

Д-Р ВАСИЛЕНА ГЕОРГИЕВА ПЕТРОВА

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

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на образователна и научна степен

„ДОКТОР“ по научната специалност

„Нервни болести“

СОФИЯ

2024 г.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

БА- Болест на Алцхаймер
ВПМС- Вторично-прогресивна форма на МС
ГИТ- Гастроинтестинален тракт
ДНК- Дезоксирибонуклеинова киселина
ЕЕГ- Електроенцефалография
ИМТ- Имуномодулираща терапия
ИС- Иmunна система
КМБ- Кръвно-мозъчна бариера
КТ- Компютърна томография
кМРТ- Конвенционална магнитно-резонансна томография
МРТ- Магнитно-резонансна томография
МС- Множествена склероза
НС- Надбъбречен стрес
ОС- Оксидативен стрес
ППМС- Първично- прогресираща форма на множествена склероза
ПрМРС- Протонна магнитно-резонансна спектроскопия
ПРМС- Пристъпно- ремитентна форма на множествена склероза
ПрРМС- Прогресиращо-ремитентна форма на множествена склероза
РНК- Рибонуклеинова киселина
ЦНС- Централна нервна система
ACh- Ацетилхолин
AChE- Ацетилхолин естераза
ALAT- Аланинаминотрансфераза
ApoA1- Аполипопротеин А1
ASAT- Аспартатаминотрансфераза
ASPA- Аспартоацилаза
BFV- Brain fraction volume
BDI- Beck's Depression Inventory
ChAT- Холин- ацетил трансфераза
Cho- Choline
Cr- Creatine
CRP- Ц- реактивен протеин
DAWM- Dirty Appearing White Matter/ Diffusely Abnormal White Matter
DH- Дорзален хипокамп
DTI- Diffusion Tensor Imaging
ЕС- Енторинална кора
EDSS- Expanded Disability Status Scale
FSS- Fatigue Severity Scale

GABA- Гама аминамаслена киселина
Gd- Gadolinium
GD- Gyrus dentatus
GMV- Gray Matter Volume
Goldberg DI- Goldberg Depression Inventory
HDL- Високоплътностен липопротеин
HPA- Хипоталамо-хипофизо-надбъбречна ос
5- HT- 5-Хидрокситриптамин/ серотонин
ICAM-1- Intracellular adhesion molecule 1
LC- Locus coeruleus
LDL- Нископлътностен липопротеин
MAG- Миелин-асоцииран гликопротеин
MBP- миелин базичен протеин
MOG- Миелин олигодендроцитен гликопротеин
MSFC- Multiple Sclerosis Functional Composite
MTR- Magnetization Transfer Ratio
NAA- N-acetylaspartate
NAGM- Normal Appearing Gray Matter
NAWM- Normal Appearing White Matter
NMR- Нуклеарен магнитен резонанс
NWM- Normal White Matter
NGF- Нервен растежен фактор
PASAT- Paced Auditory Serial Addition Test
P- 31- Фосфор- 31
REM- Rapid eye movement
ROS- reactive oxygen species / активни кислородни форми
PLP- Протеолипиден протеин
SDMT- Symbol Digit Modalities Test
TBG- Тиреоид свързващ глобулин
TNF- α - Тумор некротизиращ фактор алфа
TRH- Тиреотропин рилизинг хормон
TSH- Тиреоид стимулиращ хормон
VCAM-1- Vascular- cell adhesion molecule 1
VH- Вентрален хипокамп
VLDL- Много нископлътностен липопротеин
WBNAА- Whole Brain N-acetylaspartate
WBV- Whole Brain Volume

СЪДЪРЖАНИЕ

1. ВЪВЕДЕНИЕ.....	9
ГЛАВА ПЪРВА.....	11
1. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР.....	11
1.1. РОЛЯ НА ИМУННАТА СИСТЕМА В ПАТОГЕНЕЗАТА НА МНОЖЕСТВЕНАТА СКЛЕРОЗА.....	11
1.2. ФОРМИ НА ЗАБОЛЯВАНЕТО И ВРЪЗКА С ПРОЦЕСА НА НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ.....	14
1.3. МИЕЛИН И МИЕЛИНОГЕНЕЗА.....	15
1.4. РОЛЯ НА ЩИТОВИДНА ЖЛЕЗА ЗА АКТИВИРАНЕ НА ИМУННА СИСТЕМА И ПРОЦЕСА НА МИЕЛИНОГЕНЕЗА.....	19
1.5. НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ- СЪЩНОСТ И ФАКТОРИ ЗА РАЗВИТИЕ.....	22
1.5.1. ВИРТУАЛНА ХИПОКСИЯ.....	22
1.5.2. ROS И ОКСИДАТИВЕН СТРЕС.....	23
1.5.3. “THE ONE- CARBON METABOLISM”- „МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ НА C1- ФРАГМЕНТИТЕ“.....	24
1.5.4. ХОМОЦИСТЕИН В ПРОЦЕСА НА НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ.....	26
1.5.5. ЛИПИДЕН МЕТАБОЛИЗЪМ, МИКРОГЛИЯ И ОКСИДАТИВЕН СТРЕС.....	27
1.5.6. ПЕРОКСИЗОМИ И ОКСИДАТИВЕН СТРЕС.....	28
1.5.7. АНТИТЕЛА И АВТОИМУНИТЕТ.....	29
1.6. МОЗЪЧНА АТРОФИЯ.....	30
1.6.1. МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА И МОЗЪЧНА АТРОФИЯ.....	30
1.6.2. ФАКТОРИ, ПОВЛИЯВАЩИ ОБЕМА НА МОЗЪЧНОТО ВЕЩЕСТВО.....	31
1.6.3. МЕТОДИКИ ЗА ИЗМЕРВАНЕ НА МОЗЪЧНА АТРОФИЯ.....	33
1.7. ПРИЛОЖЕНИЕ НА КОНВЕНЦИОНАЛНА МРТ ПРИ МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА.....	34
1.7.1. ОГРАНИЧЕНИЯ НА κ МРТ И НА T2 ИЗОБРАЗЯВАНЕТО.....	35
1.7.2. НЕКОНВЕНЦИОНАЛНИ МРТ МЕТОДИКИ.....	36
1.8. ПРОТОННА МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНА СПЕКТРОСКОПИЯ ПРИ МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА.....	38
1.8.1. МЕТАБОЛИТНИ ПРОМЕНИ ПРИ МС, УСТАНОВЕНИ С ПрМРС.....	41
1.8.2. NORMAL APPEARING WHITE MATTER.....	42
1.8.3. DIFFUSELY ABNORMAL WHITE MATTER.....	43
1.8.4. КЛИНИЧНО ПРИЛОЖЕНИЕ НА ПрМРС.....	43
1.9. МОЗЪЧНИ МЕТАБОЛИТИ, РЕГИСТРИРАНИ С ПрМРС- ИЗТОЧНИЦИ И ФУНКЦИИ.....	45
1.9.1. N-АСЕТУЛАСПАТАТЕ.....	45
1.9.2. КРЕАТИН.....	48
1.9.3. МИОИНОЗИТОЛ.....	49
1.9.4. ХОЛИН.....	50
1.10. НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНИ ПРОМЕНИ.....	64
1.10.1. КОГНИЦИЯ И НЕВРОКОГНИТИВНИ ПРОМЕНИ.....	65
1.10.2. НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ И УМОРА ПРИ МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА.....	67
1.10.3. ПРОМЕНИ В АФЕКТА.....	70
1.11. ЛИМБИЧНА СИСТЕМА.....	72

1.11.1. ХИПОКАМП.....	72
1.11.2. ХИПОКАМП- СИНАПТИЧНИ ВРЪЗКИ.....	75
1.11.3. ХИПОКАМП- ДЯЛОВЕ.....	76
1.11.4. ХИПОКАМП- ФУНКЦИИ.....	77
1.12. ХОРМОНИ И ЦНС.....	81
1.12.1. НОРАДРЕНАЛИН И ФИЗИОЛОГИЧНА ОСНОВА НА СТРАТЕГИЯТА „FIGHT OR FLIGHT”.....	82
1.12.2. РОЛЯ НА КОРТИЗОЛ ЗА ПРОМЕНИ В ОБЕМ НА ХИПОКАМП.....	82
1.12.3. КОРТИЗОЛ И ИМУННА СИСТЕМА.....	83
1.12.4. РОЛЯ НА ПОЛОВИТЕ ХОРМОНИ ЗА ПРОМЕНИ В ОБЕМ НА ХИПОКАМП.....	86
1.13. ИМУНОМОДУЛИРАЩИ АГЕНТИ.....	87
1.13.1. ИНТЕРФЕРОН БЕТА- ИЗТОЧНИЦИ.....	88
1.13.2. МЕХАНИЗЪМ НА ДЕЙСТВИЕ.....	88
1.13.3. СТРАНИЧНИ ЕФЕКТИ ОТ ПРИЛОЖЕНИЕ НА ИНТЕРФЕРОН БЕТА.....	89
1.14. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	90
1.15. ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ ОБЗОР.....	93
ГЛАВА ВТОРА.....	94
1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД.....	94
1.1. ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД.....	94
1.2. ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД.....	94
ГЛАВА ТРЕТА.....	95
1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ.....	95
1.1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ.....	95
1.2. МЕТОДИ.....	97
1.2.1. КЛИНИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ.....	97
1.2.2. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ.....	97
1.2.2.1. PACED AUDITORY SERIAL ADDITION TEST.....	97
1.2.2.2. SYMBOL DIGIT MODALITIES TEST.....	98
1.2.2.3. СКАЛА ЗА ОЦЕНКА ТЕЖЕСТТА НА УМОРА „FATIGUE SEVERITY SCALE“.....	99
1.2.3. ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕМОЦИОНАЛНАТА СФЕРА- СКАЛИ ЗА ДЕПРЕСИЯ.....	100
1.2.3.1. ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР БЕК ВДИ.....	100
1.2.3.2. ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР ГОЛДБЪРГ “GOLDBERG DEPRESSION INVENTORY QUESTIONNAIRE”.....	101
1.2.4. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КРЪВНА ПРОБА.....	102
1.2.5. МРТ ОБРАЗНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ.....	102
1.2.5.1. 3-D T1 МРТ ХИПОКАМП ВОЛУМЕТРИЯ.....	102
1.2.5.2. ПРОТОННА МАГНИТНОРЕЗОНАНСНА СПЕКТРОСКОПИЯ.....	103
1.2.6. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ.....	104
ХИПОТЕЗА.....	106
ГЛАВА ЧЕТВЪРТА.....	107
1. СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ.....	107
1.1. ДЕМОГРАФСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ИЗВАДКАТА.....	107
1.2. ХИПОКАМП ВОЛУМЕТРИЯ.....	110
1.3. ОБЕМ НА ХИПОКАМП И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ.....	113

1.4. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	118
1.4.1. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ ТЕСТА PASAT-3 SEC.....	118
1.4.2. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ ТЕСТА SDMT.....	119
1.4.3. ОЦЕНКА НА УМОРАТА ЧРЕЗ САМООЦЕНЪЧНА СКАЛА FSS.....	120
1.4.4. ОЦЕНКА НА ДЕПРЕСИЯ ЧРЕЗ СКАЛА ЗА САМООЦЕНКА GDI И BDI.....	120
1.5. ВРЪЗКА МЕЖДУ ПОЛ И ДЕПРЕСИЯ.....	125
1.6. АНАЛИЗ НА ВЗАИМООТНОШЕНИЯТА МЕЖДУ КОГНИТИВНОТО ФУНКЦИОНИРАНЕ, УМОРАТА И ДЕПРЕСИЯТА ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	129
1.6.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	130
1.6.2. БОЛНИ С МС.....	131
1.7. ИЗСЛЕДВАНЕ НА НЯКОИ МОЗЪЧНИ МЕТАБОЛИТИ В ЗОНИ НА ИНТЕРЕС-NAWM ЧРЕЗ ПрМРС.....	135
1.8. КОРЕЛАЦИИ НА СРЕДНИ СТОЙНОСТИ НА ИЗМЕРЕНИ МЕТАБОЛИТИ И СРЕДЕН ОБЕМ НА ХИПОКАМП.....	140
1.8.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	141
1.8.2. БОЛНИ С МС.....	143
1.9. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА ПРОМЕНЛИВА „СЪОТНОШЕНИЕ МЕЖДУ МЕТАБОЛИТИ“, ИЗМЕРЕНИ В NAWM ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	141
1.10. ПОЛ И МЕТАБОЛИТИ ПРИ ЗДРАВИ КОНТРОЛИ И МС БОЛНИ.....	147
1.10.1. МЪЖЕ.....	147
1.10.2. ЖЕНИ.....	148
1.11. КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ ОБЕМА НА ХИПОКАМПА И ПАРАМЕТРИТЕ ЗА ОЦЕНКА НА НЕВРОПСИХОЛОГИЧНОТО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	150
1.11.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	151
1.11.2. БОЛНИ С МС.....	151
1.12. ПОЛ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	152
1.12.1. МЪЖЕ.....	153
1.12.1.1. МЪЖЕ БОЛНИ С МС.....	154
1.12.1.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ МЪЖЕ.....	157
1.12.2. ЖЕНИ.....	157
1.12.2.1. ЖЕНИ БОЛНИ С МС.....	158
1.12.2.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ ЖЕНИ.....	161
1.13. ДАВНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	163
1.14. УМОРА, ДЕПРЕСИЯ И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ.....	165
1.15. EDSS и НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	167
1.16. ВЪЗРАСТ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ В ДВЕТЕ ИЗСЛЕДВАНИ ГРУПИ.....	171
1.16.1. БОЛНИ С МС.....	172
1.16.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ.....	175

1.17. НИВО НА ОБРАЗОВАНИЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ.....	177
1.18. КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ ОБЕМ НА ХИПОКАМП И EDSS.....	182
ОБСЪЖДАНЕ.....	183
ИЗВОДИ.....	192
ПРИНОСИ.....	194
ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА.....	195
БИБЛИОГРАФИЯ.....	197
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	216

ВЪВЕДЕНИЕ

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

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

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

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

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

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

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

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

ГЛАВА ПЪРВА

1. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1.1. РОЛЯ НА ИМУННАТА СИСТЕМА В ПАТОГЕНЕЗАТА НА МНОЖЕСТВЕНАТА СКЛЕРОЗА

В продължение на десетилетия множествената склероза се разглежда като първично аутоимунно заболяване. С развитие на невроизобразяващите методики се повдигат въпроси дали възпалението и аутоимунните механизми инициират и поддържат болестния процес. Възможно ли е МС да е дегенеративно заболяване на ЦНС, съчетание между първичен дегенеративен процес с имунна предразположеност.

Концепцията, че имунните механизми и фактори играят централна роля в патогенезата на болестта е неоспорима. Основен маркер на болестта са наблюдаваните зони на възпалително медирана демиелинизация в бялото мозъчно вещество (WM) на главен и гръбначен мозък (225). Процесът се тригерира от автореактивни CD4+T лимфоцити, които предизвикват каскада от последователно индуцирани инфламаторни събития. Стартира се секреция на проинфламаторни цитокини, експресия на адхезионни молекули и матрикс металопротеинази. Едновременно с това под влияние на посочените фактори се променя проницаемостта на кръвно – мозъчната бариера (КМБ) (13). Последва миграция на Т- клетки в ЦНС. Имунният механизъм в основата на настъпващите увреждания се медира основно от Th1 лимфоцити като тип клетъчно – медиран имунен отговор (13). Разгръща се имунна атака, която по същество е аутоимунна, тъй като е насочена срещу аутоантиген – миелинбазичен протеин, протеолипиден протеин и олигодендроцитен г्लукопротеин.

В каскадата от имунни реакции се вълечат и други компоненти на имунната система като натуралните килърни клетки и стволовите клетки (хемопоеични, мезенхимни, ендотелни, прогениторни) (13). В рамките на онтогенезата при всеки човек се развива популация автореактивни Т-клетки, включително такива, чувствителни към миелинбазичен протеин. Тези клетки остават в неактивно състояние. Те не са способни да напуснат органите на имунната система, както и да преминават през КМБ. Активирането на тези клетки вероятно е следствие от включване на външен тригерен фактор.

Апоптозата е механизъм за регулиране на клетъчната смърт, и в това число и на аутоимунните процеси посредством унищожаване на автореактивните Т-клетки. Апоптозата на Т-лимфоцитите се контролира чрез взаимодействие на екстра- и вътреклетъчни сигнали. Установено е, че при

пациентите с МС нивото на антиапоптозни фактори на Т-лимфоцитите е абнормно високо и поради това те са резистентни на апоптоза (13).

При МС автореактивните Т-клетки се активират в периферията от антиген, подобен на миелинбазичния протеин. Т-клетките пролиферират и се диференцират в ефекторни клетки: Т-хелперни и цитотоксични Т-клетки. Все още няма яснота какво и защо отключва този процес. Иммунната система насочва своята активност срещу протеини, свързани с миелина и ги атакува като чужди на организма. Атаката срещу един антиген впоследствие се разгръща с имунна реактивност към множество първоначално неприцелни антигени.

В представения схематично процес на активация и стартиране на автоимунен отговор освен посочените автореактивни Т-лимфоцити вземат участие и Т-хелперни, Т-регулаторни, Т-килърни клетки, дендритни клетки, моноцити. С тяхна помощ се разгръща многофакторен и многостъпален процес с етапи на динамичен баланс между проинфламаторни и антиинфламаторни процеси.

Различни сигнални молекули от семейството на цитокините изпълняват помощна функция за активиране на проинфламаторни или антиинфламаторни процеси. Хемокините контролират инвазията на възпалителни клетки през КМБ. Т-клетките секретират протеолитични ензими (матриксни металопротеинази- ММР2, ММР9), които разграждат матрикса на КМБ. Повишената проницаемост на КМБ позволява на хемокините да активират клетъчната инвазия. КМБ е с повишен пермеабилитет не само по време на пристъп на заболяването вследствие активиране на автоимунния процес (28). Такава повишена проницаемост се установява хронично и дифузно в рамките на нормално изглеждащо бяло мозъчно вещество (NAWM), макар предимно при пациенти с прогресиращ ход на болестта. Този факт поставя някои въпроси по отношение на тригерните фактори, отключващи имунните механизми.

Адхезионните молекули на повърхността на Т-клетките се свързват със своите лиганди, разположени върху ендотелните клетки на КМБ. Експресията на тези адхезионни молекули и на лигандите се контролира от интерферон гама (IFN- γ). При МС са идентифицирани три двойки адхезионни молекули – Е-селектин и сиалил Lewis; адхезионна молекула на съдовите клетки (VCAM-1) и много късен антиген (VLA-4); вътреклетъчна адхезионна молекула (ICAM-1) и антиген свързан с левкоцитните функции (LFA-1) (225). Под влияние на проинфламаторните цитокини IFN- γ и тумор некротизиращ фактор алфа (TNF- α), произведени от автореактивни CD4+ Т-клетки, нарастват нивата на посочените адхезионни молекули (13). Процесът осигурява адхезия и инвазия на Т-клетките в ЦНС. Съвместно с

ефекта от секретирани металопроотеинази, които променят пермеабилитета на базалната мембрана и екстрацелуларния матрикс, както и на tight junctions, се създават условия за миграция, инвазия и инфилтриране на нервната тъкан. Тази фаза от имунния процес се визуализира посредством приложение на Gadolinium при магнитно-резонансно томографско (МРТ) изследване на ЦНС, и корелира с поява на активни плаки на демиелинизация.

Веднъж навлезли в ЦНС, Т-клетките взаимодействат с локалните фактори на имунната система – микроглията, което засилва имунореактивността (13). Проинфламаторните цитокини и миграцията на Т-клетките в ЦНС активират и други клетки като CD8+ Т-лимфоцити, В-лимфоцити, гранулоцити, мастоцити, моноцити. Тези клетки мигрират в ЦНС под влияние на посочените хемокини. Освобождаваните от тези клетки протеини като триптаза и хистамин (продукт на мастоцитите), допринасят за повишаване проницаемостта на КМБ, за привличане на други имунокомпетентни клетки и поддържане на възпалителния процес.

В имунната атака участва и хуморален имунитет, което корелира с повишени нива на имуноглобулини интратекално. Олигоклоналната активация на В-клетки води до секреция на имуноглобулини от клас IgG. Секретирани антитела участват в процеса на демиелинизация.

Описаната мозайка от клетъчни взаимодействия, секрецията на имуноактивни протеини и насочването на баланса на имунната система към автоимунен възпалителен процес приключва с „оздравителен“ етап на тъканна деструкция. Възпалителният пристъп отбелязва спадане на възпалителната активност след около един месец. Следва възстановяване на КМБ. Всеки един възпалителен тласък обаче причинява тъканна увреда, която може да не претърпи пълно обратно развитие с пълноценна ремиелинизация. Натрупването във времето и пространството на тези остатъчни промени е свързано с развитие на атрофия.

Мозъчната атрофия при множествената склероза е многофакторен и многопластов процес. В него освен последствията от възпалителни лезии и тъканна деструкция се наблюдава и придружаващ процес на кумулативна аксонна дегенерация (91) и невронна апоптоза. Те са следствие от промени в синаптичната „атмосфера“ и дисконекция. Атрофията на мозъка при МС е следствие от невротоксичност (деструкция на миелин) и невродегенерация.

Невротоксичността сама по себе си също приключва с различна по степен невродегенерация. Като директни невротоксични агенти се посочват TNF- α , глутамат, свободни радикали – кислородни и азотнооксидни частици, комплемент-зависима антитяло-медирана цитотоксичност, цитотоксични Т-клетки, цитокини. Наблюдава се директно токсично увреждане на аксоните от В-лимфоцити и Т-лимфоцити, което също причинява дегенеративни

промени в засегнатите неврони. Индиректна цитотоксичност е процесът на деструкция или непълно възстановяване на миелина. Отговорна за това е апоптозата на олигодендроцитите, които продуцират миелин. Процесът е свързан с непълноценна ремиелинизация и последващо нарушение във функционирането на невроните/аксоните и дегенерация.

1.2. ФОРМИ НА ЗАБОЛЯВАНЕТО И ВРЪЗКА С ПРОЦЕСА НА НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ

Процесът на невродегенерация се развива независимо от наличието на възпалителни пристъпи на заболяването (13). Механизмите, които го предизвикват все още се дискутират. Формите на протичане на болестта отразяват наличието на съпътстващ дегенеративен процес, независим от възпалителната активност. Приети са следните форми на клиничен ход на МС според времевия профил:

- пристъпно-ремитентна форма (ПРМС) – при над 85% от пациентите (224). Характеризира се с остро настъпващи пристъпи, които преминават спонтанно до няколко седмици (13,15). Излизането от пристъп може да бъде с пълно или непълно възстановяване на проявения неврологичен дефицит и съответно развитие на различна по степен инвалидност. Натрупването във времето на неврологичен дефицит вследствие непълното възстановяване отразява невродегенеративния аспект на тази форма.

Между пристъпите, които са отделени от различни времеви интервали, неврологичното състояние е стабилно и се означава като ремисия.

Останалите около 15% от пациентите развиват заболяване с прогресиращ ход (12,13).

Типично при всички форми с прогресиращ ход е наличието на прогресивно във времето разгръщане на неврологичен дефицит и инвалидност. Те са клиничен израз на невродегенерацията като съпътстващ процес.

- първично-прогресираща форма (ППМС) – при около 10% от пациентите. Характерно е бавното развитие и влошаване на неврологичната симптоматика. Възможни са малки ремисии или задържане (плато), но типични изявени остри пристъпи на възпалителна демиелинизация не се наблюдават. Преобладават дегенеративни промени, представени чрез загуба на неврони и олигодендроцити. Тази форма се характеризира с развитие на по-ранна и по-голяма степен на инвалидност на болните (13). Това е потвърждение за предположението, че инвалидизацията при болните с МС е следствие основно на невродегенеративните промени.

