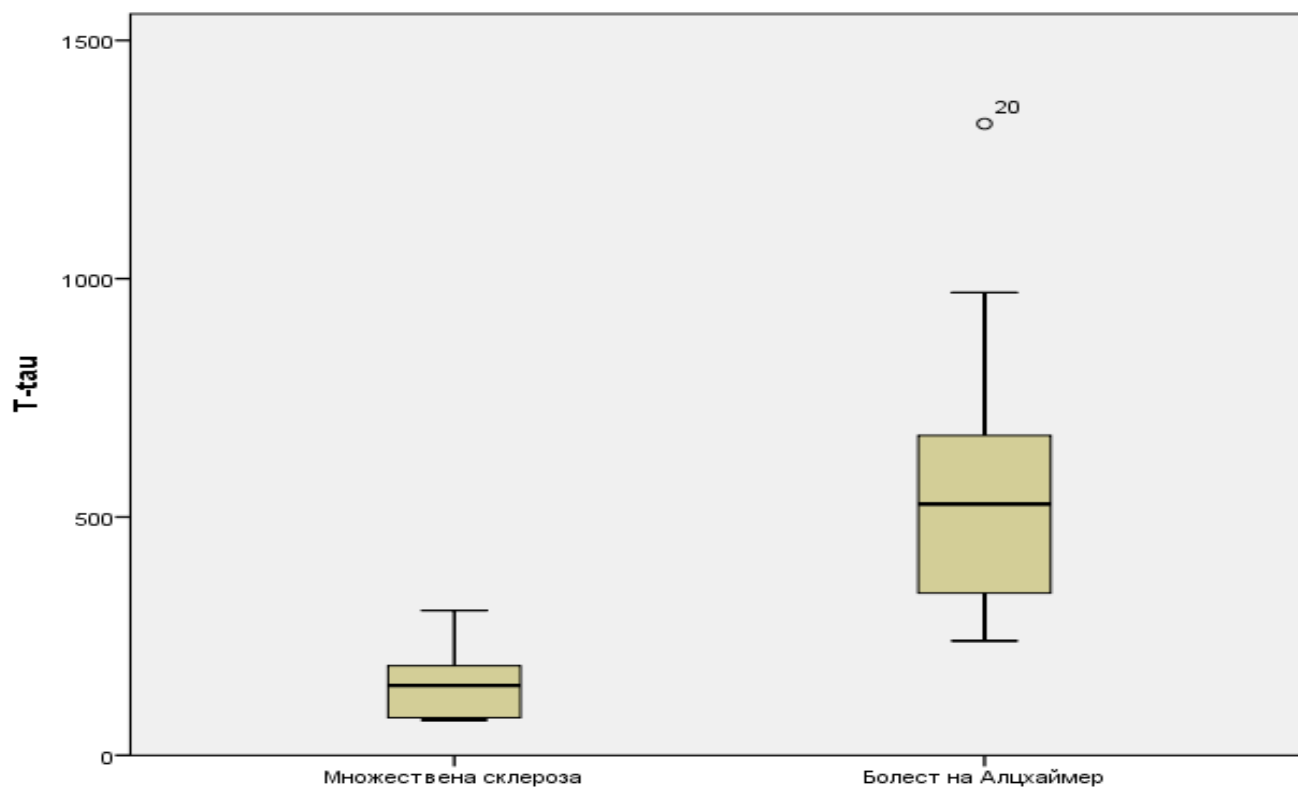
Стойностите на ликворните биомаркери бяха сравнени със стойностите на същите при 15 лица с болест на Алцхаймер. За целта се използва непараметричният тест на Ман-Уитни. Резултатите са представени в следната таблица (Таблица 19):

Таблица 19. Сравнение между нивата на общ и фосфорилиран тау и амилоид-бета при пациенти с болест на Алцхаймер и множествена склероза