- прогресиращо-ремитентна форма (ПРМС) – при 5% от пациентите. Протича с прогресивен ход и единични оформени пристъпи. Честа клинична проява е неврит на зрителен нерв (13).
- вторично-прогресираща форма (ВПМС) – наблюдава се непрекъсната прогресия на симптомите след период на протичане с ясно оформени пристъпи и ремисии. Приблизително 50-70% от пациентите с ПРМС преминават в тази форма след около 10 годишен ход на боледуване (15). Процентът достига до 90 приблизително 25 години след началото на болестта (12,13). Прогресията на заболяването във времето се характеризира с преобладаващ процес на невродегенерация.

Освен с различна клинична форма на развитие във времето, заболяването може да протича и с различна скорост на разгръщане на неврологичен дефицит. Според скоростта и степента на неврологична увреда различаваме бенигнена и малигнена форма.

Малигнената форма протича бързо, с чести пристъпи и с непрекъсната прогресия на инвалидността (13). Възстановяване след пристъп почти не се наблюдава (15). Заболяването може да приключи със смърт за около 6 месеца. Тази форма се характеризира с резистентен на терапия автоимунен процес. Активността на имунната система не се повлиява от медикаменти, модифициращи хода на болестта, както и от кортикостероиди. Причина за бързата прогресия и драматично развитие на тежка инвалидизация се явява водещ процес на подлежаща невродегенерация.

Бенигнената форма се установява при около 40-50% от пациентите. Тя се диагностицира ретроспективно (15). Тази форма може да премине в друга след дълъг период от време. Десет години след уточняване на диагнозата около 30% от пациентите са с доброкачествен ход. След 20 години техният дял е едва 20%. Следователно формата на болестта е относителна категория. Определя се от клиничната изява и може да претърпи промяна във времето. Постоянен остава процесът на невродегенерация (128).

1.3. МИЕЛИН И МИЕЛИНОГЕНЕЗА

Процесът на мозъчна атрофия при МС пациентите се разглежда като негативен резултат от демиелинизация и последваща аксонна дегенерация и невронна загуба. Акцентът на клиничните проучвания и терапевтичният подход съответно са насочени в посока потискане на възпалителната активност и стимулиране на ремиелинизация (128).

Според основния закон на миелиногенезата нервни влакна с еднаква значимост се развиват едновременно. Тези с различна важност се развиват последователно – според своята структурно-функционална значимост. Редът

на развитие на мозъчната кора при хората, най-вече в периода два месеца преди и след раждането е, както следва:

1. Моторна кора (Бродманово поле 4)
2. Олфакторна кора
3. Част от соматосензорна кора (Бродманово поле 3,1,2)
4. Преден цингуларен кортекс (Бродманово поле F43), долна темпорална кора (Бродманово поле F44) и дорзолатерална префронтална кора (Бродманово поле F45) – последни в реда на миелинизация (96).

Дисконекцията като механизъм на развитие или още транс-невронна дегенерация по същността си представлява загиване на неврони поради липса на входяща или на изходяща импулсация към и от прилежащите неврони. Това е активен ексайтотоксичен процес. Свърхстимулиране на неврон от невротрансмитери (най-често глутамат), причинява дисфункция на неврона, съответно увреда или смърт. Разгръща се метаболитен дефицит в съседни неврони, който причинява бърза широко разгърната смърт на неврони.

Процесът може да се развие антероградно или ретроградно в зависимост от посоката на дегенерацията според мястото на първична увреда.

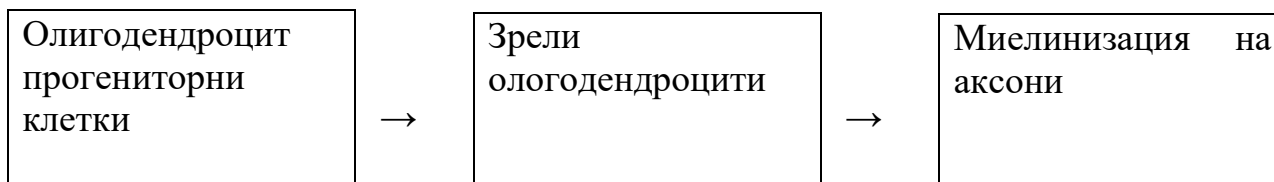
- антероградно – следствие от загуба на входящи сигнали. При увреда на неврон от ЦНС дегенерира постсинаптичният неврон, асоцииран със същата функция като увреденият пресинаптичен. Настъпва транс-синаптична дегенерация.
- ретроградно – следствие от загуба на трофика. Развива се в пресинаптичната клетка, която изпраща входящи сигнали към увредена постсинаптична клетка-таргет. Наблюдава се при латерална амиотрофична склероза (АЛС).

Причини за транс-невронна дегенерация могат да бъдат мозъчни травми, синдром на дисконекция (нарушение в трансмисията на импулси по протежение на нервните влакна, което води до лезии в бялото мозъчно вещество с последваща вторична невронна загуба и транс-невронна дегенерация), взаимодействие на неврони при дефицит на дихателната верига при *de novo* DNA мутации (възрастови промени), лобектомия. Независимо от причината (клетъчен, дендритен или аксонален фактор), резултатът е един и същ, макар с различна тежест. Процесът е свързан със заболявания като Болест на Алцхаймер, Хорея на Хънтингтън, Синдром на Кокейн, Амиотрофична латерална склероза. Съвременни МРТ методики като Diffusion Tensor Imaging и Functional Magnetic Resonance Imaging се прилагат с цел визуализиране на мозъчните пътища и за изследване процесите на дисконекция (165). С тяхна помощ се изследват промени в трите категории влакна на WM- проекционни, комисурални и асоциативни (49).

Невродегенерацията при множествена склероза се разглежда от някои автори като вторичен прогресиращ процес, следствие от възпалителна демиелинизация (13). Заболяването протича в клиничен аспект с пристъпно-ремитентен, първично-прогресивен, вторично-прогресивен или пристъпно-прогресивен ход. Демиелинизацията и свързаните с нея промени и увреждания в ЦНС обясняват невродегенеративните последици и имат съществен принос при пристъпно-ремитентната форма и етап от развитие на заболяването. Що се отнася до прогресивните форми и етапи на заболяването, демиелинизацията не корелира добре с процеса на атрофия. Промените при прогресивните форми насочват изследователското внимание в търсене на други механизми за развитие на невродегенеративни изменения. Аксоналната загуба, а не демиелинизацията, много по-добре корелира с клиничната стабилност в хода на болестта. Възникна нова концепция за патогенезата на болестта, според която аксоналната загуба се развива независимо и дори може да е причина за отключване на демиелинизация. Редица данни демонстрират, че невродегенерация се развива на всеки етап в хода на заболяването, независимо от наличието на пристъпи (13,128). Степента на невродегенеративни промени при прогресивните форми не корелира с локализацията на плаките в бялата мозъчна субстанция. Доказа се добра корелация с патологията на сивата мозъчна субстанция – кора и подкорови структури. Пост мортем анализи на материал от гръбначен мозък демонстрират, че аксоналната загуба в спиналните пътища не се асоциира с плаките на демиелинизация в същите области. Всичко това предполага, че съществува патологичен механизъм, независим от процеса на демиелинизация, който допринася за аксоналната загуба и невродегенерацията при МС. Установени са данни, че аксонална увреда и загуба може да настъпи преди загубата на миелин, което предполага, че аксоналната увреда и невродегенерацията може да са независими от демиелинизацията. Възможно е те да се развиват преди или паралелно с процеса на демиелинизация. Изследвания върху механизмите на Валерова дегенерация установяват наличие на автодеструктивна програма, в която участват сигнални пътища за аксона смърт с участие на определени рецептори като SARM1 (13,128).

Миелиногенеза се нарича процесът на пролиферация на миелинови обвивки в рамките на нервната система. Това е процес, който се наблюдава постнатално при бозайници. Започва в ембрионалния стадий от развитието и приключва години след раждането (83). Миелинизацията е структурна предпоставка за пропация на нервните сигнали по протежение на аксона с много голяма скорост и без затихване на сигнала (13). Това осигурява контрол и бърза реакция към стимули от вътрешната или външната среда, по-

добра адаптация и оцеляване на индивида. Миелинизацията е предоставила възможност за еволюционно развитие чрез специализация на отделни мозъчни области в изпълнение на специфични функции, както и колаборация между съответни области. В ЦНС миелинизацията осигурява конекция в рамките на специфични мозъчни региони. Допринася за функционирането на по-мощни невронни пътища, които свързват пространствено отделни мозъчни области и така подsigуряват сензорни, когнитивни и моторни функции. При човека миелинизацията продължава до 10-12 годишна възраст след раждане (182). Независимо, че се наблюдават вариации в скоростта на индивидуалното физическо и невропсихологично развитие при отделните индивиди в детска възраст, то последователността на миелинизация е еднаква при всички деца (с определен възрастов диапазон за специфични етапи на развитие). Миелиновите обвивки са продукт от дейността на олигодендроцитите (238):



Процесът се развива в следните етапи:

1. Аксон контакт
2. Генно активиране и транскрипция в глиални клетки
3. Аксон обвиване, което представлява едната от двете фази в рания етап от формиране на миелиновата обвивка. Спиралното обвиване на таргетния аксон започва чрез изработване от всеки инициаторен израстък на ламеларни разширения, които се разполагат циркумферентно около таргетния аксон и така оформят първото опаковане/слой от миелиновата обвивка (99).

4. Съзряване

Основният молекулярен механизъм, който контролира процеса, както и последователността в етапите на миелиногенезата все още не са напълно известни. Обсъждат се следните теории:

- олигодендроцитите и Швановите клетки имат общ механизъм за стимулиране на миелиногенеза. Проучвания върху контрола на миелиногенезата демонстрират, че Швановите клетки синтезират миелин под контрола на неидентифициран механизъм, ръководен от прилежащия аксон (240).
- транскрипционен фактор OLIG1 контролира няколко миелин-свързани гена, и потиска активността на други. Установено е, че на клетъчно

ниво този фактор е необходим за да стимулира миелинизацията от олигодендроцитите. На ниво гръбначен мозък се установява по-малка нужда от OLIG1 регулация на активността на гените за стартиране на миелинизацията.

- роля на апотрансферин регулация на щитовиден хормон рецептор-алфа и щитовидни хормони. Необходимо е съвместно действие на трансферин и щитовиден хормон. Установено е, че състояние на повишена трансферин експресия довежда до състояние на хипертиреоидизъм. Следователно трансферин е свързан с ефекта на щитовидните хормони по отношение матурация на олигодендроцитите и стартиране на миелинизацията (152,247).

Проучвания върху контрола на миелиногенезата са установили, че за процеса е необходимо взаимодействие мембрана-мембрана между аксоните, промотиращо синтез на протеини, означавани като P0, P1 и P2. Те от своя страна контролират миелиногенезата. Протеините P1 и P2 се откриват в активно състояние преди P0. Протеинът P0 идва от периферната нервна система (183). Установено е, че Швановите клетки могат да синтезират миелин само в присъствие на аксон. Аксонът инструктира Швановата клетка да инициира продукция на миелин веднага след установяване на аксон-аксон контакт. Освен това аксоните промотират синтез на протеини P0, P1 и P2. Изглежда аксоните на миелинизираните влакна могат да провокират синтез на миелинови протеини от Шванови клетки (183). Цикличният аденозин монофосфат (сАМР) се явява second-messenger молекула с доказан промотиращ ефект по отношение растежа на аксони и процеса на миелинизация (117).

1.4. РОЛЯ НА ЩИТОВИДНА ЖЛЕЗА ЗА АКТИВИРАНЕ НА ИМУННАТА СИСТЕМА И В ПРОЦЕСА НА МИЕЛИНОГЕНЕЗА

Понятието „*стрес*“ на езика на физиологията определя всяко състояние, което нарушава естествения баланс на организма, т.е. хомеостазата. Освен психоемоционални фактори, свързани със социализацията, стрес предизвикват и състояния на промени в кръвната захар, смущения в стомашно-чревния тракт, хронични инфекции, интоксикации, автоимунни и възпалителни процеси. Всеки един от тези фактори провокира надбъбречните жлези да секретират хормоните на стреса – кортизол, адреналин и норадреналин. Разгръща се състояние означавано като „*надбъбречен стрес*“ (НС).

Симптоми като умора, главоболие, намален имунитет, нарушения в съня, резки промени в настроението, злоупотреба с кафе и сладкарски

изделия, нарушения в режима на хранене, раздразнителност или прилошаване между храненията са прояви на надбъбречен стрес.

Стресираните надбъбречни жлези задвижват „*стрес-хормонална верига*“ с участие на щитовидни хормони. Те оказват ефект по отношение на щитовидната жлеза директно и индиректно, и провокират хипотиреоидизъм. Индиректният механизъм за повлияване се разгръща чрез промени в нивата на кръвната захар. Директното въздействие върху щитовидна жлеза се осъществява чрез:

- хипоталамо-хипофизо-надбъбречната ос (НРА) (13). Хроничният стрес потиска функцията на хипоталамуса и хипофизата. Тези два органа контролират производството на щитовидни хормони. Промени в тяхната активност се отразяват на щитовидната функция. Стрес-реакцията е свързана с освобождаване на инфламаторни цитокини IL-1 β , IL-6 и TNF- α . Те потискат НРА. Така понижават нивата на тиреоид-стимулиращия хормон. Клинични проучвания установяват, че TNF- α понижава серумните нива на TSH, T3, FT3, FT4 и хипоталамичния TRH в продължение на дни. Освен това потиска конверсията на T4 в T3, чувствителността на щитовидната жлеза към TSH и намалява усвояването на щитовидния хормон.
- Th1 и Th2 и проинфламаторните цитокини IL-6, TNF- α , INF- γ и IL-1 β , които повлияват негативно трансформирането на неактивната форма T4 в T3.
- компрометиране на имунните бариери и стартиране на автоимунни процеси. Гастроинтестиналният тракт, белите дробове и КМБ са първични имунни бариери. Предотвратяват проникване на „чужди“ субстанции в кръвното русло и ЦНС. Надбъбречният стрес отслабва имунната система и компрометира имунните регулаторни механизми за установяване на баланс на имунната система. Системното проникване на антигени извежда имунната система от балансираното състояние. Отключват се автоимунни процеси като заболяването Тиреоидит на Хашимото и други (135).
- резистентност към щитовидни хормони. Проинфламаторните цитокини понижават чувствителността на клетъчните рецептори към щитовидни хормони- „*receptor- site sensitivity*“.
- хормонален дисбаланс. Продължителното състояние на повишено серумно ниво на кортизол потиска чернодробния метаболизъм на естроген. Нарушава се изчистването на излишъка от естроген в кръвта. „Излишният“ естроген повишава нивата на тиреоид-свързващия глобулин (TGB). Глобулинът е транспортна форма за щитовидния хормон. Свързан с него, хормонът е в неактивно

състояние. Повишените серумни нива на ТВГ предизвикват намалена фракция на свободен щитовиден хормон. Вследствие на това се нарушава свързването и активирането на щитовидния клетъчен рецептор, което физиологично имитира състояние на хипотиреоидизъм.

В обобщение, НС компрометира имунитета и повлиява щитовидната функция по посочените няколко механизма, като провокира състояние на хипотиреоидизъм (13). Като отдалечени ефекти вследствие на състоянието на хипотиреоидизъм се нарушава матурацията на олигодендроцити и се смущава иницирането на миелиногенеза. Компрометираната миелиногенеза благоприятства процесите на невротоксичност, апоптоза и дисконекция.

При МС процесът на възпаление е свързан с директна и индиректна токсичност, клетъчна апоптоза на олигодендроцити, с непълноценна ремиелинизация и последващо нарушение във функционирането на невроните и тяхната дегенерация. Състоянието освен с прогресивна загуба на тъканен обем (атрофия), е придружено и с функционални нарушения като загуба на аксон-аксон контакт и кондукционен блок. Развива се състояние на дисконекция. Дисконекцията е съществен фактор за клиничните изяви и развитие на различна степен на инвалидност при МС пациентите.

Проучванията върху миелинизацията на зрителен нерв при лабораторни животни са установили, че ранната фаза на миелинизация корелира с повишен синтез на липиди, холестерол, цереброзиди и сулфатиди. Те се синтезират и пакетират в апарата на Голджи на олигодендроцитите. Не е изяснен транспортът на тези липиди, но при тяхното отсъствие се забавя процесът на миелинизация. Цереброзид-сулфотрансфераза (cerebroside-sulfotransferase) е ензим, отговорен за инкорпориране на сулфат в сулфатид. В ЦНС сулфатид, сулфатираните гликопротеини и сулфатираните мукополизахариди са много по-тясно свързани с невроните в сравнение с миелина. Моментите с пик в количеството на сулфатид и на ензимната активност на сулфотрансферазата кореспондират с периода на максимална миелинизация на зрителния нерв при опитните животни. Спектроскопско изследване демонстрира максимален пик на сулфатид, липиди, холестерол и цереброзид, който съвпада с ранния етап на миелинизация (223).

1.5. НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ – СЪЩНОСТ И ФАКТОРИ ЗА РАЗВИТИЕ

Невродегенерацията при МС е сложен процес с участието на множество фактори. Активирането на различни молекулярни механизми и въвличането на различни протеини таргети приключва със загуба на миелин, аксоналната дегенерация и невронна деструкция. Изследвания в областта на неврофизиологията на ниво клетка определят ролята на някои метаболитни и енергийни процеси в патофизиологията на клетъчната апоптоза, и свързаната с нея дисконекция и дегенерация.

Обсъжда се ролята на енергийния дефицит, балансът на реакциите окисление-редукция в поддържане на клетъчната хомеостаза, токсичното въздействие на свободни радикали, хомоцистеин, проинфламаторни фактори и антитела, промени в липидния метаболизъм, участие на пероксизомите в миелиногенезата (13). Комплексното въздействие на тези взаимосвързани и зависими процеси тласка клетъчната хомеостаза към състояние на изчерпани компенсаторни механизми. Развива се апоптоза и невронна смърт с всички свързани последствия от нарушена аксон-аксон и неврон-глия комуникация.

1.5.1. Виртуална хипоксия

Направление в изследване на етиологията и патофизиологичните механизми при МС изучава хронично демиелинизирани неврони, които достигат стадий на „виртуална хипоксия“. Състоянието може да доведе до клетъчна смърт поради намалена аденозинтрифосфат продукция, енергиен дефицит и последващи нарушения във функционирането на йонни канали и митохондрии (128,141). Загубата на миелин е свързана с повишени енергийни нужди и относителен енергиен дефицит в клетката. В здравите неврони $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ се локализира в прищипванията на Ranvier. След епизод на демиелинизация Na^+ канали се преразпределят и се разполагат не локализирано във възлите на Ranvier, а дифузно по протежение на аксона (13,60). $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ също се разполага дифузно по протежение на аксона за да осигури салтаторно предаване на нервния импулс. Увеличеното представяне на ензима изисква съответно увеличен енергиен подвоз. При МС пациентите тези увеличени енергийни нужди на неврона не могат да бъдат задоволени поради нарушена функция на митохондриите (13). Намаленият потенциал на митохондриите да осигурят необходимите повишени енергийни нива води до нарушено функциониране на $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ (128). Като краен резултат от тази верига зависимости се нарушава невротрансмисията (141). При недостатъчна активност на ензима клетката на практика изпада във фаза на трайна аксонална деполяризация. Това състояние води до проникваемост на йонните канали и повишени нива на вътреклетъчният Na^+ . При достигане на

нива вътреклетъчно над 20mM, Na⁺/Ca⁺ помпа работи в обратна посока и вкарва Ca⁺ в клетката (225). Повишеното ниво на вътреклетъчен Ca⁺ се означава като „натоварване с Ca⁺“ (Ca⁺ loading). Съвместно с други механизми за повишаване нивото на вътреклетъчния калций (освобождаване от вътреклетъчни ресурси, волтаж опериращи Ca⁺ канали, глутамат-регулирани рецептори) натоварването с калций приключва с клетъчна смърт.

В ликвор на МС пациенти са установени завишени нива на глутамат. Стимулираната фосфолипаза А2 в присъствие на свободни радикали провокира повишено освобождаване на глутамат. Той активира йонотропни глутаматни рецептори с последваща акумулация на токсични нива на Ca²⁺ вътреклетъчно. Резултатът е клетъчна смърт (13,225). Глутамат е подчертано ексцитотоксичен за олигодендроцитите посредством amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)/kainate рецепторите (225).

1.5.2. ROS и оксидативен стрес

Обсъжда се ролята на оксидативния стрес като следствие от формиране на ROS, секретирани основно от макрофаги (13,104,128). ROS са свободни радикали и свързани с тях молекули, които съдържат един или повече нечифтни електрони (13). Най – често формираните ROS са хидроксилен радикал (OH[•]), супероксиден радикал (O₂^{•-}), азотен оксид (NO), молекули като водороден пероксид (H₂O₂) и пероксинитрит (ONOO⁻) (13). Нечифтните електрони определят ROS като електрон-аксептори. Процесът се осъществява посредством окисление. Клетъчната физиология произвежда ROS. Клетката разполага с редица механизми за предпазване от вредния ефект на ROS. Предполага се, че при пациентите с МС свободните радикали преодоляват капацитета на защитните механизми в клетката. В резултат на това ROS увреждат липиди, протеини и клетъчната ДНК чрез процес на окисление. Като резултат се развива клетъчна апоптоза (104). Увредените клетки освобождават железен йон (Fe³⁺). Той катализира нови реакции с продукция на свободни радикали и образуване на ROS (128). Свободните радикали активират транскрипционни фактори с повишена експресия на много гени, свързани с развитие на МС като NF-κβ, TNF-α, ICAM-1, VCAM-1 (196). H₂O₂- повлиява генната експресия на ниво ДНК.

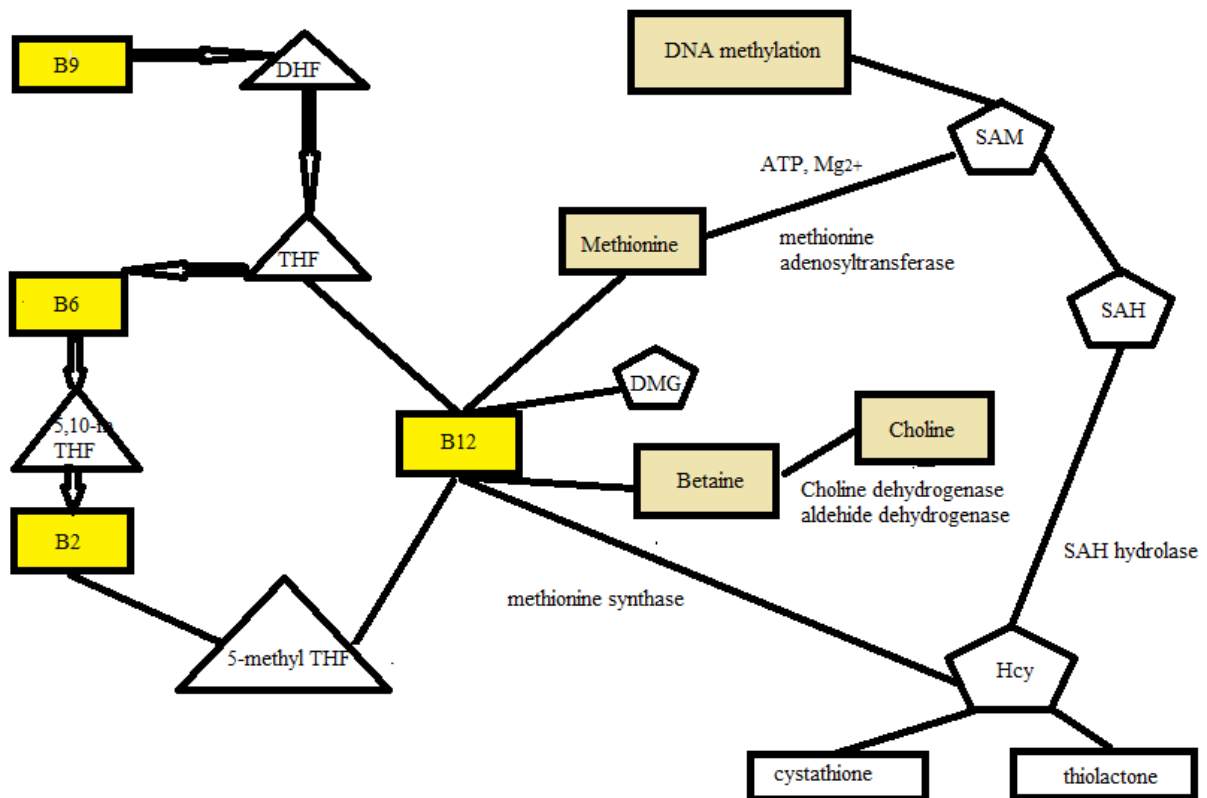
Друг източник на свободни радикали са митохондриите при осъществяване на кислородна утилизация (13). Приема се, че респираторният срив в митохондриалната дихателна верига на активираната микроглия-източник на енергия за активната глиална клетка при възпалителен тласък – произвежда ROS. Активираните астроцити от своя страна произвеждат NO. Кислородните и азотни свободни радикали са „токсични“ и предизвикват демиелинизация и аксонално увреждане при ЕАЕ и МС. Азотният оксид е съществен за живота. Той притежава имуномодулаторен ефект.

Едновременно с това е токсичен и уврежда аксоните (13). Завишените нива на NO са маркер за невродегенерация. В ЦНС NO се произвежда от макрофагите и микроглията чрез активирана NO-синтетаза под въздействие на проинфламаторните цитокини TNF- α и INF- γ . Увеличените NO нива повишават съдържанието на Ca²⁺ и Na⁺ вътреклетъчно, което нарушава митохондриалната функция. Азотният оксид и пероксинитрит подтискат митохондриалната дихателна верига. Проучване на плаките при MS установява локално завишени нива на свободни радикали и по-ниски концентрации на антиоксиданти като глутатион, алфа-токоферол и пикочна киселина (141). В заключение, свободните радикали увреждат множество метаболитни пътища, свързани с АТФ продукцията. Активират експресия на гени, свързани с MS патологията. Повишават нивата на глутамат с всички произтичащи последствия по отношение на клетъчната и тъканна хомеостаза. Краен ефект от въздействието на свободните радикали са състояния на токсичност и апоптоза.

1.5.3. „*The one-carbon metabolism*“ „Метаболитен път на C1-фрагментите“

При разграждане на аминокиселини се отделят едновъглеродни отломки или C1 фрагменти. Това са групи, съдържащи един въглероден атом с различна степен на окисленост. Колкото по – нисък е броят на водородните атоми в групата, толкова по – окислен е C атомът. Такива C1-фрагменти са метилова, хидроксиметилова, формилова групи. Метаболизмът на едновъглеродните фрагменти се осъществява в митохондриите и цитозола. В рамките на процеса се образуват аминокиселини и нуклеотиди. Те са градивен материал за синтез на белтъци и ДНК. Преходите между нивата в метаболитния път изискват оксидиращи или редуциращи агенти. Метаболизмът на C1-фрагментите осигурява метилови групи за биосинтез на фосфолипиди, биогенни амини, тимидин, аминокиселини, синтез на пурини и пирамидини. Източници на C1-фрагменти са серин, глицин, холин, хистидин и формат. „*One-carbon*“ метаболитният път има важна роля в редица биологични процеси и в развитието на клинични симптоми като хипометилиране, хомоцистеинемия, чернодробни нарушения, акумулиране на хиперинтенсни лезии в бялото мозъчно вещество (141). Освен хомоцистеин, този метаболитен път включва и други важни молекули като C1-фрагмент S-adenosylmethionine (SAM), S-adenosylhomocysteine (SAH) и methionine. Тези метаболити се синтезират в рамките на цикъла чрез каскада от биохимични реакции, в които участват редица витамини, ензими и кофактори. Есенциалната аминокиселина метионин се конвертира до SAM в присъствие на ензима methionine adenosyltransferase, АТФ и магнезий Mg. След това SAM се метаболизира до SAH. В присъствие на SAH hydrolase, SAH се

конвертира до хомоцистеин (Hcy). Hcy може да се реметилира или рециклира обратно до метионин в присъствие на methionine synthase, витамин B12 и фолат. Hcy може да се превърне в cystathione в присъствие на ензим Cystathionine-beta synthase и витамин B6, или да се трансформира в Hcy thiolactone от methionyl-tRNA synthetase. Изследвания с едновременно замерване нивата на основни метаболити от „one-carbon“ метаболитния път при MC пациенти установяват аберации в конверсията на Hcy обратно в метионин и формирането на SAM и SAH.



Фигура 1. “One-carbon cycle” – метаболитен цикъл на едновъглеродните фрагменти: Hcy - хомоцистеин, SAM - S-adenosylmethionine, SAH – S-adenosylhomocysteine, DHF – Dihydrofolate, THF – Tetrahydrofolate

При MC пациентите често се установяват ниски нива на витамините B12 (cobalamin), B6 (pyridoxine), и B9 (folate) (98,114,192). Тежък витамин B12 дефицит може да предизвика разпад на миелиновата обвивка. Състоянието прогресира до невронна демиелинизация (159). Първите проучвания на витамин B12 при MC пациенти са с противоречиви резултати. В крайна сметка се стига до консенсус, че MC пациентите имат по – ниски серумни нива на B12 в сравнение със здрави контроли (98, 192). Витамин B6

играе важна роля за нормалното развитие и функция на мозъка, за синтез на миелин и редица невротрансмитери като серотонин и норадреналин. Взаимодействието между В12 и фолат (витамин В9) е ключов момент в синтезата на метионин от Нсу чрез ензима метионин синтетаза. Methyl-vitamin В12 и 5-methyltetrahydrofolate – ензим от фолатния цикъл, се явяват кофактори. Фолатния цикъл е съществен за много геномни и негеномни реакции на метилиране на ДНК посредством SAM, както и индиректно със своята роля за синтез на пурины и тимидин, и по този начин за синтез на нуклеотиди, ДНК и РНК. Метилирането на ДНК и миелина чрез SAM са процеси от жизнена важност в ЦНС. Дефицитът на фолиева киселина, също подтиква активността на ензима метионин синтетаза (methionine synthase) (227). В ЦНС не се реализира алтернативният бетаинов път за реметилиране на хомоцистеин. Поради това дезактивирането на метионин синтетаза води до силно редуциран капацитет на ЦНС за метилиране. Недостигът на фолат и В12 засилва невродегенерацията посредством активиране на ROS и апоптозата, и посредством повишаване нивата на Са⁺ в цитозола и вътреклетъчния хомоцистеин (114,131). В обобщение one-carbon метаболитният път има съществена роля за функционирането на ЦНС. Този метаболитен цикъл играе роля в процесите на генна регулация, синтез на ДНК, метилиране, синаптична функция и невротрансмисия.

1.5.4. Хомоцистеин в процеса на невродегенерация

Компрометираната КМБ е проникваема за невротоксини, пренасяни чрез кръвта. Тези невротоксини допринасят за аксоналната увреда и загуба (28). Хомоцистеин е невротоксин. Той представлява сяра съдържаща молекула, произвеждана от аминокиселината метионин. Нсу е един от метаболитите, участници в “one-carbon cycle”, който играе важна роля в заболяванията на нервната система. Нсу промотира активиране и пролиферация на микроглия. Активираната микроглията произвежда невротоксини ендогенно. Така микроглията участва в процеса на невродегенерация като акселератор на невротоксичността. Нсу е основен фактор, допринасящ за оксидативната увреда на ДНК чрез участие в процесите на метилиране. Повишените нива на хомоцистеин са невротоксични и компрометират кръвно-мозъчната бариера. Установени са завишени нива на хомоцистеин при пациентите с МС, асоциирани и с когнитивни нарушения (197,222,226,250). Доказана е корелация на завишените серумни нива с депресивни симптоми (250). Проучване при пациенти с вторично-прогресивна и първично-прогресивна МС демонстрират сигнификантно по – високи серумни нива на Нсу в сравнение с пациенти с пристъпно-ремитентна форма и със здрави контроли (141). По – високите

нива на хомоцистеин може да са следствие от генетичен или метаболитен дефект. Високите нива на хомоцистеин провокират увреждания или директно, посредством участие в липидния метаболизъм, или индиректно, посредством оксидативен или ендоплазматичен ретикулум стрес. В допълнение оксидативният стрес може да стимулират акумулиране на хомоцистеин, защото ROS нарушава трансформирането на Hcy в метионин. Hcy модулира субстратните нива за различни каталитични процеси и регулира експресията на гени, свързани с комплексни заболявания посредством активацията на NK-kβ. Установени са 112 гена, модулирани от Hcy и други 23 гена, които повлияват Hcy (141). Много от тези гени са отговорни за процеси като хипоксия, апоптоза, образуване на ROS, възпаление и липиден метаболизъм. (144,210) Според проучване, проведено от Sharma и сътрудници обща връзка между процесите апоптоза и възпаление се явява стрес на ендоплазматичния ретикулум. Той от своя страна е тясно свързан с оксидативния стрес (210). Вероятно Hcy индуцира оксидативен стрес и апоптоза посредством NADPH оксидаза или чрез активация на c-Jun N-terminal kinases (JNKs).

1.5.5. Липиден метаболизъм, микроглия и оксидативен стрес

Човешкият мозък има високо липидно съдържание. Поради тази причина нарушения в липидния метаболизъм може да бъдат фактор за развитие на заболявания на ЦНС вследствие на метаболитен дистрес, увреда и загуба на миелин, невронна дегенерация. Липидната хомеостаза в ЦНС се регулира от микроглията посредством прецизен баланс между фагоцити и цитотоксични макрофаги. При смущения в липидния метаболизъм се наблюдава нарушено равновесие между цитотоксичните и фагоцитиращите клетки на микроглията. Corthals допуска, че развитието на МС може да се разглежда като следствие от нарушен липиден метаболизъм (58). Според автора имунната система използва липидите за възстановяване на тъканни увреди и за превенция на възпалителен процес. Ето защо според него нарушеният липиден метаболизъм причинява нарушено функциониране на имунната система. Липидите, в частност окислените липопротеини, са ключови агенти на имунния отговор във фаза на остро възпаление. Окислението на липиди може да се увеличи в условия на хипоксия и да предизвика нарушен липиден метаболизъм. Провеждани са проучвания за ролята на контрола върху дислипидемията при МС пациенти (106,241,242) . При изследване на 8993 пациента се установява връзка между наличие на дислипидемия и повишен риск от прогресия на инвалидизацията при тези пациенти. Установена е връзка между характеристики на липидния профил и находката при МРТ изследване на ЦНС. Доказана е връзка с формирането на

лезии при пациенти с имуномодулираща терапия (ИМТ) – интерферон-бета (INF-β) след изява на първи пристъп (106,242). Пациенти, лекувани с интрамускулна апликация на INF-β демонстрират зависимост между по – високите серумни нива на LDL и общия холестерол и по – висок риск от поява на нови T2 лезии при МРТ изследване. Друго проучване демонстрира, че пациенти с по – високи нива на аполипопротеин А1 се адаптират по – добре към терапия с INF-β. ApoA1 е основен компонент на HDL. Известно е, че ApoA1 подтилка контакт-медираната активация на моноцитите като се свързва към активираните Т-клетки. По този начин инхибира продукцията на проинфламаторните TNF-α и IL-1β (141). Други автори посочват, че пациенти с по – високи нива на общ холестерол имат по – голям брой контраст-свързващи лезии на демиелинизация при МРТ изследване. Тези данни обуславят интереса към прилагане на статини при МС пациентите. Статините подтилка продукцията на NO, TNF-α и IL-6, които са фактори на възпалението. Резултатите от проучвания при МС пациенти обаче са противоречиви.

1.5.6. Пероксисоми (Peroxisome proliferator-activated receptors) и оксидативен стрес

Нарушенията в липидния метаболизъм се отразяват негативно на миелина и миелиногенезата. Липидният метаболизъм се контролира от пероксисоми и техните рецептори – peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) (41,233). Последните контролират функцията и броя на пероксисомите, но освен това и възпалението, цитотоксичната клетъчна апоптоза, миелиногенезата, пролиферацията и диференциацията на нервни клетки, енергийната и липидна хомеостаза, ROS. Пероксисомите са отговорни за кислородния метаболизъм и реакциите на окисление.

Пероксисомните рецептори (PPAR) са три вида – алфа (α), бета/делта (β/δ) и гама (γ). Всички подтипове рецептори са установени в мозъчна тъкан на развиващ се и зрял мозък, и в гръбначен мозък. PPAR α участва в метаболизма на ацетилхолин, в невротрансмисията и защитата срещу оксидативен стрес (OC). PPAR β/δ са фактори в липидния метаболизъм в мозъка. PPAR γ има роля в процесите на възпаление и невродегенерация. Установена е завишена експресия в микроглия и астроцити в хода на ЕАЕ (141). Активирането на рецептора потиска левкоцитната инфилтрация в мозъчната тъкан и потиска възпалението и аксоналната демиелинизация.

Доказан е ефектът на хомоцистеин върху тези рецептори. Нсу потиска тяхната експресия чрез конкуренция за едни и същи лиганди, което определя ползотворния ефект от активиране на тези рецептори при пациенти с нормални нива на хомоцистеин.

1.5.7. Антитела и аутоимунитет

При пациентите с МС се откриват аутореактивни антитела. Те медираат демиелинизацията чрез активиране на системата на комплемента и привличане на аутореактивни Т клетки (13). Антителата, които се откриват в ликвор и серум на пациенти с множествена склероза се разделят на две големи групи според своя антиген:

- антитела, насочени срещу миелин

Това са антитела срещу myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG), myelin basic protein (MBP), myelin-associated glycoprotein и proteolipid protein (164). Ролята на тези антитела все още търпи дискусии. Антитела срещу MOG и MBP са разглеждани като маркер за предвиждане развитие на клинично дефинитивна МС (37). Други проучвания не установяват подобна връзка. На този етап се приема, че посочените антитела имат роля в аутоимунната атака срещу фосфолипиди на миелина.

- антитела, насочени срещу немиелинови антигени

Нараства броят на проучванията, които демонстрират, че антитяло-медираната аксонална увреда може да се отключи от немиелинови антитела. Тези антитела се прицелват в невронални повърхностни молекули, цитоскелетни протеини, интрацелуларни ензими, сигнални молекули и шаперони, и нуклеарни антигени. Така се отключва различен механизъм на имуно-медирана аксонална увреда. Вследствие на тяхната дейност може да се наблюдава ексацербация на ЕАЕ без демиелинизация, нарушена невротрансмисия поради блокиране възлите на Ranvier. При пациенти с хронична прогресивна МС се установяват завишени титри на антитела в серум срещу цитоскелетни протеини-неврофиламенти (neurofilament-light chain (NF-L) в сравнение с пациенти с други неврологични заболявания. Установена е корелация между тези антитела и прогресията на болестта по типа на „*biomarker-specific manner*“.

Възпалителният процес при МС-плаките в различните етапи от развитие на болестта има различни характеристики. Допуска се, че антителата срещу миелин имат своята патогенетична роля в ранните „пристъпни“ етапи. Немиелиновите антигени вероятно са по – важни за имунния процес в прогресивната фаза на болестта. И двата типа антитела причиняват невродегенерация посредством активиране на апоптозни проинфламаторни цитокини и имунни механизми (141).

1.6. МОЗЪЧНА АТРОФИЯ

Мозъчната атрофия се установява при редица заболявания на ЦНС. Атрофия на тъкан означава намаляване на обема на клетките, което може да е следствие от загуба на цитоплазматични протеини. В мозъчната тъкан атрофията се представя като загуба на неврони и връзки между тях. Атрофията може да бъде генерализирана, което означава свиване и намаляване на обема на целия мозък. Може да бъде фокална, засягаща ограничена зона от мозъка. Свързва се с промени във функциите на съответната зона.

Мозъчният обем намалява в известна степен при естествено стареене. След приключване на процесите на нарастване и развитие, и при достигане на своя максимален обем приблизително около 25 годишна възраст, мозъкът постепенно губи маса с всяка декада от живота. Скоростта на тъканна загуба е относително малка до 60 год. възраст, след която се установява загуба на мозъчен обем средно с 0,5-1% на година. При достигане на възраст 75 години мозъкът е средно с 15% по – малък в сравнение с обема на 25 години. Някои мозъчни области, например тези, отговорни за краткосрочната памет, са засегнати в по – голяма степен в сравнение с други. Също така мъжете губят повече мозъчна маса като цяло в сравнение с жените. Някои изследователи доказват полово зависими разлики в процеса на атрофия. Gur (1991) и сътрудници установяват по – отчетлива атрофия на лява хемисфера при индивиди от мъжки пол, и симетрични промени в двете хемисфери при индивиди от женски пол (115).

Мозъчната атрофия ангажира структури на сиво и бяло мозъчно вещество (13,69). В този смисъл се дефинира като глобална и регионална (198). Глобалната атрофия се подразделя на атрофия на бялото мозъчно вещество и атрофия на сивото мозъчно вещество. Атрофията на сивото мозъчно вещество от своя страна е кортикална и субкортикална/централна. Регионална мозъчна атрофия определя промени в обема на отделни мозъчни структури. Изследва се с цел качествена характеристика на дегенеративните изменения. Терминът предоставя освен анатомичен, така също и функционален аспект при оценяване на връзката между мозъчна атрофия и неврологичен дефицит, съответно- между характер и тежест на инвалидизация.

1.6.1. МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА И МОЗЪЧНА АТРОФИЯ

Бялото мозъчно вещество се състои преимуществено от аксони (46%), миелин (24%), глия и други клетки (30%). Прогресивната атрофия води до загуба на тези структури, особено на аксони. Пациентите с МС губят средно 0,6-1% от мозъчния обем годишно (179). Наблюдават се разнообразни ефекти

по отношение на тъканния обем вследствие на пролиферация или загуба на глиални клетки, развитие на глиоза, на възпалителни промени или оток. Корелативни изследвания на отношението между мозъчен обем и МРТ невронални маркери демонстрират, че при установяване на атрофия, тя е за сметка на аксонална загуба (160). Мозъчна атрофия се наблюдава при всички клинични форми на заболяването множествена склероза (179). Ангажира сиво и бяло мозъчно вещество (69). Представя се като глобална и регионална (фокална) (198). Не се доказва корелация между натоваарването с лезии и промените в обема на бяло мозъчно вещество, което предполага механизъм макар и отчасти, независим от процеса на оформяне плаки на демиелинизация (50). Развива се постепенно като следва появата на възпалителни лезии (100). Този процес вероятно отразява развитието на инфламаторно индуцирана аксонална загуба и последваща Валерова дегенерация (Wallerian degeneration) и пост-възпалителна невредегенерация (160). Вероятно дегенерацията е отчасти следствие от непълна ремиелинизация. Измерването на мозъчната атрофия е чувствителен метод за оценяване на невродегенеративните компоненти в патофизиологичния процес при МС (13). Може да се прилага като клинично релевантен маркер за прогресия на болестта (92). Подходът може да намери съществено приложение в клинични проучвания за достоверна оценка на противовъзпалителния, ремиелинизиращия и невропротективен ефект на изпитвани субстанции (38,160).

1.6.2. ФАКТОРИ, ПОВЛИЯВАЩИ ОБЕМА НА МОЗЪЧНОТО ВЕЩЕСТВО

Развитието на мозъчна атрофия се влияе от действието на определени фактори в краткосрочен и дългосрочен аспект (13). Обратимост на процеса (т.е. различна степен на мозъчна атрофия) се наблюдава при някои състояния. Приложението на адренокортикотропен хормон (АСТН) с лечебна цел провокира мозъчна атрофия, установена с образни изследвания. Месеци след преустановяване на терапията мозъкът на изследвания пациент е с размери, характерни за съответната възрастова група. Подобни данни са установени при пациенти с хроничен алкохолизъм. Състоянието е асоциирано с мозъчна атрофия и нарушения във висшите мозъчни функции. След преустановяване приема на алкохол при 50% от изследваните лица се регистрира подобрене по отношение на мозъчния обем. Доказан факт е, че съхраняването на умствената, физическата и социалната активност намаляват риска от развитие на мозъчна атрофия и нейната тежест.

Фактор, който предизвиква отчетливи краткосрочни промени в обема на мозъчното вещество при МС е динамиката във водното съдържание на

мозъчната тъкан. По – големи краткосрочни промени са наблюдавани при пациентите с пристъпно-ремитентна форма на МС в сравнение с тези с прогресивна форма. Вероятно поради въздействието на възпалителните механизми, ангажирани при ПРМС и съпровождащата динамика в разпределението на водното съдържание на мозъчната тъкан (13). Изследване на обема на лезиите в бялото мозъчно вещество при ПРМС установява краткосрочни флукуации в мозъчния обем. Приема се, че са следствие от вариации в разпространението на възпалителни оточни лезии, които се установяват в по – голям процент при пациенти с ПРМС (227). Това повдига въпроса доколко целесъобразно е оценяването на краткосрочната прогресия на болестта въз основа на данни за мозъчната атрофия, представена чрез промените в мозъчния обем.

Следващ фактор с ефект по отношение на мозъчния обем е приложението на кортикостероиди (13,176). При проследяване на пациенти с ПРМС и приложен 3-5 дневен курс висока доза интравенозен метилпреднизолон (IVMP), за лечение на остър пристъп при пациенти на ИМТ, и такива без ИМТ, е отчетена съществена редукция на brain fraction volume (BFV) в края на 1-ия и на 2-ия месец след проведения терапевтичен курс. BFV е бил стабилен в трите месеца преди курса. По – отчетливи промени се наблюдават в края на първия месец и за двете проследени групи – третирани и нетретирани с ИМТ. Отчита се и значителна редукция в броя на поемащите контраст Gadolinium активни лезии на първи и втори месец от курса със стероид. Съществен момент е фактът, че по-малка вариабилност по отношение на BFV се отчита при пациентите, третирани с интерферон-бета. Това вероятно се дължи на по – малък брой възпалително активни оточни лезии.

Изследване на ефекта от включване на интерферон бета-1a (IFN β -1a 44 μ g SC tiw) като ИМТ при пациенти с ПРМС установява значителна редукция на общия мозъчен обем в края на 3-ия месец след започване на лечението. Изследване в края на 6-ия месец отчита почти липса на ефект за периода от 3-ия до 6-ия месец. Резултатите потвърждават предшестващи изследвания и насочват вниманието към така наречената „псевдоатрофия“. Установява се и намалена експресия на проинфламаторен цитокин IL-17 от Т-клетките, която корелира със степента на редукция на общия мозъчен обем (WBV) и на обема на сивото мозъчно вещество (GMV). Тези данни са съвместими с противовъзпалителен ефект на IFN β -1a, който довежда мозъчния обем до нива преди началото на възпалителния процес. Така също са съвместими с интерпретацията, че „псевдоатрофията“ като феномен се предизвиква от свързани с възпалителния процес динамични промени, а не с развитие на тъканна деструкция. (13,78,166)

Този факт поставя като необходимо условие отчитане на три месечен период от стартиране на терапия с интерферон като прозорец, в който получените данни за мозъчния обем да се интерпретират като псевдоатрофия – медикаментозен ефект върху активността на възпалителния и автоимунен процес със съответно намаляване обема на оточните активни лезии. Сравняване и изследване на промените в обема поотделно за сивото мозъчно вещество и за бялото мозъчно вещество отчитат по – съществена промяна на обема за сметка на GM.