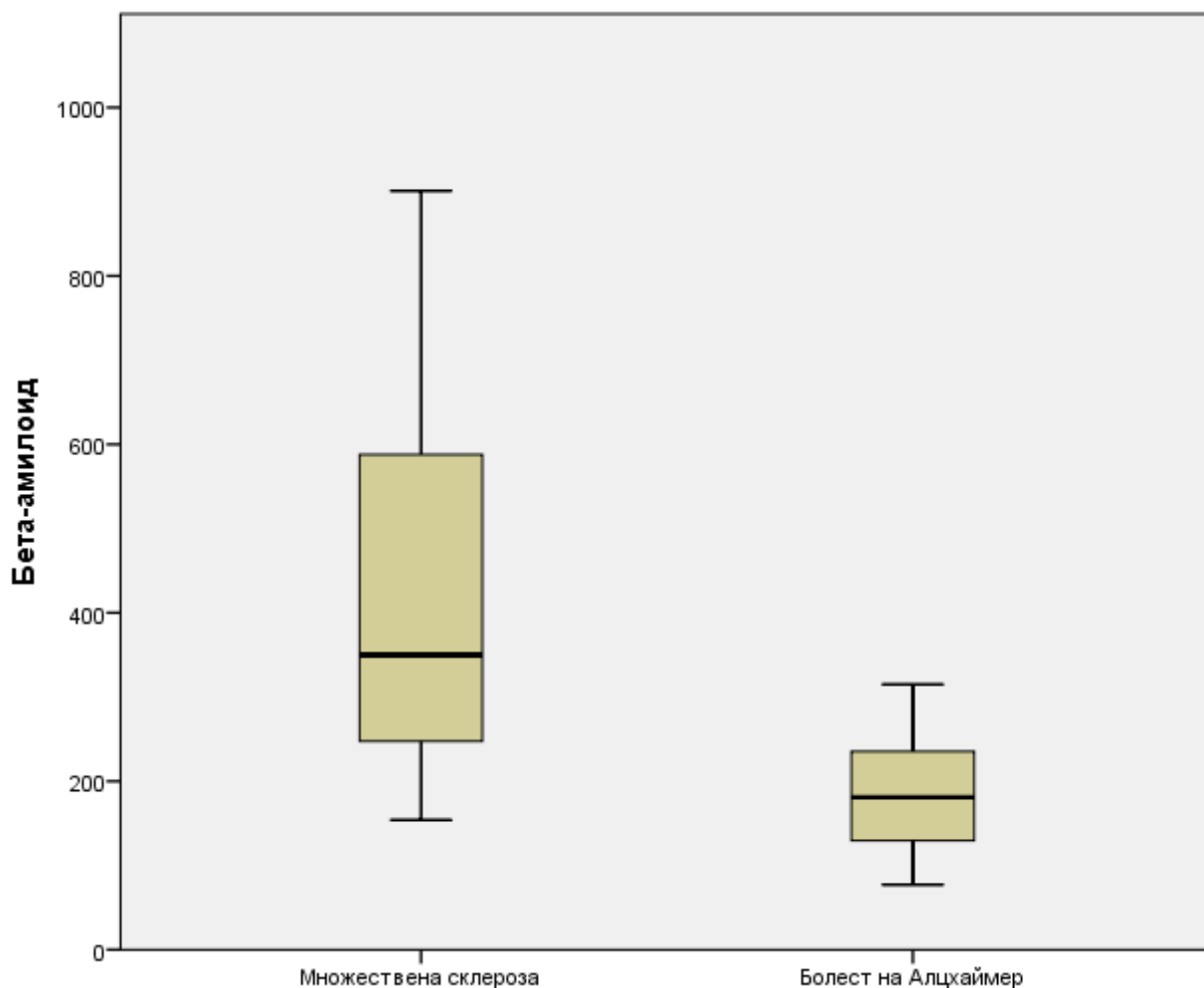
	Пациенти с множествена склероза (n = 15)	Пациенти с болест на Алцхаймер (n = 15)	p
Общ тау протеин (T-tau)	155.79 ± 75.75 pg/ml	565.4 ± 303 pg/ml	<0.001
Фосфорилиран тау протеин (P-tau)	29.6 ± 12.99 pg/ml	77.4 ± 39.1 pg/ml	<0.001
Отношение T-tau/P-tau	5.14 ± 2.03	7.33 ± 1.05	<0.001
Амилоид-бета	424.4 ± 242.05 pg/ml	187.4 ± 75.3 pg/ml	0.001