В светлината на тези данни, оценка на терапевтичния ефект по отношение на мозъчната атрофия чрез МРТ изследване, трябва да се провежда поне три месеца след началото на лечението.

1.6.3. МЕТОДИКИ ЗА ИЗМЕРВАНЕ НА МОЗЪЧНАТА АТРОФИЯ

МРТ методите за оценка на мозъчната атрофия позволяват да се проследи процеса на невродегенерация и да се търсят корелации с прогресията на инвалидизацията при MS (13,38). Прилагат се мануални, полуавтоматични и автоматични методи.

Истинската атрофия е следствие от загуба на тъкан, която се изразява в загиване на олигодендрцити, астроцити, дегенерация на аксони и загуба на миелин (13). При изследване на мозъчната атрофия е необходимо да се вземат предвид промените в обема на мозъчни структури, които са следствие от флукуиращо водно съдържание, повлияно от възпалителна активност и приложение на кортикостероиди. Интерпретацията на получените резултати се затруднява и поради развитието на реактивна глиоза (13). Промените в мозъчния обем, които се установяват при МРТ изследване, са отражение на динамичен процес на нарастване или намаляване на обема на мозъчни структури. В този процес на даден етап може да преобладават възпалителни, невродегенеративни или ремиелинизираци промени. Отражение имат и прилаганите противовъзпалителни и невропротективни медикаменти.

За научни и изследователски цели се прилагат мануално измерване на общ и регионален мозъчен обем (сиво вещество, таламус, корпус калозум, путамен), обем на вентрикули (трети и латерални) (42). Може да се измерват бяло и сиво мозъчно вещество, мозъчна паренхимна фракция (съотношение на мозъчния паренхимен обем към общия обем в повърхностния контур на мозъка), съотношение на мозъка към интракраниалния капацитет (съотношение на мозъчния паренхимен обем в повърхностния контур към вътрешната маса на черепа). Най – рано се установява атрофия на сивото мозъчно вещество (13,69). Общата мозъчна атрофия, установена в ранните стадии на заболяването е предиктор за развитие на когнитивни нарушения (13,36).

Най – често прилаганите образни изследвания за регистриране и измерване величината на мозъчната атрофия *in vivo* са КТ и МРТ. И двата типа изследване позволяват получаване и сравняване на множество образи във времето с цел установяване наличие и прогресия на процеса. Това са неинвазивни методики, предоставящи дигитална информация, която позволява последващо анализиране на получените образи с помощта на математически и статистически методи, като например *shape quantification* и *multivariate analysis*. Изследванията предоставят възможност за количествено измерване на маса, обем, форма на анатомични структури (напр. хипокамп).

1.7. ПРИЛОЖЕНИЕ НА КОНВЕНЦИОНАЛНАТА МРТ ПРИ МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА

Конвенционалната МРТ (кМРТ) е метод за регистриране на лезии на демиелинизация при МС (13). Промените в ЦНС, визуализирани с различните изобразявания при конвенционална МРТ обаче са характерни, но не и специфични за множествена склероза. Подобен образ и лезии се установяват при мозъчен васкулит, саркоидоза, невролуес.

При 1-2% от пациентите изследването на главен и гръбначен мозък може да не визуализира лезии на демиелинизация при налично заболяване МС. С помощта на кМРТ може да се проследи дисеминиране на лезиите във времето и пространството. Това е причината МРТ промените да се приложат като ключови критерии за уточняване на диагнозата МС (13,26). С тяхна помощ тя може да бъде уточнена още след първи пристъп на заболяването.

Методиката визуализира изменения в зони на демиелинизация. Те са следствие от променено водно съдържание в плаките: по – голямо количество водни молекули и по – малко количество липиди в сравнение с останалото мозъчно вещество. Регистрират се промени в интензивността на сигнала, които се трансформират в образ. Промяната във водното съдържание се визуализира като хиперинтензна Т2 зона и е следствие от патологичен процес, свързан с възпаление и тъканна деструкция или глиоза на бялото мозъчно вещество (13,48).

Т2 усилване се наблюдава при всяко нарушение в състава на мозъчната тъкан. Образът не корелира с определена хистопатологична находка. Конвенционалната МРТ не диференцира специфични за демиелинизацията тъканни промени. Не отчита наличие на нормален или патологичен миелин. Чрез промените в интензитета при Т2 усилването се отчитат промени в относителните количества на интра и екстрацелуларната течност в нервната тъкан. Т2 усилване се установява при патологичен процес като оток, възпаление, исхемия или демиелинизация, която настъпва вследствие действие на различни агенти (вирусен, автоимунен, съдов процес и др.) (13).

Ето защо не може да се твърди, че наличие на хиперинтензни T2 лезии при кМРТ-изследване е специфичен образ за МС. Хроничните лезии не са специфични. Може да се твърди, че поява на нови хиперинтензни при T2 усилване лезии е показател за развитие на възпаление въобще. Нарастването на броя или размера на T2 лезиите е маркер за разрастване на възпалителния процес. От гледна точка на МС, динамика в образа на лезиите като поява на нови, нарастване на налични и възвратни лезии говори за активност на патологичния процес, съответно на заболяването. Тези лезии се наричат активни. Използват се като диагностичен критерий за диференциална диагноза. Корелацията между МРТ лезиите, клиничната находка и клинично установената инвалидност е умерена (48). В този смисъл МРТ находката не може да се прилага като критерий за промени в терапевтичното поведение при имуномодифицираща терапия (12,13).

1.7.1. ОГРАНИЧЕНИЯ НА кМРТ И НА T2 ИЗОБРАЗЯВАНЕТО

Находката при конвенционална МРТ може да не корелира с клиничното състояние на пациента. Една от причините е трудното диференциране на демиелинизирана от ремиелинизирана плака. Приложението на контрастна материя Gadolinium се използва за визуализиране на плаки с активен възпалителен процес поради преминаване на контрастното вещество през компрометираната КМБ (13). Не всички нови плаки (спрямо момента на изследването) се усилват след приложение на контраст, особено при пациенти с първично-прогресивна форма на болестта. Усилването с контраст предоставя информация за промени в проникваемостта на КМБ, т.е. корелира с активността на възпалението. Приложението на контраст при оценка на нови плаки, разграничава нови активни и реактивирани от по-стари лезии (13,48). Визуализира се при T1. Демиелинизираните лезии, както и частично ремиелинизираните лезии се виждат хипоинтензни на T1 и хиперинтензни на T2. Частично ремиелинизираните лезии изчезват от T1, но продължават да са хиперинтензни на T2 (поради нарушено равновесие на водните молекули в миелин и екстрацелуларно пространство) (48). След време повечето лезии прогресират в T2 поради наличие на хронична тъканна деструкция и глиоза.

T2 изобразяването говори за наличие на „лезия“ като следствие от патологичен процес, съпроводен с промени във водното съдържание и неговото разпределение интра /екстрацелуларно (13). Диференцирането на плаки на демиелинизация при МС от други подобни при T2 усилване е въз основа на тяхната форма и локализация в ЦНС. Лезиите при МС са с характерна овоидна форма, предимно перивентрикуларно разположени (по хода на миелинизираните аксони), перпендикулярно на вентрикулите, поради

факта, че са перивенозни зони на демиелинизация. По T2 образ на МС плака, дефинирана като такава според критерии в ревизираната версия на Polman, не може да се прецени дали се касае за плака в етап на демиелинизация или с текущ процес на ремиелинизация (184). Плаки с процес на ремиелинизация също се визуализират като хиперинтензни на T2 усилване поради по – тънката миелинова обвивка. Лезиите с демиелинизация изглеждат хиперинтензни във всички етапи от развитие на възпалителния тласък. В ранен стадий преобладава възпалението. В късен стадий преобладава тъканната деструкция и глиозата. Етапите и кореспондиращите тъканни промени не могат да бъдат диференцирани чрез кМРТ T2 образ (13). Ограниченията на T2 усилването се представят като невъзможно изобразяване на нарушените клетъчни компоненти в областта на лезиите – загуба на олигодендрцити и аксони, промени в микроглия, наличие на макрофаги и активирани астроцити. Тези клетки имат съществена роля в патофизиологичния автоимунен възпалителен процес. Те са от значение за степента на увреда на тъканта и прогнозата на заболяването. В този смисъл МРТ находката не може да се прилага като критерий за промени в ИМТ.

Конвенционалната МРТ не може да визуализира корови лезии, както и промени в сивото мозъчно вещество. Друго ограничение на T2 изобразяването в контекста на новите знания по отношение на патофизиологичния процес при МС е невъзможното изобразяване и оценка на дифузни промени в нормално изглеждащото бяло мозъчно вещество (NAWM). Тази информация е съществена за прогнозиране прогресия на болестта (13).

Приложението на неконвенционални МРТ методики дава информация за развитие на патологични промени с дифузен характер в NAWM и в GM.

1.7.2. НЕКОНВЕНЦИОНАЛНИ МРТ МЕТОДИКИ

Неконвенционални МРТ методики доказват развитие на патологичен процес с дифузен характер в NAWM и DAWM, като предоставят качествена и количествена характеристика на промени на клетъчно ниво (243). Съвременни неконвенционални МРТ методики за изследване на невродегенеративни промени и мозъчна атрофия са МРТ волуметрия и протонна магнитнорезонансна спектроскопия.

- МРТ методи за изследване на промени в обем – мозъчна волуметрия (brain volumetry). Доказват дегенеративен процес при МС и насочват изследователските търсения в друга посока.

- МРТ методи за проследяване на метаболитни промени, включително преди етапа на възпалителна демиелинизация – имунохистохимия, спектроскопия.

Приложението на тези методики обаче все още не е рутинна практика.

Мозъчната волуметрия е неинвазивен МРТ подход за невроизобразяване на мозъчни структури *in vivo*. Това е триизмерна методика за обработка на МР сигнали от тъканта. Методиката позволява количествено представяне на невродегенеративни промени в мозъчни структури. Истинската загуба на тъкан е свързана със загиване на неврони, олигодендроцити, ретракция на аксони, дендрити, загуба на миелин (13). Получените образни данни впоследствие се подлагат на математическа и статистическа обработка. Използват се мануални, полуавтоматизирани и напълно автоматизирани методи за измерване на обем на мозъчни структури. Измерват се: глобален мозъчен обем, обем на трети и латерални вентрикули, мозъчна кора, структури на дълбоко разположено сиво мозъчно вещество – thalamus, hippocamp, corpus callosum, putamen, nucleus caudatus, amigdala, nucleus acumbens. Информацията извлечена при хипокамп-волуметрия с автоматичната сегментация на хипокамп чрез 3-D МРТ позволява математическа и статистическа обработка на данните за форма и обем на структурата. Данните за промени в мозъчния обем следва да се интерпретират внимателно. Обемът на изследваните структури флукутира под влияние на динамика във възпалителната активност, приложение на противовъзпалителни (кортикостероиди) и имуномодулиращи медикаменти. Мозъчната волуметрия се прилага за потвърждение на диагноза, за изучаване на патогенетичен механизъм, за проследяване прогресия на болестта, за мониториране на терапевтичен ефект.

Vibrational spectroscopy (185) – Coherent anti-Stokes Raman Scattering (CARS) е методика за детекция на обширни биохимични промени, засягащи миелина, които не могат да бъдат регистрирани с конвенционални методи. Методът позволява да се изследват промени в липидите на миелина в зони, отдалечени от МС плаките в пост-мортем тъканни проби. Тези промени вероятно отразяват най – ранните етапи и събития, които могат да предизвикат възпалителна демиелинизация. CARS методът доказва наличие на липидни нарушения в миелина на NAWM. Включително в области твърде отдалечени от лезии на демиелинизация, тоест без ефект от имунна токсичност, провокирана от клетки, цитокини и свободни радикали. Това налага идеята, че плаките на демиелинизация са най-очевидната манифестация на изключително дифузен патологичен процес.

Протонната магнитно резонансна спектроскопия (ПрМРС) е метод, при който се записват сигнали, отразени от протоните на органични молекули –

метаболити в ЦНС. Техните концентрации са 1000 пъти по – ниски от тези на водата в тъканите (13). Поради тази причина изобразяването, базирано на сигнал от протони в тези метаболити, е с много по – ниска резолюция. Методът осигурява химикопатологична тъканна специфичност на образа *in vivo*, представена чрез измерване концентрации на определени метаболити.

Нормалният спектър на мозъка се представя с три резонансни пика на съответни метаболити. Първият пик се оформя от тетраметил амините (Cho), които са предимно холинови фосфолипиди. Те са компоненти в синтеза и разграждането на клетъчните мембрани. Втори пик се оформя от съдържанието на креатин и фосфокреатин (Cr). Те участват в енергийния метаболизъм. Третият пик е на N-ацетиловите групи (NA), които обхващат невронно локализираните N-ацетиласпартат (NAA). Четвърти пик може да се оформи, особено при патологичен процес, от лактати и липиди (LA). Специфичността на увреждане на невроните, аксоните и дендритите се получава чрез използване на невронния маркер NAA. Намалването на NAA служи като маркер за невроаксонна загуба и отразява промени във функционирането на невроните (13). Промените в Cr, който се съдържа в неврони и глия, са показателни за:

- невроаксонна увреда (намаляват NAA и Cr сигналите)
- нарушение на олигодендроглията (намаляват Cr сигналите)
- астроцитна пролиферация (нарастване на Cr сигналите) (13)

За анализ се използват промените в съотношенията NAA/Cr, NAA/Cho и Cho/Cr и тяхната динамика.

1.8. ПРОТОННА МАГНИТОРЕЗОНАНСНА СПЕКТРОСКОПИЯ ПРИ МНОЖЕСТВЕНА СКЛЕРОЗА

През последните 25-30 години МР изобразяване се възприе като важен и съществен метод за уточняване на диагнозата множествена склероза, както и за проследяване на заболяването *in vivo*. С напредване на техническите възможности се доказа, че освен визуализиране на лезии на демиелинизация и отчитане на техния брой и обем, както и промени в обема на мозъчни структури, могат да бъдат изобразени и проследени много други патофизиологични промени в нормално изобразяван на кМРТ мозъчен паренхим (NAWM), както и в мозъчната кора. Знание, което промени възгледите за патофизиологичния процес на МС, за участниците в патофизиологичните механизми и за последствията от развитие на заболяването. Чрез прилагане на количествени МР методи и патоанатомични изследвания се доказаха промени в NAWM и мозъчна кора (48). Така се установи, че невродегенерацията, представена като деструктивни промени със загуба на аксони в рамките на лезиите, е отчетливо застъпен процес.

Разпространението на този дегенеративен процес варира с различна тежест в различните лезии, но е особено добре застъпен при прогресивните форми на МС (142). Този факт определя схващането, че степента на инвалидизация се определя от загубата на аксони, т.е. от процеса на невродегенерация, а не от разпространението на лезиите.

Конвенционалната МРТ е изключително чувствителен метод за визуализиране на плаки на демиелинизация в главния и гръбначен мозък (13). Изследването е с малка специфичност по отношение на патологичните промени. Друг недостатък на изследването е ограничената възможност за регистрирането на дискретни, свързани със заболяването, промени в бялото мозъчно вещество, което е с нормален вид и без плаки на демиелинизация.

Проучвания през последните години изучават промените, които настъпват в мозъчния паренхим при МС извън плаките на демиелинизация. В NAWM се установяват увреда на аксони, без маркери за демиелинизация, активиране на микроглия и астроцити, възпалителни промени с ниска интензивност. Тези данни насочват вниманието върху ролята на невротоксичните механизми и свързаната с тях клетъчна апоптоза, дисконекция и атрофия.

Ограниченията на кМРТ метода могат да бъдат преодолени до известна степен чрез комбиниране на конвенционална МРТ с протонна магнитно резонансна спектроскопия. Методът е неинвазивен диагностичен тест за установяване и представяне в количествен и качествен аспект на биохимични промени в мозъчната тъкан. Изследването оценява тъканни биохимични, т.е. метаболитни промени. При този метод се изследват протони в органични молекули на жива тъкан, а не тези на водата. Постига се по – висока специфичност на проведените изследвания по отношение на патологичния процес, довел до съответната тъканна увреда. Биохимичните промени предшестват анатомичните микро и макроизменения. Протонната МРС може да регистрира метаболитна динамика много преди появата на плаки на демиелинизация, доловими на кМРТ, дори в сравнение с провеждане на образно изследване, усилено с контрастна материя. Методът позволява и проследяване на редица патологични процеси чрез регистриране на промени в техни характерни метаболитни маркери: N-acetylaspartate и N-acetylaspartylglutamate (tNAA) – маркер за невро-аксонален интегритет, creatine и phosphocreatine (tCr) – предполагаем маркер за клетъчна пролиферация, choline-съдържащи съединения (Cho) – участници в мембранния търновер в отделните фази на патологичния процес при МС, myo-inositol (Ins) – маркер за глиална (астроцитна) пролиферация, glutamate (Glu) и glutamine (Glx) – представят глия-неврон метаболизма и lactate (Lac) – маркер за неоксидативна глюкозна утилизация. Промените могат да се

регистрират в различен времеви интервал и да се проследят активация или затихване на патологичния процес.

ПрМРС за първи път е приложена от две групи изследователи. Moon и Richards (1973) използват фосфор-31 за да изследват интактни еритроцити. Hoult et al прилагат P-31 МРС за да изследват ексцизиран мускул от крак на плъх през 1974 г. ПрМРС позволява да се изследва наличие и концентрация на голям спектър метаболити в мозъчна тъкан. Принципът на изследването е дистрибуцията на електрони около ядрото на атомите, която определя различен ефект от въздействие на магнитно поле върху ядрата в различните молекули. Това провокира различни честоти на резонанс на полето, което от своя страна връща различен сигнал. Техниката е идентична с тази при нуклеарния магнитен резонанс (NMR), използван в аналитичната химия, но често пъти *in vivo* NMR се нарича МРС. МР спектър може да се регистрира от всяко NMR-активно ядро, което е всъщност ядро с ненулев спин. Най – често се регистрират протони, въглерод-13, фосфор-31, натрий-23. В клиничната практика единствено протонният спектър е съществен. Той позволява разграничаване на метаболитните профили *in vivo*.

Честотите на изследваните метаболити се измерват в единици, наречени parts per million (ppm) и се представят графично като пик с различна величина за различните метаболити. Чрез замерване на всеки пик в ppm за съответния метаболит, и след сравняване с нормалната мозъчна тъкан, неврорадиологът може да определи типа на изследваната тъкан – NWM, NAWM, DAWM (48). Резонансните честоти на отделните метаболити, представени с пик, са съответно:

- Лактат (Lactate) – 1.3ppm
- Липиди (Lipids) – 1.3ppm
- Аланин (Alanine) – 1.48ppm
- N-ацетиласпартат (N-acetylaspartate (NAA) – 2.0ppm
- Глутамин/Глутамат (Glutamine/glutamate) – 2.2-2.4ppm
- Гама-аминомаслена киселина (ГАМК) (Gama-aminobutyric acid GABA) – 2.2-2.4ppm
- 2-хидроксиглутарат (2-hydroxyglutarate) – 2.25ppm
- Цитрат (Citrate) – 2.6ppm
- Креатин (Creatine) – 3.0ppm
- Холин (Choline) – 3.2ppm
- Миоинозитол (Myo-inositol) – 3.5ppm
- Вода (Water) – 4.4ppm

ПрМРС е единственият метод, специфичен за увреждания на определени клетъчни типове (13). При МС пациентите интерес представлява

измерването на органичните молекули холин, креатин, N-ацетиласпартат, глутамат и миоинозитол.

1.8.1. МЕТАБОЛИТНИ ПРОМЕНИ ПРИ МС, УСТАНОВЕНИ С ПрМРС

ПрМРС изследване при пациенти с множествена склероза установява намалени стойности на съотношението NAA/Cr (по – нисък пик) в плаките на демиелинизация (13). По – ниски стойности на NAA/Cr и увеличени стойности на Cho/NAA се измерват в нормално изглеждащото бяло мозъчно вещество в сравнение със здрави контроли (66,101,219). Промените се установяват на ранен етап от развитие на болестта (50).

Интересен факт е установяването на по-изразени промени като отчетливо намаляване на съотношението NAA/Cr в NAWM при пациенти с прогресираща форма на заболяването (13). Месеци преди визуализиране на плака при конвенционално МРТ изследване, в NAWM с помощта на ПрМРС се установява локално увеличение на холин и липиди, Това се приема като маркер за абнормност на клетъчните мембрани (13). Повишените нива на холин, лактат и липиди се приемат като показател за наличие на активен възпалителен процес и демиелинизация

Намалено съотношение NAA/Cr се установява и в областите на нормално изглеждащо сиво мозъчно вещество – зони без възпалителна инфилтрация (66).

Намалените стойности, измерени перивентрикуларно, корелират с когнитивните нарушения, с давността на заболяването и със степента на инвалидизация (13,48).

При пациентите с МС са установени три типа метаболитен патерн: на остри и хронични плаки на демиелинизация, и на нормален мозъчен паренхим (бяло мозъчно вещество извън зони на демиелинизация). Патологичният процес при МС преди поява на нова плака се съпровожда с повишен миоинозитол, холин, лактат и липиди в NAWM. Промени в нивата на Cho се установяват 12 месеца преди визуализиране на плака на демиелинизация при кМРТ. Повишената концентрация на холин-съдържащи метаболити се свързва основно с процес на възпаление, а не с промени на демиелинизация (220). След поява на плака на демиелинизация се отчита по – нататъшно увеличение на Cho, Cr и LA. Промени в нивата на лактат като мозъчен метаболит се свързват с остър възпалителен процес. Това е първата стъпка в еволюцията на фокус на демиелинизация. Намалената концентрация на NAA вероятно отразява невронна дисфункция, а не загуба. Метаболитните промени са най – отчетливо представени в центъра на плаката, но се разпростират и в околното NAWM. Тези промени по отношение на NAA

персистиращи и в хроничните плаки. Увеличените нива на Cho и Cr също може да персистират, докато нивото на LA се възстановява към нормата (13). Метаболитните промени в хронични плаки се отличават със значително повишени нива на Cr и значително намалени нива на съотношението NAA/Cr. Промените са по – отчетливи при ППМС в сравнение с ПРМС (187).

ПрМРС предоставя уникална информация, която допълва данни получени и от други съвременни МР изобразяващи методики като Diffusion tensor (DT) MR imaging. Методиката предоставя по – детайлна и специфична по отношение на патологичните промени информация. Това позволява по – пълно разбиране на патогенетичните механизми, по – прецизна оценка на тежестта на заболяването, определяне на прогноза при отделния пациент, и обективна оценка на ефикасността на терапевтичните стратегии.