На фигури 47 и 48 са изобразени разликите в нивата на общ тау и на амилоид-бета между двете групи пациенти:

Фигура 47. Разлики в нивата на общ тау в ликвор (измерен в pg/ml) между пациенти с множествена склероза и болест на Алцхаймер



Фигура 48. Разлики в нивата на амилоид-бета в ликвор (измерен в pg/ml) между пациенти с множествена склероза и болест на Алцхаймер



3.4.6 Обсъждане

Наблюдаваните разлики в демографските характеристики между групата пациенти, при които е провеждано ликворно изследване и общата група пациенти с множествена склероза (значително по-ниска продължителност на заболяването, по-нисък EDSS, по-добро невропсихологично представяне и донякъде по-ниски стойности за депресия и умора) се дължат на факта, че лумбална пункция се проведе при пациенти от общата група за поставяне на дефинитивна диагноза, а при повечето от тях продължителността на заболяването се определи ретроспективно според анамнестичните данни за първи пристъп.

Сравнението на нивата на общ тау протеин при пациентите с множествена склероза с референтните стойности за метода представя леко завишение на нивата му сред пациентите с множествена склероза. Това не е изненадващо предвид установеното покачване на общия тау в най-ранните етапи от множествена склероза и най-вече връзката му с пристъпите на заболяването – тау корелира с наличието на поемачи контраст лезии и синтезата на IgG в ликвора (Brettschneider, 2005). Тази динамика в количеството на ликворния тау протеин –

биомаркер за аксонална увреда – е показателна за ранната невродегенерация при множествена склероза и за наличието ѝ като резултат още от първия пристъп на заболяването. В това отношение тау протеинът има както доказателствена, така и прогностична роля за хода на заболяването – съществуват изследвания, описващи нормални нива на тау при оптичен неврит, който не е свързан с последващо поставяне на диагноза множествена склероза, за разлика от оптичния неврит като първи пристъп на множествена склероза, при който са описани характерните по-високи нива на тау в ликвор (Frederiksen, 2012). Нивата на тау при клинично изолиран синдром корелират с възможността за преминаване към дефинитивна форма на заболяването (Brettschneider, 2015).

От друга страна, в текущото изследване не се наблюдава категорично характерната динамика на количеството на тау в хода на болестта. Високите нива на тау, характерни за ранните фази на множествена склероза и най-вече пристъпите, постепенно намаляват с прогресиране на заболяването, като прогресивните форми на множествена склероза представят статистически значимо по-ниски нива на тау спрямо пристъпно-ремитентната форма (Jaworsky, 2012), а някои изследвания представят по-ниски нива и от здравите контроли (Kosehasanogullary, 2015). Тази динамика е изцяло зависима от началото на заболяването и неговата еволюция и не се влияе от възрастта на пациента – високи нива на тау се установяват и при пристъпи на множествена склероза в детската популация (Rostasy, 2005). Намаляването на тау протеина отразява прогресивната невродегенерация и съпътстващите я паренхимна загуба и мозъчна атрофия, водещи до намален обем на метаболизма на тау и по-ниските нива на разтворимата му фракция в ликвора поради по-малкото количество здрава мозъчна тъкан. Изследваната в текущото изследване кохорта представя слаба отрицателна корелация между продължителността на заболяването и нивата на тау (корелационен коефициент за общ тау = -0.28), което представлява тенденцията към намаляването му в съответната фаза на множествената склероза. Пациентите, при които беше проведено ликворно изследване съставляват предимно група от пациенти с първи пристъп, но и пациенти, постъпили в клиниката за уточняване на състоянието след преживян в близкото минало първи пристъп, т.е. пациенти с продължителност на заболяването между 0 и 2 години. Тази особеност би могла да обясни констелацията от повишени нива на тау при остра и подостра увреда и слабо набелязана тенденция към намаляването му в хода на болестта, който в текущата кохорта не надвишава 2 години – период, в който невродегенеративната компонента може да се установи, но не е водеща и не се очаква значителна загуба на мозъчен паренхим и напреднали атрофични процеси. Сравнително по-леката тежест на невродегенеративната компонента при тази продължителност на заболяването в текущата група е видна и при сравнение на стойностите на тау с тези в