1.8.2. NORMAL APPEARING WHITE MATTER

Плаките на демиелинизация са широко проучвани от 1868 г. насам след научните съобщения на Charcot. Основните патологични характеристики са комбинация от възпаление, фокална демиелинизация, ремиелинизация, глиоза с оформяне на цикатрикс, и различни степени на аксонална деструкция. Описаните промени са отчетлив маркер за увреда на ЦНС. Околната мозъчна тъкан, традиционно означавана като нормално изглеждащо мозъчно вещество излезе на преден план в изследователския интерес с появата и прилагането на нови МРТ техники (T1 и T2 relaxation times RT, reduced magnetization transfer ratios MTR, diffusion tensor imaging DTI) и установяването на скрити тъканни промени. Корелативни изследвания на данни от МРТ и имунохистохимия демонстрират, че тъканните нарушения зависят като характеристика от своята близост до плаки на демиелинизация. Те варират от оток на аксони до увеличен брой активирана микроглия/макрофаги в областите, отдалечени от лезията (138,185). Установяват се понижени MTR, предшествващи оформянето на лезия. При пациенти с относително малък лезионен товар, се установяват белези за прогресивна мозъчна атрофия. Този факт доказва наличие на много по – мащабен патологичен процес с ангажиране на NAWM. Нови лезии се установяват в рамките на NAWM дори преди да се развие свив във проникваемостта на КМБ (138). NAWM е тъкан без зони на демиелинизация, която при T2 кМРТ изобразяване се представя с интензитет на сигнала идентичен с NWM при здрави индивиди (243). Взети заедно всички тези наблюдения предполагат патология, която е много по – обширна и извън рамките на плаките на демиелинизация. Миелиновите обвивки са високо структурирани с около 70% липидно съдържание в сухо вещество. Липидите са в прецизно балансирано равновесие с основните миелинови протеини при

формиране на миелиновата обвивка. Липидите са много по – малко изучавани в сравнение с миелиновите протеини поради тяхната висока хидрофобност и широк спектър на видове. Липидната съставка на миелина при МС се отличава от тази при здрави индивиди. Представяни са данни за намалени нива на фосфолипиди – цереброзиди, сулфатиди, сфинголипиди. В контраст, продукти от разпад на холестерол като холестеролови естери са увеличени в мозъчна тъкан на МС пациенти. Тези данни могат да се интерпретират като нарушения в липидния търновер. Възможно е да са критично важни събития в патогенетичния процес, чиято кулминация да се явява демиелинизацията.

1.8.3. DIFFUSELY ABNORMAL WHITE MATTER

DAWM – “*diffusely abnormal white matter*” или “*dirty-appearing white matter*”. Терминът се свързва с находката при T2 МРТ образи на мозъчна тъкан при МС пациенти. Конвенционалното T2 изобразяване при изследване на пациенти с МС, освен плаки на демиелинизация в бялото мозъчно вещество и нормално изглеждащо бяло мозъчно вещество, кореспондиращо на NWM при здрави индивиди, често визуализира абнормни дифузни промени в интензитета на сигнала в зони без плаки на демиелинизация. Описаните дифузни промени не са в съображение при определяне на радиологичните критерии, възприети за уточняване на диагнозата МС. Тези области имат неясни граници и сигнален интензитет, който е съвсем леко по – висок от този на NAWM, но по – нисък в сравнение с този на МС плаките. Обозначават се като DAWM (52,103,168,204,234,235). Проучвания допускат, че DAWM може би е отделна патологична единица. Предполага се, че DAWM е хроничен процес, следствие от Валерова дегенерация, вторична на WM лезии (168) и има своята хистологична картина (84,85). Промените в DAWM може да са маркер за прогресия на болестта.

Съвременни МРТ методики като DTI, quantitative magnetization transfer imaging (qMTI), quantitative magnetic resonance imaging (qMRI), quantitative magnetic resonance spectroscopy (qMRS) се прилагат за характеризирани и количествено измерване на промените в DAWM.

1.8.4. КЛИНИЧНО ПРИЛОЖЕНИЕ НА ПрМРС

ПрМРС предоставя уникална, детайлна и специфична по отношение на патологичните промени информация, която допълва данни получени от други съвременни МР изобразяващи методи.

ПрМРС изследването отнема 10-15мин. и може да се прибави към протокола на кМРТ. Намира приложение за изследване и регистриране на промени в мозъчния метаболизъм *in vivo*, проследяване на биохимичните

промени при нормално стареене, при заболявания като инсулт, епилепсия, метаболитни заболявания, инфекции и невродегенеративни заболявания (87, 127). Методът се прилага при определяне на тип и агресивност на мозъчни тумори, както и при диференциална диагноза между рецидив на тумор и радиационна некроза. Най – често се измерват нива на следните мозъчни метаболити:

Табл.1. Мозъчни метаболити, регистрирани с ПрМРС и техните функции в централна нервна система

Пик на резонансна честота Ppm	метаболит	маркер
0,9-1,4	липиди	продукт от увреждане на мозъчна тъкан
1,3	лактат	продукт на анаеробна гликолиза
2,0	N-ацетиласпартат	невронален маркер
2,2-2,4	глутамин/ГАМК	невротрансмитер
3,0	креатин	маркер за енергиен метаболизъм
3,2	холин	маркер за клетъчен мембранен търновер
3,5	миоинозитол	маркер за глиални клетки, осмолит

Възможно е проследяване на показатели като етанол, аланин, глюкоза и манитол (118). Всеки от посочените метаболити има специфичен ppm и отразява специфичен клетъчен или биохимичен процес. NAA е невронален маркер. Това е аминокиселина, локализирана изключително в неврони, аксони и дендрити (163). Нивото му се понижава при процеси, нарушаващи обратимо невронния интегритет. Cr е маркер за енергиен резерв и за клетъчен метаболизъм. Чрез него се отчита клетъчната активност. Cho е маркер за повишен клетъчен търновер и се увеличава при развитие на туморни или възпалителни процеси в ЦНС. Измерените нива на Cr и Cho отразяват процеси в неврони и глия (163). Множество мозъчни метаболити, както и ключови невротрансмитери като acetylcholine, dopamine и 5-НТ не се регистрират в спектъра на замерваните вещества поради много ниска концентрация и ограничения на метода. Клинична оценка на регистрираните данни се извършва чрез отчитане на съотношенията между определени метаболити като NAA/Cr, NAA/Cho и Cho/Cr и тяхната динамика (219).

На следващата таблица се представят установените норми за съотношения на отделни метаболити, измерени в сивото и бялото мозъчно вещество. Основна разлика в метаболитния патерн между GM и WM е по – високото ниво на креатин в сивото мозъчно вещество.

Табл. 2. Мозъчни метаболити, регистрирани с ПрМРС, представени като съотношения със съответни референтни стойности

	НОРМА	АБНОРМНИ СТОЙНОСТИ
NAA/Cr	2,0	<1.6
NAA/Cho	1,6	<1.2
Cho/Cr	1,2	>1.5

1.9. МОЗЪЧНИ МЕТАБОЛИТИ, РЕГИСТРИРАНИ С ПрМРС-ИЗТОЧНИЦИ И ФУНКЦИИ

1.9.1 N-АСЕТЫЛАСПАРТАТЕ

ПрМРС е количествена МР техника за повишаване чувствителността на конвенционалната МРТ чрез допълване на МР образите със специфична метаболитна информация. N-acetylaspartate ключов метаболит, който се открива почти изключително в невроните и в техните израстъци. Установява се в олигодендроцитите и миелина. Поради тази причина NAA се приема като маркер за състоянието на невроните в ЦНС. Конвенционалната МРТ е изключително чувствителна методика за визуализиране на морфологичните промени. Техниката е с ограничени възможности по отношение на патологична специфичност и чувствителност към микроскопски нарушения в NAWM. Това е причината ПрМРС да се прилага за добиване на специфична биохимична информация чрез определяне нива и промени в нивата на няколко измервани неврометаболита. Методиката предоставя уникална информация за метаболитните промени в NAWM (219).

N-acetylaspartate е дериват на аминокиселината аспарат. Установен е през 1956 г. от Tallan et al. Следи от NAA се откриват още в черен дроб, бъбрек, мускули, олигодендроцитни прогениторни клетки. В резултат на почти изключително невронното тъканно представяне NAA се приема като маркер за невронно здраве. Установено е, че освен при болестта на Canavan, където се откриват увеличени нива на NAA, концентрацията на NAA се понижава при всички заболявания на ЦНС. В допълнение към данните от ПрМРС, постмортални биопсии на плаки на демиелинизация при пациенти с MS също установяват понижени нива на NAA.

Синтезира се в митохондриите чрез ацетиране на свободен аспарат с ацетил-коензим А с помощта на ензим L-aspartate-N-acetyltransferase. Произведената в невроните NAA се транспортира в олигодендроцитите, където участва в синтеза на миелин при освобождаване на ацетат.

В олигодендроцитите се експресират липогенни ензими. Такъв ензим е aspartoacylase (ASPA). Ензимът катаболизира NAA като отцепва ацетат, необходим за синтез на мастни киселини и стероид. По този начин се осигуряват градивни елементи за синтез на миелинови липиди. В допълнение към процеса на постнатална миелинизация, при възрастните NAA има и други функции като биоенергетична роля в митохондриите на невроните и поддържане на йонния баланс.

Основните хипотези за ролята на NAA са: 1. Осмолит за извеждане на вода от невроните и поддържане на водния баланс в мозъка; 2. Източник на ацетат при синтез на липиди и миелин от олигодендроцитите – глиални клетки, които миелинизират аксоните на невроните; 3. Допринася за енергийния синтез в митохондриите при метаболизиране на глутамат; 4. Прекурсор за N-acetylaspartyl glutamate; 5. Лиганд за определени метаботропни глутаматни рецептори, което определя неговата роля като невротрансмитер.

Поради факта, че се разполага доминиращо в невронното клетъчно тяло, NAA се приема за невронален маркер. Това е втората най – разпространена аминокиселина в човешката ЦНС след глутамат. Съставя до 0.1% от мокрото тегло на мозъка. Трите протона в метиловата група на молекулата на NAA оформят най – отчетливия пик на ПрМР спектрограма – 2,02 ppm при здрав мозък. NAA може да бъде маркер за креативност. Високите нива на NAA в хипокамп са свързани с по-добро функциониране на работната памет при хората.

Обширни ПрМРС проучвания с цел характеризирание метаболитния профил на МС лезиите, на NAWM и на NAGM, разкриват загуба на NAA във всички тъкани. Това потвърждава дифузияния характер на патологичния процес при МС. Данните се потвърждават и от първото проучване на нивата на NAA в целия мозък (WBNAА), което демонстрира възрастово зависим дефицит при пациентите с МС (ПРМС и ППМС) в сравнение с възрастово съответни здрави контроли. Тази зависимост вероятно е следствие от сходната възраст на начало на заболяването, трансформирайки „възраст“ на пациентите в „продължителност на заболяването“.

Въпреки че плаките на демиелинизация и атрофията са краен етап на комплексния патологичен процес, лезиите не отразяват същността на процеса на промяна в нивата на NAA. При сравнение на WBNAА нивата и атрофията като функция от продължителността на заболяването при група от 42 пациента с ПРМС се установява 3,5 пъти намаляване нивото на NAA по-бързо в сравнение с развитието на атрофия. Този факт предполага, че невронната клетъчна увреда предшества атрофията, и че дегенериращите неврони може да оставят след себе си празни миелинови обвивки. Това

определя WBNAА измерването като по-чувствителен индикатор за прогресията на болестта в сравнение с показателите „*натоварване с лезии*“ или „*атрофия*“.

Повече от столетие МС се възприема като болест на бялата мозъчна субстанция. Въпреки че през последните над 30 години се натрупват доказателства за ангажиране и на сивото мозъчно вещество от патологичния процес едва наскоро постмортално проучвания демонстрират наличие на кортикални и субкортикални лезии, които обикновено се пропускат от конвенционалното T2 МРТ изобразяване. В допълнение към тези данни, количествени МР измервания (като МTR и DTI) разкриват абнормни физически характеристики в NAGM. Съотношението на обемните фракции WM:GM на мозъка е приблизително 40:60. Концентрацията на NAA във WM е около 2/3 от тази на GM. Следователно WBNAА дефицит надвишаващ 20% трябва да отразява GM ангажиране от болестта. В действителност при 71 изследвани пациента с ПРМС, 13 демонстрират 40% по-ниски нива на WBNAА в сравнение с контролите. Тази загуба не може да се обясни с увреда и ангажиране само на WM. Може да се заключи, че е налице обширно ангажиране и на GM, дори в относително ранни пристъпно-ремитентни етапи от заболяването.

Наличието на малочислени клинични прогностични маркери при МС затруднява избора на терапия. Това превръща лабораторните методики в решаващи инструменти, предоставящи маркери за предвиждане и мониториране на хода на болестта при отделния индивид.

Потенциалната роля на WBNAА като маркер за прогресия е изследвана чрез проследяване и оценяване степента на понижаване на NAA при 49 пациента с ПРМС чрез определяне на разликата спрямо средната стойност при контроли, съобразено с продължителността на болестта. Така се очертават три ясно дефинирани подгрупи с различна степен на понижаване: около 15% от пациентите се дефинират като „*стабилни*“ (годишна загуба около 0%), 65% „*средна/умерена*“ скорост на прогресия (годишна загуба от 2.8%), и 20% са с „*бърза*“ прогресия с годишна загуба около 28%. Средната стойност на оценката по EDSS, която е клиничен маркер за инвалидност и прогресия на болестта при всяка от тези отделни подгрупи е 2.0, което посочва много слаба тежест на инвалидизация като цяло. Тези данни са потвърдени и при проучване на група от 20 пациента. Това означава, че те вероятно са характеристики на МС, кореспондиращи с известната епидемиология, описана от Weinshenker като „*доброкачествена*“, „*междинна*“ и „*остра*“. Тези резултати предполагат, че WBNAА може да се използва като чувствителен калибър и предиктор на клиничния ход на

болестта. Определянето на WBNAА може да помогне в процеса на избор и мониториране на терапевтичната опция.

Filippi et al. проучват колко рано в хода на болестта настъпват промени в WBNAА като провеждат изследвания при пациенти с клинично изолиран синдром (CIS), който предполага възможно развитие на МС. Установени са средно 20% по – ниски нива на WBNAА в сравнение с контролите (95). По отношение на връзката с лезиите на демиелинизация интерес представляват установените от колектива данни:

– Не се установяват разлики при сравняване на пациенти с или без контрастно усилващи се лезии (маркер за активност на възпалителните промени) при baseline МРТ, както и между пациентите с или без данни за дисеминация на лезиите във времето.

– Не се установява корелация на промените в WBNAА с обема на лезиите.

При повторение на измерванията след една година се установява средно 7% намаление на нивата на WBNAА при пациентите с CIS. Това потвърждава, че установената аксонална увреда е постоянен факт, а не преходно явление (95).

Тези резултати предполагат, че широко разпространена аксонална патология вероятно се развива дори в най – ранните етапи от заболяването, независимо от установявани и видими с кМРТ възпалителни промени. Тези промени са твърде мащабни за да бъдат обратими. Следователно аксоналната патология вероятно не винаги е краен етап от повтарящите се възпалителни събития.

WBNAА има потенциал да измерва количествено процеса на невродегенерация и на невро-аксонална дисфункция при редица заболявания на ЦНС. Техниката е особено атрактивна за заболявания протичащи с дифузно ангажиране на мозъчните тъкани.

ПрМРС може не само да установи ранни невро-аксонални промени и да предостави потенциален прогностичен индикатор за клиничния изход. Възможно е да предостави и сурогатен маркер за мониториране на невропротекцията при приложение на приети терапевтични технологии или на такива в етап на проучване.

1.9.2. КРЕАТИН

Креатин е азот-съдържаща органична киселина, която се открива естествено при гръбначните организми. Идентифициран е през 1832 г. В човешкото тяло се синтезира от аминокиселините glycine и arginine. Основната роля на Cr е да улеснява рециклирането на АТР, който е енергийната валута на клетката. Процесът се състои в рециклиране на ADP

до АТР чрез отдаване на фосфатни групи. Креатин изпълнява роля и на рН буфер в тъканите. Основният синтез на Cr се осъществява в черния дроб и бъбреците. От там се транспортира до скелетните мускули чрез кръвта. Осигурява се и чрез диета. Основното количество креатин и фосфокреатин се открива в скелетните мускули, останалата по – малка част е разпределена в кръвта, мозъка и други тъкани.

В процеса на биосинтез участие взема SAM, ензим от „*one-carbon cycle*” като метилов донор. Креатин може да се фосфорилира от ензима creatine kinase до phosphocreatine. Фосфокреатинът се използва като енергиен буфер в скелетните мускули и мозъка. Генетични нарушения в биосинтезата на креатин водят до различни тежки неврологични дефекти. Автозомно рецесивно предавани генетични нарушения по отношение на двата ензима от биосинтетичния път водят до развитие съответно на L-arginine: glycine amidinotransferase deficiency и guanidinoacetate methyltransferase deficiency. Генетично X-свързано нарушение засяга транспорта на креатин в мозъка.

1.9.3. МИОИНОЗИТОЛ

Миоинозитол или инозитол е цикличен въглеродород. Открива се в изобилие в мозъчната тъкан на бозайниците. Съдейства на клетъчната сигнална трансдукция в отговор на широк набор хормони, невротрансмитери и растежни фактори. Участва в клетъчната комуникация като компонент на клетъчните мембрани. Взема участие и в осморегулацията. Това е захарен алкохол, чиято сладост е наполовина в сравнение с тази на сукрозата (кристална захар). Синтезира се в човешкото тяло от глюкоза в различни тъкани. Най – висока концентрация има в мозъчната тъкан, където изпълнява роля за свързване на невротрансмитери и някои стероидни хормони към техните рецептори. В миналото миоинозитол е причисляван към групата на В витамините и отбелязван като витамин В8. Под формата на glycerophospholipids е съставна част на лецитин. Под формата на инозитол, неговите фосфати и асоциирани липиди, се открива в различни храни като плодове (портокали), ядки, фасул, зърнени култури.

Идентифицирани са следните функции на миоинозитол в човешкия организъм:

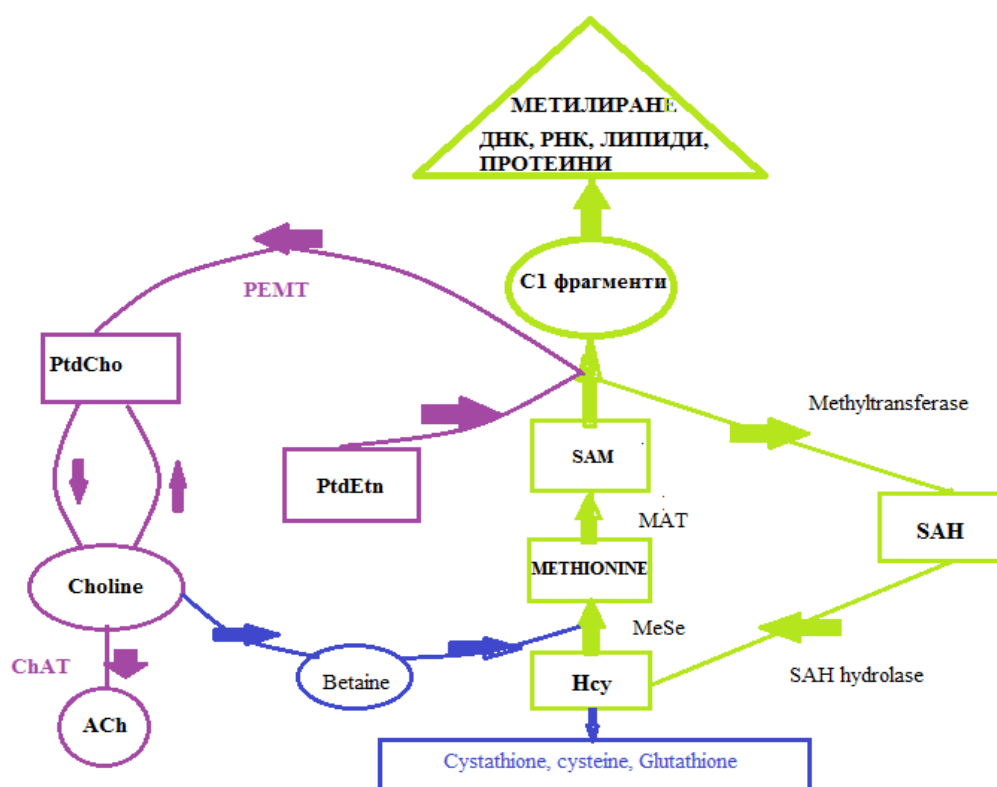
1. Инсулинова сигнална трансдукция – повишава инсулиновата чувствителност.
2. Сглобяване на цитоскелета.
3. Контрол на вътреклетъчната концентрация на калций.
4. Поддържане мембранния потенциал на клетката.
5. Катаболизъм на мазнини.
6. Генна експресия.

7. Участва в nerve guidance – чрез свързване към епсин (epsin) – мембранен протеин, ендоцитен адаптер, съществен за ендоцитозата на различни молекули. Епсин е съществен за мембранныя деформибилитет (формиране на мембранны кривини) в процесите на ендоцитоза. Блокира формиране на везикули в периода на митоза.

1.9.4. ХОЛИН

Обикновено се разглежда в групата на витамин В комплекс. Обозначаван е като витамин В4. Открит е през 1849 г. в жлъчка (гръцки: chole). В чист вид е изолиран през 1862 г. Синтезиран е за първи път през 1865 г. от Oscar Liebreich, под названието „неврин“. През 1898 г. се установява химическа идентичност с холин (249). Холинът е четвъртична амониева сол. Неговата йонна структура определя добра разтворимост във вода (500mg/ml).

Разтворимостта, химическата стабилност, поведението на холин спрямо биологични мембрани и неговите функции на ниво клетка и тъкан, го определят като вещество с роля надхвърляща функциите на витамините. Терминът „холини“ се прилага за обозначаване на група четвъртични амониеви соли, съдържащи N,N,N-триметилетаноламониев катион. Този катион се установява в състава на фосфатидилхолин и сфингомиелин – два класа фосфолипиди, които са основни компоненти при изграждане на цитоскелета в различни тъкани.



Фигура 2. Метаболизъм на холин в човешкия организъм. *PhdCho* – Phosphatidylcholine, *PhdEtn* – Phosphatidylethanolamine, *SAM* – S-adenosylmethionine, *SAH* – S-adenosylhomocysteine, *Hcy* – Homocysteine, *Ach* – Acetylcholine, *ChAT* – Choline-acetyltransferase, *PEMT* – Phosphatidylethanolamine-N- methyltransferase

Холин и неговите метаболити са основни участници в следните физиологични процеси:

1. Структурен интегритет и сигнална функция на клетъчните мембрани. Холин се явява компонент на фосфолипидите, изграждащи клетъчната мембрана (фосфатидилхолин и сфингомиелин). Участва във формирането на миелиновите обвивки на нервните влакна.

2. Холиергичната невротрансмисия. Холин е източник за синтез на ацетилхолин.

3. Метилиране на ДНК. Главен източник на метилови групи посредством своя метаболит триметилглицин (бетаин) (227).

Окисление на холин от митохондриална Choline dehydrogenase синтезира betaine aldehyde, който чрез последващо окисление в митохондриите чрез aldehyde dehydrogenase произвежда бетаин. Бетаин е кофактор в процесите на метилиране. В този смисъл е участник в синтез на

невротрансмитери като допамин и серотонин. Необходим е за метилиране на Нсу до метионин в „one-carbon cycle”. Метилирането е важен етап в производството на мелатонин и коензим Q. Последният е участник в електрон-транспортната верига на митохондриите (201). Бетаинът изпълнява роля на органичен осмолит (88,227,249). Стабилизира осмотичното равновесие в клетката. Взема участие в синтеза на основния метилов донор S-adenosylmethionine (SAM) (248,249). Съотношението SAM: SAH както и Cho: betaine са фактори в процеса на ДНК метилиране.

Бетаин е дериват на аминокиселина (N-trimethylated amino acid). Съдържа кватернерен азотен йон-положително зареден полиатомен йон NR₄. Кватернерните амониум йони са перманентно заредени, независимо от рН на разтвора. Те са нереактивни дори под въздействие на силни електролити, оксиданти или киселини. Деградирането на бетаин образува Trimethylamine, който е с миризма на разлагаща се риба.