цереброспиналната течност на пациенти с болест на Алцхаймер като най-класически пример за типично невродегенеративно заболяване, които се представиха с между 3 и 4 пъти по-високи средни стойности на общ тау протеин в ликвор.

Стойностите на фосфорилирания тау протеин в ликвора на пациентите с множествена склероза, от друга страна, представят стойности, почти идентични с референтните за метода, т.е. липсва разлика със здравите контроли. Предишни изследвания в областта описват липса на динамика в стойностите на фосфорилиран тау при множество неврологични, включително невродегенеративни, заболявания, с изключение на болест на Алцхаймер, както и здрави контроли в различна възраст, пол и когнитивен статус (Scheurich, 2010). В този контекст, повишените нива на фосфорилиран тау могат да се приемат за белег на високо специфичния модел на фосфорилиране на тау при формирането на неврофибрилерните възли при болест на Алцхаймер и съответно нямащи съществена роля като биомаркер при множествена склероза. Това се потвърждава и при сравнение на средните стойности на фосфорилиран тау в цереброспиналната течност между групата пациенти с множествена склероза и тези с болест на Алцхаймер.

Връзката на амилоид прекурсорния протеин и неговите продукти от една страна и демиелинизационните процеси от друга, е актуална тема, както поради съвременните виждания за невродегенеративния характер на множествената склероза, така и поради някои скорошни открития. Амилоид прекурсорният протеин се открива в по-големи количества около възпалителните плаки при множествена склероза (Chandra, 2015), а количеството му е в явна обратна пропорционалност с количеството на миелин-базичния протеин, чийто разпад е в основата на демиелинизационния процес. От друга страна, радиолиганди, свързващи се с амилоид, проявяват доказано висок афинитет към здравето бяло вещество при провеждане на PET, докато увредите в бялото вещество, включително „невидимите“, намаляват интензитета на това свързване, а демиелинизационните плаки при множествена склероза почти не поемат радиолиганди, свързващи се с амилоид (Matías-Guiu, 2016). Все още са неизяснени въпросите относно ролята на амилоид прекурсорния протеин и неговите продукти в демиелинизационните и ремиелинизационните процеси, както и неясната му роля като биомаркер за увреда или дори защитен механизъм, както при класическите невродегенеративни заболявания, така и при множествената склероза. Всичко това затруднява интерпретацията на резултатите, но текущото изследване недвусмислено потвърждава намалението на разтворимия амилоид-бета в ликвора на пациенти с множествена склероза. Сравнението на резултатите с тези, получени от цереброспиналната течност на пациенти с болест на Алцхаймер, представя значителна разлика в нивата, което може да се обясни с липсата на специфичната за болестта на Алцхаймер формация на

амилоидни плаки, на която предимно се дължи намаляването нивото на амиоид-бета в ликвора на тези пациенти. Доказана е липсата на типичната за болест на Алцхаймер патология дори при пациенти с дългогодишна множествена склероза – пациенти с множествена склероза над 65-годишна възраст се представят с патология, специфична за болест на Алцхаймер в процент, сравним с този в общата популация (Dal Bianco, 2008). Двойствената природа на амилоидните молекули и привидно диаметрално различната им роля в различаващите се по патогенезата си заболявания е довела до парадоксалната теория за протективния ефект на амилоидните молекули по отношение на невровъзпалителната компонента при множествена склероза и паралелното съществуване на подобна реакция при болестта на Алцхаймер, където обаче тя се интерпретира като преминала от компенсаторен механизъм срещу хронично невровъзпаление в патогенетична за заболяването компонента с образуването на амилоидни плаки поради дълготрайната му и прекомерна активност.