Холин има комплексно отношение към метаболизма на метионин, фолиева киселина, витамин В12 и хомоцистеин (228). Това определя ключова роля в процеса на миелиногенеза не само като структурен компонент на фосфолипидите. Хомоцистеин е прекурсор на метионин. Метионин се образува по два алтернативни метаболитни пътя – или с помощта на метилови групи, извлечени от фолат, или чрез метилови групи, извлечени от бетаин. Бетаинът набавя своите метилови групи от холин. Промени в активността на един от двата пътя се компенсират с противоположни промени в активността на алтернативния път. Когато тези синтетични вериги не успяват да осигурят необходимото количество метилови групи за производство на метионин, серумните нива на прекурсора на метионин – хомоцистеин, се повишават. Набавянето с диета на холин или бетаин понижава нивата на хомоцистеин в кръвта.

Ролята на холин в процесите на метилиране повлиява генната експресия, включително в имунокомпетентни клетки. Това определя същественото му значение за активността на имунната система. При неадекватни на нуждите на организма концентрации на холин се регистрират промени в генната експресия на лимфоцитите с всички последици по отношение качеството на имунната активност, развитие на алергии, възпалителни процеси и онкогенеза (64,71,156,173). Редица проучвания демонстрират противовъзпалителен ефект на холин. По – високо съдържание на холин в диетата е свързано с по-ниски нива на възпалителни маркери в серум (проучване АТТІСА) (71).

Холин е изключително важен през ембриогенезата за изграждане на клетъчните мембрани, за доставяне на метилови групи за ДНК метилиране и за синтез на липопротеини. В периода на развитие на човешкия мозък (най-

интензивно през трети триместър и до пет-годишна възраст) холин е необходим за набавяне на сфингомиелин, който служи за изграждане на миелиновата обвивка на нервните влакна.

През този период холин е необходим и за синтез на ацетилхолин. АCh повлиява структурното развитие и функционална организация на отделните мозъчни дялове, повлиява неврогенезата, миелинизацията и синаптогенезата. Ацетилхолинът от плацентата може да подпомогне контрола на клетъчната пролиферация и диференциация. Това в частност означава нарастване на клетъчния брой и диференциране на плурипотентни клетки в такива с профилирани функции.

Концентрацията на холин в плацентата и амниотичната течност повлиява риска от нарушения в развитието на мозъка и правилното затваряне на невралната тръба. Намалява вероятността за поява на дефекти в развитието на ЦНС в процеса на ембриогенеза. Ефектът се осъществява посредством участие на холин в процесите на метилиране на ДНК (210,211,212). ДНК метилирането в периода на формиране и развитие на нервната система повлиява генната експресия и „*програмирането на фетуса*“. Това е процесът на базисно активиране на определени гени и деактивиране на други, заложено „*по принцип*“, в отсъствие на външни въздействия. При дефицит на холин се откриват завишени стойности на маркерите за ДНК увреда (167,249).

Ролята на холин в процесите на ембрионално развитие зависи от неговата концентрация. В условия на ниска концентрация холин се насочва с предимство за синтез на фосфолипиди и осигуряване на структурен интегритет. При високи концентрации свободният холин се трансформира в митохондриите на хепатоцитите в бетаин. Той от своя страна се използва като донор на метилови групи в процеса на метилиране на ДНК. Активността на холин синтезиращият ензим фосфатидилетаноламин-N-метилтрансфераза (PEMT) нараства при понижени нива на холин. Това осигурява около 30% от необходимия за организма фосфатидилхолин. Така се гарантира синтез на холин, независим от неговия прием с диетата. Синтезиращият фосфатидилхолин има структурни разлики по отношение съдържанието на дълговерижни ненаситени мастни киселини в сравнение с добития директно от холин.

По време на бременност и кърмене нуждите от холин драматично се повишават. Организмът реагира с повишена активност на PEMT посредством повишаване нивата на естроген с цел производство на холин *de novo*. По време на бременност нивата на естроген нарастват до 30 пъти над нормата с цел ефективно активиране на PEMT и повишен синтез на холин. Неуспехът на този механизъм да посрещне нуждите на ембриогенезата води до аборт.

Установено е, че през бременността плацентата акумулира холин срещу концентрационен градиент като го складира под различни форми. Необичаен факт е, че една от формите на резервен пул е ацетилхолин. Така фетусът е изложен на високи нива холин като в амниотичната течност концентрацията може да достигне над десет пъти по-високи стойности от серумната в майчината циркулация. Осигурява се свободно преминаване на адекватни количества холин през кръвно-мозъчната бариера на плода. Нервната система е първата, която се формира вътреутробно. Като тъкан тя изисква високи и достатъчни нива на холин за своето правилно развитие – формиране на клетъчни мембрани, миелинови обвивки и гена експресия (207,210,211,248).

РЕМТ и дефицитът на холин в диетата представляват две „Ахилесови пети“ на холиновия метаболизъм.

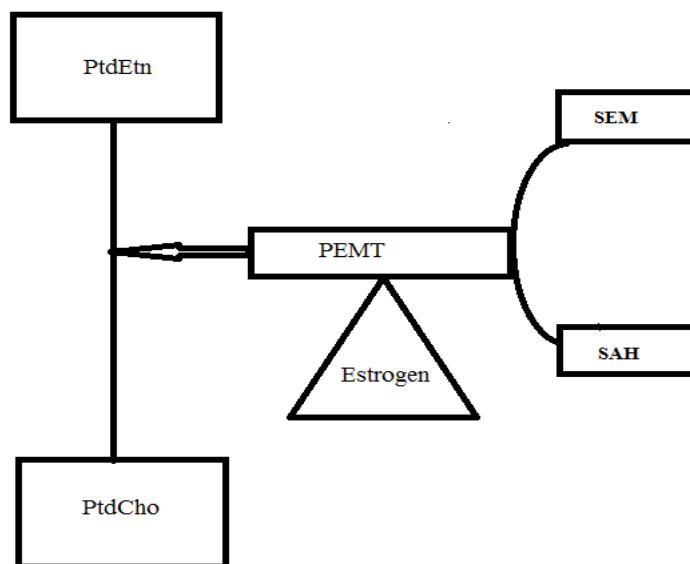
Таблица 3. Биологична роля на РЕМТ

МЕТАБОЛИТ	ФУНКЦИЯ	ЗАБОЛЯВАНЕ
Phosphatidylcholine	Клетъчни мембрани: – изграждане – пермеабилитет Резервен пул за холин Синтез на VLDL: – транспорт на мазнини	– Чернодробни заболявания – Атеросклероза
Choline	Клетъчни мембрани: – изграждане – пермеабилитет – невротрансмисия – миелинизация	– Чернодробни заболявания – Затлъстяване – Инсулинова резистентност
Homocysteine	Синтез на аминокиселини	– Сърдечно-съдови заболявания – Атеросклероза

Контролът върху синтеза на холин в човешкото тяло се определя от функционирането на РЕМТ гена. Ензимът е скорост-лимитиращ по отношение синтез на фосфатидилхолин. Вследствие на генетични и хормонални вариации (генетичен полиморфизъм) по – голямата част от хората притежават РЕМТ ензим, който работи твърде бавно. Те развиват холинов дефицит в условия на бедна на холин диета (191).

- В човешкия организъм холин се синтезира единствено посредством ензима РЕМТ.
- Активирането на РЕМТ зависи от хормона естроген.

- Необходим е естроген за да се активира PEMT и да функционира нормално.
- Генетичен полиморфизъм (Single nucleotide polymorphism (SNPs) по отношение ген за PEMT, забавя активността на ензима.
- PEMT често е със забавена активност поради генетичен полиморфизъм, който го прави нечувствителен към нивата на естроген.
- 74% от жените имат поне едно копие на бавен PEMT.
- Хомозиготните носители на PEMT имат много по-висок риск от развитие на холинов дефицит.
- Мъжете и жени в менопауза имат повишен риск от дефицит на холин поради занижени нива на естроген.
- Мъжете, жените в менопауза и жените в пременопауза с PEMT SNPs трябва да повишат приема на холин с диетата, за да променят високия риск от чернодробна дисфункция.



Фигура 3. Биосинтеза на фосфатидилхолин и роля на PEMT ензим. PtdCho – Phosphatidylcholine, PtdEtn – Phosphatidylethanolamine, SAM – S-adenosylmethionine, SAH – S-adenosylhomocysteine, Hcy – Homocysteine, PEMT – Phosphatidylethanolamine-N- methyltransferase

В проучване на групи мъже, пре- и постменопаузални жени е установено, че 74% от всички жени имат генетичен полиморфизъм по отношение на ген за PEMT, което обуславя нечувствителност на PEMT към естроген. Ензимът при тези жени работи твърде бавно. Едва 26% от включените в проучването жени могат да синтезират ендогенно

самостоятелно холин адекватно на нуждите си при подлагане на диета с ниско съдържание на холин. Жените с генетичен полиморфизъм имат същата величина на риск от холинов дефицит и чернодробно увреждане както индивиди от мъжки пол и жени в менопауза.

Връзката между нивата на естроген и активността на ензима PEMT може да обясни установеният защитен ефект на бременността по отношение риска от развитие на пристъпи при MC пациентките. Бременността изисква по – високи серумни нива на холин с цел осигуряване на необходимата концентрация на холин интраамниотично за правилно ембрионално развитие, особено на нервната система на плода. Холин е съществен фактор за генната експресия и метилиране на ДНК. Притежава и противовъзпалителен ефект, отчасти посредством повлияване на генната експресия в клетки на имунната система (167,248,249).

Установени са данни за противовъзпалителен ефект на холин. Проучването АТТІСА установява, че по – високо съдържание на холин в диетата е свързано с по-ниски нива на възпалителни маркери в серум. Друго проучване демонстрира, че приемът на хранителни добавки, съдържащи холин се асоциира с редуциране честотата на алергии (71). Промени в генната експресия на лимфоцити се регистрират при неадекватни на нуждите на организма концентрации на холин с всички последици по отношение качеството на имунната активност, развитие на възпалителни процеси и онкогенеза (64,71,156,173).

Проучване на Bjelland и сътрудници доказва негативна връзка между серумните нива на Cho и нивото на тревожност в общата популация (40).

Фосфатидилхолинът, основен дериват на холин е и постоянен структурен компонент на нископлътностните липопротеинни комплекси (VLDL). Необходим е за секрецията на VLDL и експорта на мазнини от черния дроб. Така холин участва в патофизиологичния механизъм за развитие на чернодробна стеатоза. Един от белезите за дефицит на холин е установяването на завишени серумни нива на чернодробните ензими аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза. Дефицитът на холин се проявява с развитие на чернодробна стеатоза, бъбречни увреждания с хеморагична некроза, както и мускулни увреждания с повишено серумно ниво на креатинфосфокиназа (249). Описаните промени търпят обратно развитие при внасяне на необходимите количества холин с диетата.

Холин може да се синтезира ендогенно, основно в черния дроб, единствено чрез метилиране на фосфатидилетаноламин до фосфатидилхолин с участие на бетаин (88). Процесът се осъществява с действието на ензим PEMT. Ензимът се открива в черния дроб, мозъка, мускулите, мастната тъкан и в други тъкани. PEMT използва S-adenosylmethionine (SAM) за да превърне

Phosphatidylethanolamine (PtdEtn) във Phosphatidylcholine (PtdCho). Този фосфолипид се инкорпорира в клетъчните мембрани или се разгражда за поддържане нивото на холин.

В допълнение към този процес, за осигуряване на необходимите за организма количества, съществен е приемът на холин с диетата. Набавя се от храни, съдържащи мембрани като яйца и черен дроб. Препоръчителната дневна доза според Institute of Medicine's Food and Nutrition Board на САЩ (1998) е 425mg/d за жени (с корекция за периода на бременност и кърмене), и 550mg/d за мъже. Установено е, че странични ефекти от прекомерен прием на холин с диетата се наблюдават при дози 3,5g/d. Развива се хипотония. Холин се усвоява от всички тъкани, но за органи като черен дроб, бъбреци, млечна жлеза, плацента и централна нервна система е от изключителна важност.

Изследвания при лабораторни животни са установили, че приемът на холин с диетата по време на бременност е свързан с необратими промени във функционирането на хипокамп при възрастните екземпляри. Промени се наблюдават включително по отношение на дългосрочната памет (56,59). Установени са повишени нива на клетъчна пролиферация в хипокамп и намалена апоптоза в тази структура при фетуса. Ефектът може би се обуславя от ген промотор CDKN3, чиято функция е да подтиска клетъчната пролиферация в мозъка. Промени в метилирането на този ген, в условия на бедна на холин диета, оставят гена в активно състояние. Така се постига подтискане на клетъчната пролиферация в хипокамп.

Други експериментални условия с повишен прием на холин водят до подобрене в резултатите по отношение на слуховата и зрительно-пространствената памет. Наблюдаван е положителен ефект и по отношение на възрастово обусловените паметови нарушения при зрелите наследници на майки, подложени на посочената диета. Все още не е ясен точният механизъм, по който се разгръща посоченият ефект. Предполага се, че повишените нива на холин в мозъка са свързани с повишени нива на ацетилхолин, макар да не се наблюдава повишена секреция на ACh. Единственият доказан резултат са повишени нива на фосфохолин и бетаин.

Въз основа на посочените експериментални данни се допуска, че приемът на холин по време на бременност при хората може да е свързан с установените разлики по отношение на памет и възпроизвеждане при възрастни.

Малко количество от холин се ацетилира с участието на ацетилкоензим А (acetyl-CoA) до ацетилхолин от ензима холин-ацетилтрансфераза. Ензимът е с голяма концентрация в терминалите на холинергичните неврони и в тъкани като плацентата (Blisztajn and Wurtman, 1983). Скоростта на синтез на ACh в мозъка се ограничава/регулира от нивото на холин.

Холинът, усвояван от мозъка, първоначално се складира в резервен пул като фосфатидилхолин (PtdCho) в клетъчните мембрани преди да се трансформира в ACh. Този „резервоар“ е важен в случаите, когато определени холинергични неврони проявяват интензивна активност (освобождават ACh), или когато усвояването на холин от екстрацелуларната течност е неадекватно на нуждите. ACh се синтезира при необходимост от сигнална трансмисия, преминава през синаптичната цепка, предава сигнал на следващия неврон, след което молекулата ACh се разгражда от ензима ацетилхолинестераза. Свободният холин се захваща от транспортер с висок афинитет и се интегрира в невронната мембрана.

Ацетилхолинът е органично съединение, което изпълнява роля на невротрансмитер в мозъка и тялото. Името произлиза от неговата химична структура- естер на оцетна киселина и холин. Идентифициран е през 1915 г. от Henry Hallett Dale въз основа на действието му върху сърдечния мускул. Otto Loewi класифицира ACh като невротрансмитер. Първоначално го нарича Vagusstoff, поради факта, че се освобождава от вагусовия нерв. Това е първият идентифициран невротрансмитер. Изпълнява своето действие на нивото на синапс. Това е химическият субстрат, който моторните неврони освобождават за да активират мускулните влакна. В автономната нервна система има роля на вътрешен невротрансмитер за симпатиковата нервна система и като краен трансмитер, освобождаван от влакна на парасимпатиковата нервна система.

В централната нервна система ACh функционира като невромодулятор. Повлиява начина, по който се обработва информация в мозъка. Идентифицирани се няколко холинергични структури, всяка с определена функция и роля в процесите на будност, внимание и мотивация (108).

Както много други биологично активни субстанции, ACh изпълнява своите ефекти посредством свързване с активиращи рецептори, разположени на клетъчната повърхност. Никотиновите ACh рецептори (N рецептори) са йонни канали в клетъчната мембрана, които преминават от затворено в отворено състояние при свързване на ACh. В отворено състояние те позволяват преминаване на йони през клетъчната мембрана. Никотиновите ACh рецептори са два вида – локализирани на клетъчната повърхност на мускулни клетки и втори тип – локализирани в ганглиите на автономната нервна система (симпатикова и парасимпатикова), както и в ЦНС. Мускариновите ACh (M) рецептори имат по – сложен механизъм на активация и въздействие и повлияват таргетните клетки за по – продължителен период от време. При гръбначните организми се откриват пет типа M рецептори. Всички функционират като G-протеин свързани. M1, M3 и M5 подтиповете са Gq-свързани. Активирането им предизвиква покачване на

нивото на инозитол трифосфат (IP₃) и Ca²⁺ чрез активиране на фосфолипаза C. Техният краен ефект върху клетката обикновено е екситаторен. M₂ и M₄ подтиповете са Gi/Go свързани. Те понижават вътреклетъчните нива на цикличния аденозин монофосфат (сАМР) чрез инхибиране на ензима аденилатциклаза. Техният краен ефект обикновено е потискащ. М рецептори се откриват в ЦНС и периферна нервна система на сърце, бял дроб, горен гастроинтестинален тракт и потни жлези.

Установени са следните функции на АСh:

- участник в морфогенезата.
- невромодулятор.
- посредник при взаимодействие на ЦНС и имунна система за регулиране реакциите на възпаление (186).
- модулатор на съдов тонус – вазодилатация.

Доказана е холинергична регулация на морфогенетичните клетъчни движения в ембрионалното развитие и на клетъчната пролиферация. АСh е основен екситаторен невротрансмитер в нервната система при гръбначните животни. Модулира клетъчната комуникация в невронните кръгове. Има водеща роля в морфогенезата по отношение на клетъчната пролиферация. Участва в регулиране на растежа и процеса на диференциация в периода на ембриогенезата. АСh, освобождаван от растящи неврони направлява нарастването, диференциацията и пластичността на невроните в процеса на развитие и оформяне структурите на централната нервна система

Невротрансмитерите стимулират или потискат пролиферацията на клетки, които не са невронални, чрез активиране на рецептори, свързани с различни G-протеини и second messenger пътища. Стимулирането на клетъчната пролиферация в повечето случаи е чрез активация на G-протеини, негативно свързани с аденилил/аденилат/циклаза (Gi) или позитивно свързани с други G-протеини (Go), или фосфолипаза C-beta (PLC) Gq-свързани пътища. Активирането на свързани с невротрансмитера рецептори, позитивно куплирани с сАМР, обикновено потиска клетъчната пролиферация и предизвиква промени в клетъчната форма, сочещи клетъчна диференциация. Невротрансмитери, които промотират клетъчна пролиферация освен АСh, са 5-НТ, аденозин и норадреналин. При нематоди с дефицит на АСh синтезиращ ензим ChAT се наблюдават тежки дефекти в развитието, което предполага промотиращ ефект на ендогенния АСh върху растежа.

Изследвания при охлюви са демонстрирали ефект на АСh по отношение регулиране на растежа и развитието на невроните. Прилагане на АСh директно в клетъчни култури на неврони подтиска невронния растеж и прорастване на дендрити. При прилагане заедно с 5-НТ обаче се наблюдава

превенция по отношение инхибирането на растежа. Възможно е ACh да има негативен ефект по отношение на невритния растеж при гръбначните. Взаимодействието на ACh и 5-НТ може би има отношение и към промените на ниво хипокамп (структура с доказана неврогенеза при възрастни) при пациенти с депресия (роля на серотонин), и наблюдаваните промени в посока редукция обем на хипокамп при тези пациенти.

В ЦНС ACh е невромодулятор с отношение към състоянието на будност, невронна пластичност и възнаграждение. Има съществена роля за засилване на сензорната перцепция в будно състояние и в поддържане на вниманието. Увредата на ACh секретиращата (холинергичната) система в мозъка се свързва с паметов дефицит (Болест на Алцхаймер). Ацетилхолин промотира и REM съня.

Анатомичният субстрат на холинергичната система в ЦНС включва редица подкорови структури. В мозъчния ствол ACh се освобождава от псевдонуклеопонтинния нуклеус и латеродорзалния нуклеус, известни общо като мезопонтинна тегментална област или понтомезенцефалотегментален комплекс (245,246). В базалния преден мозък ACh произхожда от базалното оптично ядро на Майнерт и медиалното септално ядро.

- Понтомезенцефалотегменталния комплекс оказва действие основно върху M1 рецептори в мозъчен ствол, дълбоки церебеларни ядра, ядра в понс, локус церулеус, рафе нуклеус, латерално ретикуларно ядро и долна олива. Излъчва проекции и към таламус, тектум, базални ганглии и базален преден мозък.
- Базалното ядро на Майнерт проектира към M1 рецептори в неокортекс.
- Медиалното септално ядро проектира към M1 рецептори в хипокамп и неокортекс.

В допълнение ACh е важен вътрешен невротрансмитер в стриатум, който е част от базалните ганглии. Освобождава се от холинергични интерневрони. При човека тези интерневрони отговарят на тихи стимули от околната среда със стереотипни отговори, които са времево синхронизирани с отговорите на допаминергичните неврони на субстанция нигра.

Една от добре представените функции на ACh в мозъчната кора е повишаване на готовността за отговор към сензорни стимули, което е форма на внимание. Допълнителна предполагаема функция на ACh в кората е подтискане на трансмисията на информация интракортикално. Някои форми на заучаване и неврална пластичност в мозъчната кора изглеждат зависими от наличието на ACh. ACh има роля в сигнализацията за очаквана несигурност/неизвестност в заобикалящата среда чрез реализиране на

функциите, описани по-горе (мозъчна кора) и резултатите, регистрирани докато индивидите изпълняват подсказваща поведенческа задача.

Експериментални изследвания са демонстрирали промени в нивата на ACh в хипоталамус и хипокамп в условия на стрес (40,90). Установено е, че активността на ензима холин-ацетилтрансфераза (ChAT) се повишава значително във вентрален хипокамп, както и тази на ензима ацетилхолинестераза (AChE), съчетано с понижаване нивата на ACh. Не се наблюдават промени в нивата на ChAT в дорзален хипокамп. Съответно нивата на ACh намаляват. В условия на стрес холинергичната система на мозъка при лабораторни плъхове променя своята активност в определени мозъчни области – предимно хипокамп и хипоталамус (90,236).

Установен е така наречен „Холинергичен противовъзпалителен рефлекс“. Централната нервна система участва в контролиране обема и качеството на имунния отговор. Холинергичният противовъзпалителен рефлекс или път е физиологичен невроимунен механизъм, който регулира вродените (innate) функции на имунната система (ИС). Той контролира възпалението като подтиска продукцията на проинфламаторни цитокини и хемокини, и подтиска активацията на експресията на нуклеарен фактор карра В и на оксидативната система. Активността на холинергичния противовъзпалителен път се влияе индиректно от наличие на генетичен полиморфизъм. Генетична вариабилност по отношение на PEMT, отговорен за *de novo* синтез на холин, както и по отношение на ензими от веригата на фолатния метаболизъм обуславя развитие на холинов дефицит в условия на диета с нисък прием на холин. Генетичният полиморфизъм по отношение на гените, кодиращи метаболизма на холин обуславя по – високи дневни дози необходими за подsigуряване нуждите на организма. Почти при половината от младите жени се установява полиморфизъм, което обуславя нечувствителност на биосинтезата на холин към естроген (191,248,249).

Проучвания при пациенти с множествена склероза установяват различна генна експресия в зони, свободни от огнища на демиелинизация при сравнение със здрави контроли. Промените в генната експресия вероятно са свързани с промени в метаболизма на холин и неговите биологични функции, в частност ролята му за програмираната клетъчна смърт. Така също в процесите на де- и ремиелинизация при пациентите с MS. Експериментални резултати демонстрират и ролята на холин и ACh за активността и посоката на въздействие на имунни механизми. Тези данни обуславят интереса към спецификата на промените в мозъчния метаболизъм при болни с MS.