В тази връзка още по-интригуващ е резултатът за зависимост на количеството амиоид-бета от възрастта на пациента и продължителността на заболяването при множествена склероза. Тези резултати, в допълнение с резултатите за връзка между невропсихологичното представяне и количеството амиоид-бета в ликвор, още повече доближават множествената склероза до прогресивния невродегенеративен профил на класическите деменции. Селективното засягане на епизодичната памет при липса на корелация с останалите невропсихологични тестове предполага хипокампадна увреда, чиято тежест корелира с намаление нивото на амиоид-бета в цереброспиналната течност. Този резултат е съпоставим със скорошно изследване, представящо индуцирана от възпалителни цитокини синаптична дисфункция в хипокампадните структури (Stampanoni Bassi, 2017). Тук нивата на амиоид-бета корелират негативно с проинфламаторния цитокин интерлевкин-8 и позитивно с антивъзпалителния цитокин интерлевкин-10. Остава отворен въпросът дали този дисбаланс между про- и антиинфламаторна среда води до дисбаланс и в хомеостазата на амиоид-бета, който спомага за появата на невродегенеративния компонент или амиоид-бета е част от антиинфламаторните механизми на нервната тъкан. В светлината на последната теория прогресивното намаляване на количеството амиоид-бета в хода на заболяването би могло да се разглежда като поява на прогресивна декомпенсация на защитния механизъм. Отново е нужно да се отбележи, че включената в текущото изследване кохорта с изследване на ликвор представлява група с максимална продължителност на заболяването 2 години, която не би могла да отрази цялата динамика на хомеостазата на амиоид-бета в хода на заболяването.

Друга характерна за болестта на Алцхаймер зависимост – тази между генотипа за аполипопротеин Е и хомеостазата на амилоидните молекули – има известно отражение и в

текущото изследване. От 15-те пациенти с ликворно изследване, само 7 са с изследване на генотип за аполипопротеин Е, а от тях само един е носител на алел Е4, традиционно приет за лош прогностичен фактор по отношение протичане на болестта на Алцхаймер. Този пациент се представя и с най-ниските нива на амилоид-бета (154pg/ml), което предполага сходни механизми на зависимост и при множествена склероза, но ограниченият брой на пациентите с едновременно изследване на ликвор и генотип за аполипопротеин Е не позволява по-подробна дискусия на резултатите.

Като недостатък на текущото изследване следва да се подчертае, че броят на болните с провеждане на ликворно изследване е малък, поради което би трябвало да приемем посочените връзки по-скоро като показателни за наличие на тенденции, а не на окончателни корелации.

4. ИЗВОДИ

1. Когнитивните нарушения при множествена склероза са налице още през първата година от заболяването и макар през този период обикновено да са субклинични, те са закономерно установими при употреба на умело подбрана батерия от невропсихологични тестове;
2. Профилът на когнитивни нарушения при множествена склероза притежава уникални характеристики, не е статичен и се променя с развитие на заболяването – през първите години, когато водещ е невровъзпалителният компонент, водещи са предимно дисекзекутивните прояви, нарушенията на скоростта на обработка на информацията, вниманието, вербалната флуентност и извличането на информация, които обикновено се свързват с феномена на дисконекция и прекъсване предимно на уязвимите връзки на челния дял, докато в по-напредналите стадии, когато невродегенеративният компонент е водещ, този специфичен профил „се размива“ и се наблюдава универсална увреда на почти всички когнитивни области с относително съхранение единствено на основните езикови способности и процедурната памет;
3. Промените в профила на когнитивни нарушения започват още в първата година от заболяването, което е белег на ранната невродегенеративна компонента при множествена склероза;
4. Докато някои тестове са по-подходящи за когнитивен скрининг, а други за проследяване на състоянието, тестовете за езекутивни функции притежават и двете способности и са най-подходящи за употреба в клиничната практика (SDMT, DSMT, вербална флуентност, TMT, Stroop);
5. Скалата за глобално когнитивно функциониране MMSE е недостатъчно чувствителна за невропсихологична оценка на пациентите с множествена склероза, докато скалата MoCA има способността да отчита когнитивния спад с напредване на заболяването;
6. Образните показатели за мозъчна атрофия са много по-чувствителни при корелация с когнитивните нарушения, отколкото лезионния товар, измерен в секвенциите T1 и T2;
7. Отделните невропсихологични домейни корелират с различни модели на мозъчна увреда – общата корова атрофия има сравнително неспецифичен профил на корелация с повечето тестове, включително езекутивни, а атрофията на медиалния темпорален дял се асоциира с постиженията от тестове за вербална (FCSRT) и невербална (BVMТ-R) памет, както и с вербална флуентност;
8. Мозъчната атрофия корелира не само с когнитивния спад, но и с физическата инвалидизация;

9. Броят на коровите лезии корелира с тежестта на коровата атрофия, което предполага, че атрофията на сивото вещество е свързана с демиелинизиращите лезии в него, а не толкова с отдалечената аксонална трансекция;
10. Броят на коровите лезии корелира и с броя на перивентрикуларните лезии – този типичен модел на увреда („вътрешна и външна мозъчна обвивка“) вероятно е свързан с общ възпалителен фактор в цереброспиналната течност;
11. Макар и често срещана при множествена склероза, депресията е строго индивидуална при всеки пациент и не показва изразена зависимост от продължителността на заболяването, но категорично корелира с наличието на когнитивни нарушения;
12. Умората показва по-силна корелация с продължителността на заболяването, което може да се дължи на потенциалната ѝ връзка с невродегенеративните процеси, и тук съществува изразена корелация с наличието на когнитивни нарушения, но субективният характер на умората и неясната ѝ патогенеза правят резултатите трудни за интерпретация;
13. ApoE генотипът на пациентите не може да се приеме нито за фактор за по-слаба или по-изразена възприемчивост към множествена склероза, нито за показател за по-лекото ѝ или по-тежко протичане;
14. В цереброспиналната течност на пациенти с множествена склероза се откриват биомаркери за аксонална деструкция и невродегенерация, чиито нива прогресивно се променят в хода на заболяването и корелират с когнитивното функциониране на пациентите.

5. ПРИНОСИ

НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧНИ:

С оригинален характер:

Детайлно е описан профилът на когнитивни нарушения при пациенти с множествена склероза и динамиката му в зависимост от продължителността на заболяването и водещия патогенетичен механизъм на увреда през съответния период.

С потвърдителен характер:

Изследвана е ролята на коровите лезии в генезата на коровата атрофия и когнитивните нарушения при множествена склероза и корелацията им с перивентрикуларните лезии.

НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ:

С оригинален характер:

1. Съставена е невропсихологична батерия за изследване на когнитивния дефицит при пациенти с множествена склероза предвид характерния модел на когнитивна увреда;
2. Описана е корелация между нивата на биомаркери (амилоид-бета) в цереброспиналната течност при пациенти с множествена склероза и когнитивното им функциониране.

С потвърдителен характер:

Отхвърля се ролята на ApoE генотипа като фактор по отношение на възприемчивостта към множествена склероза или по отношение на тежестта на протичане на заболяването.

**СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ И НАУЧНИТЕ СЪОБЩЕНИЯ
ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

ПУБЛИКАЦИИ:

1. Множествена склероза - разпознаване на първи пристъп. Т. Кунчев, М. Петрова, Хр. Крушков, Л. Трайков. МедикАрт, 2015, 5
2. Когнитивни нарушения при множествена склероза и връзката им с някои биологични маркери. Т. Кунчев, М. Райчева, М. Петрова, Л. Трайков. Медицински преглед, 2016, 1
3. Когнитивни нарушения при пациенти с множествена склероза. Т. Кунчев, М. Райчева, Ш. Мехрабиан, Х. Крушков, Л. Трайков. Неврология и психиатрия, 2016, 6
4. Мозъчна атрофия при множествена склероза и връзката ѝ с когнитивните нарушения. Т. Кунчев, Ш. Мехрабиан, М. Райчева, Л. Трайков. Неврология и невропсихология, 2017, 1
5. Профил на паметовите нарушения при пациенти с множествена склероза. Т. Кунчев, И. Попиванов, Д. Бакалов, Л. Трайков. Неврология и невропсихология, 2017, 2
6. ЯМР маркери за ранна диагноза и прогресия на моторни и немоторни прояви при атипичен паркинсонизъм. Д. Бакалов, М. Петрова, Т. Кунчев, Л. Трайков. Неврология и невропсихология, 2017, 2
7. The role of cortical lesions and cortical atrophy in cognitive dysfunction in patients with multiple sclerosis. T. Kunchev, N. Fileva, M. Petrova, D. Zlatareva, L. Traykov. Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences, 2018 (под печат)

НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ:

1. Executive functions and complex attention deficits in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. T. Kunchev, M. Petrova, M. Raycheva, L. Traykov. 2nd Congress of the European Academy of Neurology, Copenhagen, 28-31 May 2016 (постер)
2. Cerebral atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis and its relation to cognitive performance. T. Kunchev, S. Mehrabian, M. Raycheva, L. Traykov. 32nd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis, London, 14-17 September 2016 (постер)
3. Когнитивни нарушения при множествена склероза. М. Петрова, Т. Кунчев. Трета научно-практическа конференция на БЛС, 20-23 април, 2017, Несебър (устна презентация)
4. The role of cortical pathology and white matter lesions in cognition in multiple sclerosis. T. Kunchev, N. Fileva, M. Petrova, D. Zlatareva, L. Traykov. 21st Session of the Balkan Medical Days, Sofia, 06-08 October 2017 (устна презентация)
5. Cortical lesions correlate with cortical atrophy and drive cognitive impairment in multiple sclerosis. T. Kunchev, N. Fileva, M. Petrova, D. Zlatareva, L. Traykov. MSParis 2017 - 7th JointECTRIMS-ACRIMS Meeting, Paris, 25-28 October, 2017 (електронен постер)

SUMMARY

Multiple sclerosis is a chronic progressive autoimmune disease of the central nervous system characterized by the presence of inflammatory plaques of demyelination in the brain and spinal cord. Among the many unanswered questions regarding multiple sclerosis is the pathogenesis of cognitive dysfunction observed in this disease. Its high frequency, its presence in all the disease courses and its significant impact in a certain percent of the cases turn this aspect of multiple sclerosis into one of its most debilitating features which greatly worsens patients' quality of life. Depression and fatigue, on the other hand, show great inter-patient variability and conflicting data on the connection between them and with the degree of physical disability and disease duration. Current neuroimaging methods have changed the classic notion that cognition in multiple sclerosis is a function only of the number and size of demyelinating lesions - brain atrophy and cortical pathology have proved their significance in the genesis of cognitive dysfunction. In the meantime, research continues on trying to find a reliable biomarker of the disease which would individually indicate disease progression and would guide therapy approach. In addition, there is also conflicting data on the relation between apolipoproteinE (ApoE) genetic status and susceptibility to multiple sclerosis and its activity.

The aim of this study was to characterize the profile of cognitive dysfunction in a Bulgarian cohort of multiple sclerosis patients as a function of disease duration and to correlate this data with key neuroimaging indicators, as well as with biomarkers in the serum and cerebrospinal fluid (CSF) – amyloid beta and tau in CSF and ApoE genetic status.

Materials and methods: 100 multiple sclerosis patients underwent detailed neuropsychological assessment with a battery comprising tests for general cognitive functioning, episodic verbal and visuo-spatial memory, verbal fluency, attention, executive function, depression and fatigue and their results were compared to those of 57 healthy controls. 37 patients underwent MRI examination; the results of 22 patients were assessed using the Pasquier and Scheltens visual scales for general cortical atrophy and medial temporal atrophy respectively; 3D double inversion recovery (DIR) sequence was added to the standard protocol for 15 patients and their results were assessed by two radiologists including cortical lesions, cortical atrophy and white matter lesion load. 43 patients underwent genetic testing for ApoE status and the results were compared to those of 108 healthy controls. 15 patients underwent lumbar puncture and were tested for amyloid-beta and tau quantities in CSF, these results were compared to those of 15 patients with Alzheimer's disease.