Протонната магнитно резонансна спектроскопия като метод за изследване и характеризиране на мозъчните метаболити *in vivo* се явява възможност за изследване на промените в нивата на холин при пациенти с

МС (65, 161). Методиката разширява познанията и разбирането за ролята на холин в процесите де и ремиелинизация, аксонална дегенерация и дисконекция.

Наблюдаваните невропсихологични промени още в ранните етапи от развитие на болестта вероятно имат функционална връзка с промени в генната експресия по отношение метаболизма на холин.

Холин е активен и съществен участник в поддържане на здравето посредством функциите си на ниво функционален интегритет от клетка до органна система. Промотира развитие на различни състояния като когнитивни нарушения в процеса на стареене, имунен дисбаланс, дислипидемия, сърдечносъдови заболявания. Това определя научния интерес към този витамин. В частност в неврологията по отношение значението му за патофизиологията и патоморфологията на заболяването множествена склероза.

Ацетилхолин е невромедиатор с основно значение във физиологията на централната нервна система. Синтезът на ацетилхолин в структурите на централната нервна система се влияе от процесите на невродегенерация. Участва в процесите на когниция. Има централна роля за функциониране на автономната нервна система и в осъществяване на моторните функции. Ацетилхолин повлиява редица невъзбудими клетки като ендотел, микроглия, астроцити и лимфоцити в нервната система и във вторичните лимфни органи (186). Повечето от тези клетки са твърде отдалечени от холинергичните синапси. Въздействието на АСh върху тези клетки не може да се осъществи чрез дифузия, тъй като АСh е с кратък живот в присъствието на ензимите ацетилхолинестераза и бутирилхолинестераза. Двата ензима са широко представени в екстрацелуларната течност. Изследвания върху пътищата за комуникация между ИС и ЦНС представят ролята на *p.vagus* (186). Освен в ЦНС, ацетилхолин се синтезира и от имунокомпетентни клетки. Процесът се влияе от активността на имунната система. Този факт представя ацетилхолин като вътрешен медиатор на имунната функция.

Проучване при пациенти с ПРМС установява, че нивата на АСh и проинфламаторните цитокини варират в противоположна посока. Като се вземе предвид способността на АСh да модулира възпалителните отговори и пролиферацията на антиген-представящите клетки, понижените нива на АСh, наблюдавани при ПРМС пациенти може би допринасят за поддържане състояние на възпаление и за екзацербация на симптомите при МС. Известно е, че АСh модулира продукцията и освобождаването на про и антиинфламаторни цитокини. При *in vivo* третиране с АСhЕ инхибитори (Донепезил) се наблюдава подтискане експресията и продукцията на IL-1 β , IL-6 и TNF- α и се стимулира експресията и продукцията на IL-4 от

мононуклеарните клетки в периферна кръв на пациенти с болест на Алцхаймер. Нещо повече, АСhE инхибиторите предизвикват съществена редукция на лимфоцитната инфилтрация в ЦНС при ЕАЕ модели и се наблюдава отслабване на симптомите при опитните животни.

Стимулацията на никотиновите рецептори вероятно подтилка Th1 и Th17 отговорите. ЕАЕ мишки, КО по отношение на никотинови рецептори $\alpha 7$ демонстрират значима редукция на Т-лимфоцитната миграция в ЦНС. Тези данни предполагат, че АСh контролира мрежата от цитокини чрез различните подкласове АСh рецептори. Процесът вероятно се осъществява посредством въздействие върху лимфоцитната миграция и активност. С помощта на флуориметричен анализ може да се измерят нивата на АСh в ликвор на пациенти с МС. Този метод вече е прилаган за измерване на АСh в различни биологични течности без предварително третиране или пречистване на пробите. Техниката е показала значителни разлики в концентрацията на АСh в ликвор и серум между пациентите с ПРМС и контроли. Установяват се по – ниски нива на АСh в серум и ликвор при пациенти с ПРМС в сравнение с пациенти, страдащи от други неврологични заболявания. Понижените нива на АСh в ЦНС, поне отчасти вероятно са резултат от загубата на неврони, която се развива като следствие от деструкция на миелин и аксонална дегенерация при МС. От друга страна, въпреки че не е открита статистически значима корелация между ниските нива на АСh и високите нива на цитокини в серум и ликвор, понижените нива на АСh в серум при пациенти с ПРМС предполагат, че те вероятно корелират със състоянието на разгърнато активно възпаление.

Холинергичните неврони не се локализируют в хипокамп. Тази структура получава основните си холинергични проекции от basal forebrain. Холинергичните неврони на нуклеус базалис на Майнерт и хоризонталният край на ядрото на диагоналната панделка основно инервират олфакторния булб, амигдала и церебралния кортекс. Холинергичните неврони, асоциирани с вертикалния нуклеус на диагоналната панделка и на медиалното септално ядро основно инервират хипокампалия кортекс. Холинергичните пътища, излизаци от вертикалния нуклеус и от медиалния септален нуклеус, пътуват чрез форникс. В пост-мортем проучване на Huitingia се съобщава, че хипоталамус и прилежащите влакна, включващи форникс, се засягат от демиелинизация при 16 от 17 МС пациенти. Този факт дава основание за предположение, че процесът на демиелинизация в тези области, който се развива едновременно с процеса на аксонална увреда и загуба, води до холинергичен дефицит в хипокамп при МС. Холинергичен дефицит в хипокамп се открива при МС пациенти, които имат демиелинизация в хипокамп, но и при липса на демиелинизация. Този дефицит може да е

напълно лезия-независим. Постмортен проучване на Wegner открива изтъняване на кортекс на хипокампа с около 10% при МС пациенти.

Тези данни предполагат, че процесите на демиелинизация и на дегенеративни промени не протичат задължително съвместно. Вероятно други механизми освен кортикалната демиелинизация допринасят за патологията на сивото мозъчно вещество при МС пациенти.

1.10. НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНИ ПРОМЕНИ

С развитие на невроизобразяващите методики се доказва, че невродегенеративни промени се установяват рано в хода на МС. Тежестта на натоваване с лезии на демиелинизация не корелира със степента на атрофия, както и с тежестта на инвалидизация на пациентите (105). На преден план излязоха установени промени не само в бялото, но и в сивото мозъчно вещество. Новите знания фокусираха вниманието на изследователите върху промените в когницията и поведението при МС болните, свързани със съответните морфологични промени (146,201). Доказва се връзка между степента на атрофия и когнитивните промени при пациенти с малка степен на инвалидизация (EDSS < или =3.0) (200). Много преди заболяването да се класифицира като неврологично и преди да се добият доказателства за морфологичните промени в ЦНС, Charcot установява, че при пациенти с МС се откриват невропсихологични нарушения. Понякога години преди манифестиране на огнищен неврологичен дефицит.

Невропсихологични промени се установяват приблизително при 1/3 до 2/3 от пациентите с МС. Възникват рано в хода на болестта и се доказват и проследяват с помощта на батерии тестове за невропсихологична оценка (157,158). Първото клинично описание на болестта е направено през 1825 г. През 1868 г. Charcot в своя лекция представя случай на МС с придружаващи когнитивни промени. По-късно през 1877 г. представя първото систематизирано описание на психопатологични симптоми при пациенти с МС. Той установява отчетлива промяна в паметта, съчетана с патологичен смях и плач, еуфория, мания, халюцинации и депресия (Charcot, 1877). Впоследствие редица изследователи описват две основни категории невропсихологични промени: нарушения в когницията и нарушения в настроението, афекта и поведението с известно припокриване между двете категории. През 1849 г. Dr Friedrich von Frerichs цитира случай на МС-свързани когнитивни нарушения (188). Не са установени предиктори за това, кои пациенти ще развият когнитивни нарушения и с каква тежест.

Продължителността на заболяване, формата на протичане, расата, пола, когнитивния резерв, който е следствие и от нивото на образование, вероятно

имат значение (1,4,237). По- ранното начало на болестта увеличава вероятността за развитие на когнитивен дефицит. Пациентите с прогресивни форми на заболяването също се представят по-често с подобни промени (4). Расата оказва ефект посредством влиянието си по отношение на началото на заболяването (латиноамериканци и афроамериканци са с по – ранно заболяване в сравнение с бялата раса), както и с тежестта на болестта. МС протича по – агресивно при афроамериканци. Установено е, че възрастните афроамериканци с МС развиват когнитивен дефицит по – рано в сравнение с възрастни пациенти от бялата раса (188).

Подобна разлика е установена и при пациенти с начало на МС в детска възраст.

По отношение на пол – мъжете развиват заболяване с по – голяма тежест и по – бърза прогресия. Съответно такива са характеристиките на когнитивните промени при мъжкия пол (188,202).

1.10.1.КОГНИЦИЯ И НЕВРОКОГНИТИВНИ ПРОМЕНИ ПРИ МС

Когниция наричаме процесът на мислене. Характеризира се с процесите внимание, памет, разсъждение, решаване на проблеми, език. Когнитивни нарушения възникват рано и корелират с прогресията на заболяването. По – тежки са при пациенти с прогресиращ ход, най – тежки при тези с вторично-прогредиентен ход на развитие. Подлежащият механизъм, обуславящ тежестта и мащаба на развитие е процесът на дисконекция на корови и подкорови структури (75). Особено място заемат структурите на лимбичната система, в частност хипокамп (76). Наличие на придружаващо чувство на хронична умора или емоционално-афективни промени като депресия могат да влошат когнитивното представяне. Като тип нарушения наподобяват подкорова деменция (237).

Процесът на нормално стареене се характеризира с промени в когницията. Доказани са промени в дългосрочната памет след 60 годишна възраст, с различна тежест и период на начална изява (110).

Деменциите като основно неврокогнитивно нарушение се делят на два типа според първичната мозъчна структура, където стартира невродегенеративен процес. Обособяват се кортикална и субкортикална деменция. Отличителна разлика при двата типа се открива на ранен етап – проява на различни симптоми в ранните етапи на процеса:

- Кортикална деменция – асоциира се с промени в сиво мозъчно вещество (Alzheimer's disease, Frontotemporal dementia, Binswanger's disease) и с нарушения в паметта, езика, с невъзможно намиране на правилната дума (62).

- Субкортикална деменция – деменция със засягане на подкоркови структури. Свързва се в по-голяма степен с увреди на бяло мозъчно вещество (Huntington's disease, Parkinson's disease, AIDS dementia). По-често се наблюдават промени във вниманието, мотивацията, емоциите. Установяват се промени в личността и забавяне на мисловния процес. Пациентите със субкортикална деменция често демонстрират на ранен етап симптоми на депресия, несръчност, раздразнителност или апатия. Клиничната картина отразява ангажиране на структури, принадлежащи към лимбичната система. С прогресия на състоянието се появяват нарушения и в паметта, преценките и разсъжденията. Езиковите функции и паметта често изглеждат съхранени в ранните стадии. Това е причината в миналото при отсъствие на съвременните инструментални методики за диагностика заболяването МС често да е класифицирано като психиатрично (нарушения в структури на лимбична система). Ранната възраст и характера на началните симптоми, липсата на огнищен неврологичен дефицит като парези и др., са подвеждали медицинското общество.

Неврокогнитивни промени при МС се срещат при около 65% от пациентите (188,216). Характеризират със засягане най – вече на епизодичната и работна памет, вниманието, скоростта на обработка на информация, абстрактното мислене и екзекутивните функции, зрительно-перцептуалната обработка на информация (53,70,105,143,157). Хипокамът заема особено място в изпълнението на тези процеси (133). Проучванията върху връзката между атрофия на хипокамп и когнитивни нарушения установяват висока корелация между обема на хипокамп и вербалната памет (105,196). Скоростта на обработка на информация се идентифицира като област на първичен дефицит при МС независимо от хода на болестта, със съществен ефект върху качеството на живот (29,143). Корелативни изследвания върху връзката между МРТ оценена атрофия при МС и скорост на обработка на информация оценена чрез PASAT и SDMT в смесена МС популация установяват средна до значителна степен на отрицателна корелация. По – силна е корелацията при SDMT (190).

Тежестта на когнитивни нарушения зависи от изходния когнитивен резерв. Той се определя от индивидуалната интелигентност и изходното ниво на образование в начало на заболяването (39).

Лезиите на демиелинизация до голяма степен определят прогресията на когнитивните промени в зависимост от брой, размер, и най-вече локализация (181). Особено съществен е ефектът на лезии, разположени във фронтален дял. Когнитивните промени корелират със степента на корова атрофия, както

и с ангажирането на corpus callosum от плаки на демиелинизация с прояви на билатерална дисконекция.

Изследване на невропсихологичното функциониране при пациентите с МС се явява възможност за максимално ранно диагностициране на невродегенеративни промени. Когнитивните и афективни нарушения са маркер за невродегенерация.

Диагностиката на когнитивни нарушения включва оценка на процесите внимание, памет, заучаване, скорост на обработка на информация, езекутивни функции, промени в настроението. Прилагат се приети с консенсус невропсихологични батерии тестове (140,143,147).

„Paced Auditory Serial Addition Test“

PASAT е невропсихологичен тест за оценка на капацитет и скорост на обработка на информация, както и на поддържане и разпределяемост на вниманието (1,4,32,108).

Тест Символ-Цифрови-Модалности „The Symbol Digit Modalities Test“

Тестът характеризира процеси като зрение, реч, заучаване, скорост и прецизност, мануална моторна функция. SDMT – устна и писмена версия, е изключително чувствителен тест за оценка на промени в скоростта на обработка на информация (27,174). Състоянието често се открива при пациенти с множествена склероза. През последните години SDMT е най – широко прилаган тест за скрининг оценка на промените в обработката на информация при МС (231). Поради лесното приложение, както и в резултат на неговата надеждност, обща и предикативна достоверност, чувствителност и специфичност, тестът е основен инструмент за невропсихологична оценка при пациентите с МС. Deloire M.S. и колектив установяват 74,2% чувствителност на теста, 76,9% специфичност и 75,45% точност в определяне на когнитивни промени в ранните етапи от развитие на МС (68). Колективът предлага приложение на теста като подходящ инструмент за подбор на пациенти, при които да се изпълни когнитивно оценяване с по – специализирани когнитивни батерии тестове. Тестът се прилага за оценка на когнитивните функции в частност на бързата визуална обработка на информация и на работната памет (32,33,34,97,147).

1.10.2. НЕВРОДЕГЕНЕРАЦИЯ И УМОРА ПРИ МС

Умората е един от най – честите симптоми при пациентите с МС и един от симптомите с най – изразен ефект по отношение на инвалидизацията (169). Среща се по – отчетливо проявена при пациенти с прогресираща форма на болестта, както и при женски пол. Симптом с изключително голямо влияние по отношение качеството на живот. По литературни данни до 96% от пациентите съобщават за умора, като 88% от тях я определят като оплакване

със средна до голяма степен на изява (209). Проучване сред пациенти с МС в Обединено кралство представя следното определение на състоянието: „Обратими двигателни или когнитивни нарушения, с намалена мотивация и желание за почивка“ (162).

Няма общоприета дефиниция на състоянието. Повечето пациенти го определят като субективно чувство на липса на физическа и/или умствена енергия, която пречи на обичайни и желани дейности. Различават се периферна и централна умора. Периферната умора е еквивалентна на мускулна умора вследствие на физическо изтощение, която се облекчава от почивка – уморяемост „*fatigability*“. „*Fatigue*“ – умора, изтощение е различно състояние от *fatigability*. *Fatigue* е общо чувство на изтощение. Повлиява пациента само минути след началото на физическа активност. Облекчава се при почивка. При МС пациентите с паретични прояви се развива мускулна инактивитетна атрофия и се понижава издръжливостта. Като следствие се наблюдава по – изразена мускулна уморяемост (*fatigability*). Счита се, че при МС преобладава централна умора – чувство на постоянно изтощение. Централната умора е много по – субективно чувство и се свързва с нарушения във вниманието и състоянието на „*будност*“ – аразузал. Установена корелация между умората и когнитивните нарушения подкрепя това становище. МС пациентите страдат от периферна и от централна умора (209).

Инструментите за оценка на умората са *Fatigue Severity Scale (FSS)*, *The Fatigue Impact Scale (FIS)* и *Modified Fatigue Impact Scale (MFIS)* (139, 172). *FSS* е съставена от 9 въпроса, които оценяват субективното възприятие за умора на МС пациентите. Пациентите трябва да оценят числово от 1 – „*изцяло несъгласен*“ до 7 – „*напълно съгласен*“ своето съгласие с всяко твърдение, представено в скалата. Отговорите се сумират и осредняват. Резултат от 4 или повече говори за значителна умора.

FIS е одобрена от *MS Council for Clinical Practice Guidelines* като “най-подходящ инструмент за оценка на влиянието на МС свързаната умора върху качеството на живот при МС пациентите” (153). *FIS* скалата има подскали за оценка на физически, психосоциални и когнитивни функции. Това дефинира повече от 40 възможни отговора. Пациентите трябва да оценят ефекта на умората по отношение на тези категории като прилагат 5-точкова скала (0 – „*без проблем*“ до 4 – „*изключителен проблем*“). *FIS* оценява ретроспективно умората за предшестващия месец. Приложението и отнема 10-20 мин. И около 5 мин за оценка. Това е наложило разработване на по – кратки версии. *MFIS* е модифицирана версия на *FIS*. Представена е в дълга (21 въпроса) и кратка (5 въпроса) версия. Времето, необходимо за отговор и за оценка е от 10 до 15 минути. (209). Изследване на влиянието на умората върху ежедневни

действи е предложено и чрез визуално-аналогова скала (Kos et al., 22) – 100мм линия. Резултат от 59 или повече посочва голяма степен на негативен ефект. Според авторите степента на достоверност и валидност на метода е сравнима с тази при FSS и MFIS.

Всички представени скали са въпросници за самооценка и предоставят субективна оценка на умората при МС пациентите. Известно е, че симптоматиката при МС може да варира като тежест на изява под влияние на някои фактори. Субективната оценка на умората варира според периода от деня, в който се извършва оценяването, и според температурата на околната среда. Проучване върху параметрите на походката и умората при МС пациенти не установява разлики по отношение на скорост на движение, дължина на крачката, ритъм на походката в часови интервал 10:00 – 15:00 часа. В същото време се установяват големи разлики по отношение тежестта на декларираната умора (136, 209). Друго проучване (136) не установява връзка между степента на инвалидност и умората. Обективната оценка на умората при МС остава предизвикателство поради факта, че механизмите за нейното развитие все още не са изяснени.

Освен като централна и периферна, умората при МС се разглежда и като:

- Първична умора – следствие от самия патологичен процес;
- Вторична умора – следствие от приложение на медикаменти или свързани със заболяването симптоми (пареза).

При МС често пъти трудно може да се диференцира първична от вторична умора. Множество фактори допринасят за клинична изява на състоянието. Делят се на:

- основни фактори.
- вторични фактори.

Като основни фактори се разглеждат:

- Проинфламаторни цитокини като IFN- γ , INF- β , IL-2 (грипоподобен ефект на секретирани при възпалителен процес цитокини);
- Медикаменти. Някои пациенти, третирани с ИМТ съобщават за умора като проява на страничен ефект от приложение на INF (107, 119,252);
- Обсъжда се роля на нарушения във функцията на хипоталамо-хипофизо- надбъбречната ос (112);
- Ефект от процеса на демиелинизация с развитие на кондукционен блок и десинхронизиране на нервната трансмисия. Прекъсват се невронни мрежи, функциониращи в процесите когниция/ внимание (205).

Вторични фактори са термо чувствителност (феномен на Uhthoff), депресия, тревожност, нарушения в съня, бактериални или вирусни инфекции, заболявания на щитовидната жлеза с хормонален дисбаланс, анемия, прием на медикаменти като антидепресанти, наркотици, седативи, миорелаксанти (209).

1.10.3. ПРОМЕНИ В АФЕКТА ПРИ МС

Промени в афекта се срещат при над 75% от пациентите с МС. Те включват на първо място депресия, еуфория, биполярни нарушения, психотични епизоди, тревожност, раздразнителност, ажитираност, патологичен смях и плач, антисоциално поведение.

При изследване на 44 пациенти с МС в ремисия Diaz-Olavarietta е установил наличие на невропсихиатрични симптоми при 95% от тях. Депресия е регистрирана при 79% от проследените болни, безпокойство при 40%, тревожност при 37%, раздразнителност при 35%, апатия при 20%, еуфория при 13%, дезинхибиция при 13%, халюцинации при 10%, аберантна двигателна активност при 9% и делузии при 7% (73). През 1950 г. на симпозиум проведен в Ню Йорк се диференцират заболяванията на нервната система като самостоятелна група болести. Това събитие се явява повратна точка в разбирането за това какво представлява МС. До този момент често пъти болестта е разглеждана като вид психично заболяване.

- Депресията е най – честото поведенческо разстройство при пациентите с МС (206). В сравнение с други хронични неврологични заболявания при МС се наблюдава по – голяма тенденция за развитие и изява на депресивна симптоматика. По – често се развива при по – млади индивиди, при по – голяма продължителност на заболяването, при прогресиращи форми и при по – голяма степен на инвалидизация на пациентите. Фактори, които определят и по – лоша социална реализация и перспектива. Състоянието често остава недиагностицирано и нелекувано.

Сред факторите, които имат отношение към развитие на депресивни симптоми са:

- генетични – генетична предразположеност към развитие на депресивни състояния;
- психологични – реакция, в отговор на изправянето пред хронично заболяване с несигурна прогноза и без дефинитивно лечение, наличие или отсъствие на добри coping стратегии за справяне със стрес;
- социални – промени в социален статус и професионална реализация, семейно-битови неблагоприятия. В тези случаи въздействието е

двупосочно. Социалните фактори повлияват развитието на депресия. Депресията засилва негативните тенденции по отношение на социалния статус.

- медикаментозни – медикаменти като кортикостероиди, баклофен, тизанидин, дантролен, които се използват за овладяване на симптоми при МС, могат да предизвикат депресивни прояви;
- имунологични – повишени нива на проинфламаторни цитокини (IL-1, IL-6, TNF-alfa, простагландин E) и нарушен баланс на метаболизма на моноаминоергичната невротрансмитерна система, активация на невроендокринната система (148);
- възпалителни – ефект на медиатори на възпалението (148).

Установено е влияние на плаките на демиелинизация. Локализация във фронталните и темпорални дялове има съществен принос поради връзка с проекции на лимбична система, развитие на дисконекция на хипокампи и други структури на лимбична система.

- Еуфория – среща се при 65% от пациентите с МС, предимно в по-напреднали стадии на заболяването, при ВПМС, при изразена мозъчна атрофия с увреда на лимбична система, фронтални дялове и базални ганглии.
- Пациенти с двустранна мозъчна увреда демонстрират патологичен смях – 10%, спонтанно, независимо от настроението поради дисконекция и дезинхибиция.
- Емоционална хипервъзбудимост, алекситимия се проявяват при лезии в corpus callosum- липсват думи за изразяване на емоции, описват се физически симптоми вместо чувства.

Alessandro Colasanti (Colasanti et al, 2016) изказва хипотезата, че високата честота на депресивните симптоми при пациентите с МС е следствие процес на хронична активация на собствената имунна защита на централна нервна система в съответните функционално свързани мозъчни области (55). С помощта на позитронна емисионна томография екипът демонстрира, че свързването на втора генерация 18-kDa транслокационен протеин (TSPO) радиолиганд [18F]PBR111 установява активация на микроглия в бялото мозъчно вещество при пациенти с МС (55). Изследователите прилагат [18F]PBR111 PET за да определят количествено активацията на микроглията в хипокампа и да характеризират връзката с депресивните симптоми при пациенти с МС *in vivo*. На следващ етап с помощта на functional MRI изследват хипокампалната функционална дисконекция, и корелацията и с депресивните състояния, както и с нивото на микроглиална активация.