Results and discussion: Cognitive dysfunction in multiple sclerosis was detected even during the first year of disease course. The cognitive profile was not static and changed with disease progression – during the first years of disease, when the neuroinflammatory component was the

leading cause of damage, patients demonstrated predominantly dysexecutive features, information processing disturbance and deficits in attention, verbal fluency and memory retrieval, while in the more advanced stages of disease, when the neurodegenerative component was the leading cause of damage, this specific cognitive profile was lost and universal deficits in almost all cognitive domains were observed. Tests for executive functioning were observed to be best for clinical practice due to their abilities for early detection of cognitive dysfunction and its adequate tracing in disease progression – Symbol Digit Modalities Test (SDMT), Digit Symbol Modalities Test (DSMT), Trail Making Test (TMT), verbal fluency tests, Stroop Color Word Test (SCWT). The Montreal Cognitive Assessment (MoCA) scale for global cognitive functioning turned out to be much more sensitive than the Mini-Mental State Examination (MMSE) scale in its ability to trace cognitive dysfunction in disease progression.

Depression scores were strictly individual in each patient and did not correlate with disease duration, but strongly correlated with the presence of cognitive dysfunction.

Fatigue scores showed a greater, although weak, correlation with disease duration and also strongly correlated with the presence of cognitive dysfunction.

Brain atrophy markers were much more sensitive to the degree of cognitive dysfunction than white matter lesion load markers. Specific cognitive domains correlated with specific patterns of brain atrophy – medial temporal lobe atrophy correlated with results in verbal and non-verbal episodic memory tests and verbal fluency, while general cortical atrophy unspecifically correlated with the results of most tests. Cortical lesion load correlated with the degree of cortical atrophy as a possible factor in its genesis; cortical atrophy also correlated with the number of periventricular lesions as a possible marker for a still unknown inflammatory factor in the CSF driving greater damage in these compartments.

The patients' levels of tau in the CSF were above the reference range and the levels of amyloid-beta were lower than the reference range of the used method. The levels of amyloid-beta decreased with disease progression and the patients' age and correlated with the results for episodic verbal memory, indicating their ability to trace neurodegeneration and possibly hippocampal damage in multiple sclerosis. Still, and unsurprisingly, tau levels were significantly lower and amyloid-beta levels significantly higher than those of the patients with Alzheimer's disease.

ApoE genetic status failed to show significant correlations with multiple sclerosis susceptibility and disease activity.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторът на този труд благодари на научните си ръководители чл. кор. проф. д-р Лъчезар Трайков, дмн и доц. Маргарита Райчева, дп за оказаната подкрепа в изготвянето на плана за текущото изследване, за овладяването на методиката на невропсихологичното изследване, за адекватното проследяване на неговото развитие и множеството допълнителни идеи; на доц. д-р Шима Мехрабиан, дмн за помощта при оценка на образните резултати чрез визуалните скали и множеството случаи на оказана методична помощ; на всички лекари от трите отделения на Клиника по нервни болести към УМБАЛ „Александровска“ за оказаната помощ в набирането на кохортата от пациенти; на персонала на Клинична ликворология и невробиохимия към Клиниката по нервни болести към УМБАЛ „Александровска“ за оказаната помощ при обработка на кръвните и ликворни проби; на доц. д-р Дора Златарева, дм и д-р Невена Филева от Клиника по образна диагностика към УМБАЛ „Александровска“ за помощта при оценка на образните резултати; на Калина Михова от Център по молекулярна медицина към Медицински университет-София за помощта при провеждане на генетичните изследвания и на последно място, но определено не и по важност, на близките ми за търпението във връзка с безброя часове, прекарани в изработването на дисертационния труд.

БЕЛЕЖКИ