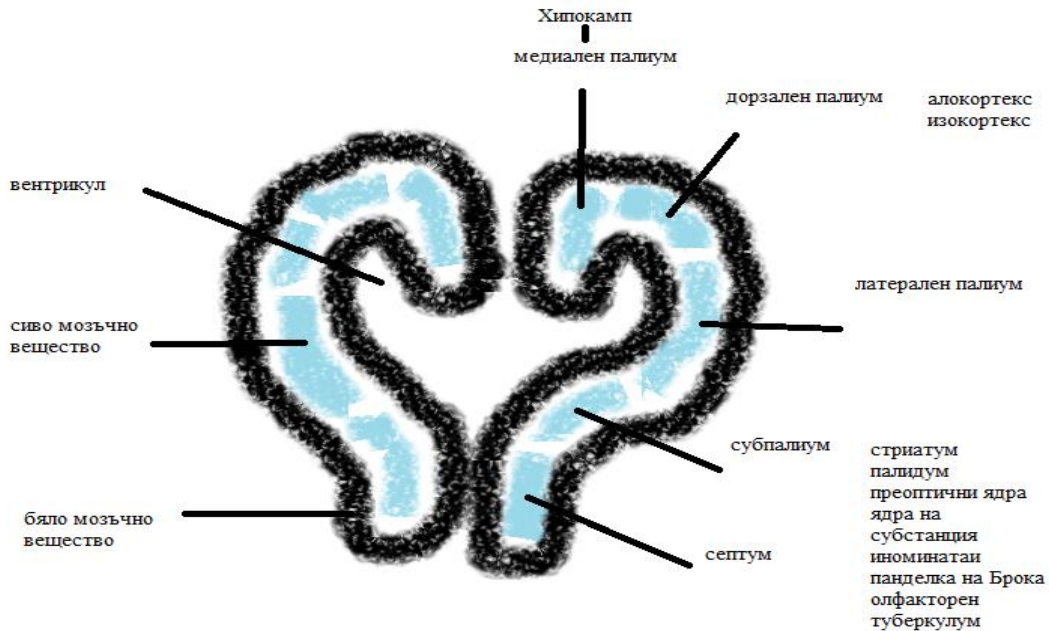
Колективът потвърждава по – ранни данни за наличие на изразен възпалителен процес в хипокамп при тези пациенти в сравнение със здрави контроли. Свързването на радиолиганда корелира с резултатите от прилагането на въпросник за оценка на депресия на БЕК (BDI). Установява се най-висока степен на корелация при МС пациенти с голям депресивен епизод (55). Известно е, че повишените нива на проинфламаторни цитокини нарушават баланса и метаболизма на моноаминоергичната невротрансмитерна система, повлияват нивата на глутамат и BDNF в ЦНС. Глутаматът е фактор на невротоксичността. Някои от хипотезите, обясняващи развитие на депресия се фокусират върху ефекта на BDNF (29,31,82). Установена е корелация между серумните нива на BDNF и проява на афективни и когнитивни симптоми (221). По този начин настъпва функционална дезинтеграция с последващи морфологични промени. При пациенти с промени в настроението често се установява намален обем на хипокамп. Проучване на ефекта от приложение на антидепресанти при пациенти с голям депресивен епизод отчита положителен ефект по отношение запазване и възстановяване обема на хипокамп (213). Не е установен специфичен или по – изразен невропротективен ефект по отношение на обема от точно определена група антидепресанти. Проучване за ефекта на антидепресанти върху промените в обем на хипокамп демонстрират, че периодите на депресия без приложено лечение се свързват с намаляване обема на хипокамп. Свързаната с депресията загуба на обем се представя като кумулативен процес. Изследвания при животни са демонстрирали, че приложението на антидепресанти профилактира стрес-индуцирано подтискане на неврогенезата и по този начин запазва обема на хипокампа (213).

1.11. ЛИМБИЧНА СИСТЕМА

1.11.1. ХИПОКАМП

Хипокамп е чифтна структура на ЦНС при човека и другите бозайници. Съставен е от hippocampus proper (Ammon's horn), subiculum и gyrus dentatus. Установено е, че в хипокамп различни клетъчни типове неврони са организирани в клетъчни слоеве. Персистиращата неврогенеза в хипокамп има съществена роля за реализацията на паметовите процеси. Така наречената неврална пластичност известна още като long-term potentiation за първи път е установена в хипокамп. Приема се, че LTP е един от основните неврални механизми, чрез които се осъществява складирането и съхранението на паметта. Хипокамп има съществена роля в процесите на консолидация на информация и складирането и от краткосрочна в

дългосрочна памет. Той е основната структура, чрез която се реализира пространствената памет и ориентация, което позволява навигация в пространството. Разполага се под мозъчната кора алокортикално. Произхожда от медиален дял на палиум.



Фигура 4. Схематично представяне (крес-секция) на преден мозък при гръбначни. Посочени са трите основни области на палиум, както и субпалиум и септум.

В невроанатомията с понятието палиум се обозначават слоеве сиво и бяло мозъчно вещество, които покриват повърхността на главния мозък при гръбначните животни. При най – просто устроените гръбначни палиум се състои от три клетъчни слоя, обхваща 3-4 хистогенетични домейна, включително олфакторния булб. При бозайниците кортикалната част на палиум претърпява еволюционно развитие с оформянето на мозъчната кора, по – голямата част от която се състои от прогресивно разширяващ се 6-слоен изокортекс и по-просто устроени 3-слойни корови области алокортекс в областта на границите. Алокортексът се подразделя на хипокампаден алокортекс медиално и олфакторен алокортекс латерално (включващ рострално олфакторния булб и предните олфакторни области). При хората палиум (лат.: наметало, мантия) обвива почти изцяло теленцефалон благодарение на обширната повърхностна експанзия на изокортекс. Палиум се подразделя на следните области – медиален, дорзален, латерален и вентрален палиум. Молекулярни маркери посочват, че от палиум произхождат както корови структури (алокортекс и изокортекс), така и подкорови ядра (клаустроамигдалоиден комплекс) (94). От субпалиум се

развиват ядра на стриатум, палидум, преоптични ядра и ядра на субстанция иномината и диагоналната панделка на Брока, както и кортикоидсвързващата структура на олфакторен туберкулум. Еволюцията на дорзалния палиум все още не е напълно изяснена. Някои автори считат, че дорзалният палиум допринася съществено за развитие на хипокампаалните алокортикални и парахипокампаалните мезокортикални (преходни) области при бозайниците. Според други дорзалният палиум директно се трансформира в 6-слоен изокортекс (неокортекс), характерен за бозайниците. Според трети медиалната и латералната части на дорзален палиум допринасят за алокортикалната и изокортикалната предопределеност (45).

Първото описание на структурата, разположена по протежение на пода на темпоралния рог на латералния вентрикул е от 1578 г., когато Ceasa Aranzi, я оприличава на копринен червей, а след това на морско конче (seahorse). Хирургът de Garengot използва името cornu Ammonis – horn of Amon – древен египетски бог, често представян с глава на овен (77). От там идва съкращението СА, с което понастоящем се обозначават поддяловете на хипокамп – СА1-СА4 (239).

Хипокамп принадлежи към лимбичната система. Терминът лимбична система е въведен през 1952 г. от Paul Maclean (208). Така се обозначава мрежа от структури, граничещи и разположени по протежение на кората (limbus – border). Лимбичната система включва хипокамп, gyrus cinguly (cingulate cortex), olfactory cortex, amygdala. По – късно Paul Maclean предполага, че лимбичната система представлява невралната основа на емоциите. Хипокамп е анатомично свързан с региони от мозъка, които са участници в емоционалното поведение- septum, hypothalamic mammillary body, anterior nuclear complex в thalamus.

Хипокамп се разполага като гънка от сиво мозъчно вещество, издигаща се от пода на страничния вентрикул в областта на темпоралния рог. Може да се оприличи и на гънка на архикортекса в медиалния темпорален дял. Кората изтънява и от шест клетъчни слоя, оформя три или четири слоя, които оформят хипокамп. Невралното оформление/разпределение по слоеве на невроните в hippocampal formation (hippocampus proper, gyrus dentatus and subiculum), както и невралните пътища в рамките на хипокамп са много сходни при бозайниците. Съкращението СА се използва за означаване на хипокампаалните поддялове – полета СА1-СА2-СА3-СА4. При крос-секция на хипокамп на нивото на gyrus dentatus (СА4) се установяват следните клетъчни слоеве : molecular layer, inner molecular layer, granular layer и hilus отвън навътре. СА3 има следните клетъчни слоеве, наречени strata: lacinosum-moleculare, radiatum, lucidum, pyramidal и oriens. СА2 и СА1 също имат четири клетъчни слоя без lucidum stratum.

Невралните сигнали навлизат в хипокамп от различни корови и подкорови структури чрез енториналната кора (ЕС) посредством перфорантния път. ЕС е тясно и реципрочно свързана с много корови и подкорови структури, както и с мозъчния ствол. Различни таламични ядра (предна и средна група), медиалното септално ядро, супрамамиларното ядро на хипоталамус, *raphe nuclei* и *locus coeruleus* на мозъчния ствол изпращат аксони към ЕС. По този начин тя служи като интерфейс между неокортекс и другите свързани структури, както и хипокамп. ЕС се разполага в парахипокампалната гънка – корова област, непосредствено прилежаща и покриваща хипокамп. В парахипокампалната гънка се разполага и *perirhinal cortex* – структура, която е важна за зрителното разпознаване на сложни обекти. *Perirhinal cortex* е корова област в медиален темпорален дял, съставена от 35-то и 36-то Бродманово поле. До нея достига високо обработена сензорна информация от всички сензорни области. Приема се като важна корова област по отношение на паметта. Каудално граничи с *postrhinal cortex* или *parahippocampal cortex* (хомоложни области при гризачи и примати съответно). Вентрално и медиално се ограничава от ЕС. ЕС има съществено значение и роля за паметта; роля, която може ясно да се разграничи от тази на хипокамп. Пълна амнезия настъпва само когато едновременно има поражение на хипокамп и парахипокамп (79).

1.11.2. ХИПОКАМП – СИНАПТИЧНИ ВРЪЗКИ

Перфорантният път е главният изходящ път на ЕС. Потокът на информация към/в хипокамп е индиректен. Аксони от пирамидните клетки във II клетъчен слой на ЕС перфорират субикулум и проектират основно към грануларния слой на *gyrus dentatus* (GD) – първа синаптична връзка. Някои от аксоните проектират към СА3 и по – малка част към СА1. Аксоните на грануларните клетки на GD наречени *mossy fibers*, предават информация на дендритите на СА3 пирамидни клетки – втора синаптична връзка. СА3 аксоните съответно (наречени *Schaffer collaterals*), се извиват, напускат дълбоките части на клетъчното тяло и се изкачват до апикалните дендрити и след това се проектират до СА1. Аксони от СА1 се проектират обратно към ЕС – трета синаптична връзка. Така се затваря трансинаптичната бримка или кръг (*circuit*). Кошчевите клетки на СА3 получават възбудни входящи сигнали от пирамидните клетки и след това изпращат инхибиторни обратни сигнали към пирамидните клетки. Тази рекурентна инхибиция е прост *feedback circuit*, който може да угаси възбудните отговори в хипокамп. Пирамидните клетки изпращат рекурентна възбудна връзка, която се явява важен механизъм за някои от микрокъговете в обработката на паметта (*Memory processing microcircuits*) (43).

Съществуват още някои важни неврални връзки във функционирането на хипокамп. Изходящи пътища се насочват освен към ЕС, така също и към други корови области като префронтална кора. Голям изходящ път се явява проекцията чрез форникс към латералната септална област и мамиларните телца на хипоталамус. Така форникс свързва хипоталамус с хипокамп.

Хипокамп получава модулаторни входящи сигнали от серотониновата, норепинефриновата и допаминовата система и от nucleus reuniens на таламус до СА1. Много важна проекция се явява път от медиалното септално ядро, което изпраща холинергични и GABA стимулиращи влакна към всички части на хипокамп. Входящите сигнали от медиалното септално ядро имат ключова роля в контролиране на физиологичното състояние на хипокамп. Увреждане на това ядро унищожават хипокампалия тета ритъм и тежко нарушава определени типове памет (244).

1.11.3. ХИПОКАМП – ДЯЛОВЕ

В хипокамп се очертават дялове, които са анатомично и функционално различни. Обособяват се дорзален хипокамп (DH), вентрален хипокамп (VH), и интермедиерен хипокамп, които имат различни функции. Проектират сигнали по различни нервни пътища и имат различно представяне на place cells (89). Дорзалният хипокамп обслужва пространствената памет, вербалната памет и заучаване на концептуална информация. Лезии на DH са свързани с нарушения в пространствената памет, докато увреди на VH не водят до такива промени. Проекционните пътища на DH са медиалното септално ядро, и супрамамиларните телца. DH също така има повече place cells в сравнение с VH и интермедиерната хипокампаля област (126).

Интермедиерният хипокамп има припокриващи характеристики по отношение на VH и DH. С помощта на anterogradni проследяващи методи Cenquizca и Swanson през 2007 г. локализируют проекции към две първични олфакторни области и прелимбични области на медиалната префронтална кора. Тази област притежава най-малък брой place cells. VH е свързан със състоянията на страх (fear conditioning) и с афективните процеси. Anagnostarat et al (2002) показват, че увреди на VH понижават потока информация изпращан от DH и VH към амигдала, което е последвано от промени в страховите изживявания при плъхове (fear conditioning) (24). Най – старата хипотеза постулира, че хипокамп е част от структурите на обонянието. В последствие тази теория е оспорвана поради факта, че анатомични изследвания не са установили директни проекционни влакна от олфакторен булб към хипокамп. По – късни проучвания все пак установяват, че олфакторният булб изпраща проекции към вентралната част на латералната енториална кора, и че поле СА1 на VH изпраща аксони към

главния олфакторен булб, към предно олфакторно ядро и към първичната олфакторна кора. Все още има интерес към хипокампалните олфакторни отговори, в частност, ролята на хипокамп в паметта за аромати, но много малко специалисти днес приемат, че обонянето е основна функция на хипокамп (80,229).

1.11.4. ХИПОКАМП – ФУНКЦИИ

Функции на хипокамп все още са обект на обсъждане. Предлагат се следните теории:

ПАМЕТ

Хипокамп има важна роля във формирането на паметта за преживени събития (епизодична и автобиографична памет). Част от тази функция е ролята на хипокамп в детекцията на нови събития, места и стимули (79,217,231). Някои изследователи разглеждат хипокамп като част от една по – голяма паметова система на медиалния темпорален дял, отговорна за общата декларативна памет (памет за факти в допълнение към епизодична памет). Хипокамп включва също така и емоционален контекст от амигдала. Поради това отчасти при посещение на място, където е преживяно емоционално събитие може да се провокират емоции. Съществува дълбока емоционална връзка между епизодичната памет и места. МРТ изследвания върху възрастово обусловените промени в обем на хипокамп доказват отчетливо намаляване на обема на структурата. Kirk и сътрудници (2010) представят данни за асиметрия в атрофичния процес с изразена възрастово обусловена атрофия за ляв хипокам. Те допускат, че ляв хипокамп е свързан със скорост на обработка на информацията (132). Лонгитудинални и кръстосани проучвания доказват връзка между атрофията на хипокамп и нарушенията в епизодичната памет. Други изследователи не откриват такава връзка (110). Изследване на промените в обем на хипокамп и когнитивните нарушения при нормално стареене, проведено от O’Shea и сътрудници установява връзка между обем на структурата и епизодичната памет, екзекутивните функции, работната памет и скоростта на обработка на информация (178). Благодарение на билатералната симетрия мозъкът разполага с един хипокамп в двете церебрални хемисфери. При увреда на хипокамп само от едната страна и интактна структура в другата хемисфера, мозъкът може да запази паметово функциониране почти без нарушения. При тежки увреди на хипокамп в двете хемисфери, отчетливо се нарушава процесът на формиране на нови паметови следи – антероградна амнезия. Често страда и паметта, формирана преди увредата – ретроградна амнезия. Въпреки, че ретроградния ефект обхваща много години назад преди

мозъчната увреда, в някои случаи по-стари спомени се съхраняват. Тази ретенция на по – стари събития ражда идеята, че консолидацията на паметови следи във времето включва трансфер на памет извън хипокамп към други области на мозъка (74). Експерименти с трансплантация интрахипокампа на хипокампа клетки при примати с невротоксични лезии на хипокампа демонстрират, че е необходим интактен хипокампа за формиране и припомняне, но не и за съхранение на спомени.

Изследвания върху параметри на холинергичната невротрансмитерна система в хипокампа при МС пациенти установяват намалена активност и експресия на ChAT при съхранена активност и експресия на AChE. Кооі и колектив доказват в постмортем анализ нарушен баланс на ацетилхолин деградиращ и синтезиращ ензим при сравнение с пациенти с БА и здрави контроли. Изследователите предлагат възможност за терапевтично повлияване на установените паметови нарушения при тези пациенти (133).

Увреда на хипокампа не засяга някои видове памет като заучаване на нови умения (нов музикален инструмент или подреждане на определени типове пъзели). Този факт предполага, че такива умения зависят от друг тип памет (процедурна памет) и други мозъчни области. Освен това пациенти с амнезия често демонстрират имплицитна/косвена памет за преживявания/познания (experience) дори в отсъствие на съзнателно знание. Например пациенти, помолени да кажат кое от две лица са виждали съвсем наскоро, може да отговорят вярно в повечето случаи, въпреки твърдението, че не са виждали нито едно от лицата преди това. Някои изследователи правят разлика между съзнателна реколекция – припомняне, която зависи от хипокампа, и знание/familiarity, което се осигурява от част от медиален темпорален дял (72).

Хипокампа демонстрира два основни модела на активност, всеки от тях свързан с различен патерн неврална активност и вълнова електрическа активност, измерена и представена посредством ЕЕГ запис. Тези два модела на активност се обозначават въз основа на ЕЕГ патерните, свързани с тях, съответно тета ритъм (theta rhythm) и large irregular activity (LIA).

Тета ритъм се проявява в състояния на активно съзнателно поведение, особено при локомоция, и по време на REM сън (46). В theta mode, ЕЕГ се доминира от големи ритмични вълни с честотен диапазон 6-9 Hz. Основните групи хипокампа неврони (пирамидните и грануларни неврони) показват слаба активност, което означава, че във всеки кратък период от време болшинството от клетките са тихи – неактивни, докато по – малката останала част изстрелва високочестотни електрически потенциали, до 50 спайка в секунда при най – активните. Активна клетка обичайно остава активна (електрически) за около половин секунда до няколко секунди. По време на

активно поведение (изследвания при плъхове) електрически активните клетки затихват и нови клетки се активират, но пълния процент активни клетки остава като цяло постоянна величина. В много от случаите клетъчната активност се определя в голяма степен от пространствената локализация на животното, но има и други поведенчески вариабилности, които повлияват клетъчната активност.

LIA се проявява по време на бавновълнов сън, както и по време на будно състояние, без локомоция, като почивка или хранене. EEG записът по време на LIA се доминира от остри вълни, които са редки във времето отклонения на EEG сигнала с продължителност 25-50 милисекунди. Острите вълни често се генерират в комплекти, които включват до 5 или повече индивидуални остри вълни и продължават до 500 милисекунди. Спайковата активност на невроните в хипокамп е тясно корелираща с островълновата активност. Повечето неврони понижават своята активност (firing rate) между острите вълни. По време на поява на остра вълна се наблюдава драстично повишаване на активността (firing rate) в максимум 10% от хипокампалните неврони.

Все още няма убедително обяснение за ролята и функцията на тета ритмите. Най – популярната хипотеза свързва тета ритмите с процесите памет и заучаване. Приема се, че тета ритмите повлияват тези аспекти от паметта и заучаването, които зависят от синаптичната пластичност (121,224). Доказано е, че лезии на медиалния септум, който е централното ядро на тета системата, причиняват тежки нарушения в паметта. Медиалният септум е много повече от контролор на тета ритъма. Той е и основен източник на холиергични проекции към хипокамп.

НАВИГАЦИЯ

Проучвания при свободно движещи се плъхове и мишки демонстрират, че много хипокампални неврони изпълняват функция на place cells, които се групират в place fields. Те от своя страна генерират залпове акционен потенциал, когато животното преминава през определена локация. Тази място-свързана неврална активност (place-related неврална активност) в хипокамп е наблюдавана и при маймуни, които са придвижвани в стая, седейки в стол. Възможно е place cells да се активират от посоката на погледа, а не толкова от истинското разположение на животното в стаята (193).

Провеждани са проучвания на location-specific firing cells при пациенти с медикаментозно резистентна епилепсия. След имплантация на електроди в хипокамп пациентите се придвижват в рамките на виртуална стая. Подобни мозъчни образни изследвания на навигация демонстрират активност в

хипокамп. Таксиметровите шофьори в Лондон трябва да заучат локацията на голям брой адреси и най – бързите маршрути между тях за да преминат успешно тест известен като The Knowledge, и да получат лиценз. Проучване при такива шофьори демонстрира по – голяма задна част на хипокамп в сравнение с общата популация, и наличие на позитивна корелация между стажа и нарастване обема на тази част на хипокамп. Не се наблюдава общо увеличение на хипокамп, тъй като нарастване размера на задната част е за сметка на намаляване обема на предната част. Не е наблюдаван страничен негативен ефект от тези промени в пропорциите на хипокамп. Друго проучване демонстрира противоположни промени при слепи индивиди. Предната част на десен хипокамп е по – голяма едновременно с намаляване обема на задна част в сравнение със зрящи индивиди (145,151).

Съществуват множество навигационни клетки в мозъка, които са разположени или в хипокамп, или са в тясна връзка с тази структура. Такива са *speed cells*, които се разполагат в медиалната енторинална кора. Взети заедно всички тези клетки формират мрежа, която служи като пространствена памет. Първите такива клетки са идентифицирани през 1970 г. – *place cells*. Това ражда идеята, че хипокамп предоставя неврално представителство на заобикалящата среда под формата на когнитивна карта. Когато хипокамп е с нарушена функция страда ориентацията в пространството. Хората може да се затрудняват в запомняне на това как са пристигнали на определено място и как да продължат нататък. Да се загубиш често е симптом на амнезия (54,176). Проучвания при животни са показали, че е необходим интактен хипокамп за първоначално запомняне и дългосрочно запазване на някои пространствени паметови задачи, в частност онези, които изискват намиране на маршрут към скрита цел (170). Открити са и друг тип клетки, разположени или в хипокамп или в енториналната кора. Обозначават се като *head direction cells*, *grid cells* и *boundary cells*. Приема се, че *speed cells* изпращат сигнали към хипокампалните *grid cells* (171).

APPROACH- AVOIDANCE CONFLICT PROCESSING

„*Approach-avoidance conflict*“ е поведение, което се наблюдава в ситуации, които завършват с възнаграждение или наказание, и произтичащото вземане на решение е свързано с поява на тревожност. Проучвания доказват ролята на преден хипокамп, който е чувствителен към конфликти и може би представлява част от по – голяма корова и подкорова мрежа с роля в процеса на вземане на решение за поведение в определени ситуации (*approach-avoidance decision-making*) .

1.12. ХОРМОНИ И ЦНС

1.12.1. НОРАДРЕНАЛИН И ФИЗИОЛОГИЧНА ОСНОВА НА СТРАТЕГИЯТА „fight or flight“

Стрес е всяко състояние, което застрашава стабилността на тялото и функциите му. Най – засегнати и повлияни от стреса са хипоталамо-хипофизо-надбъбречната ос и норадреналиновата система. Което включва съответно симпатикова нервна система и LC.

Симпатиковата нервна система е един от основните пътища за комуникация между имунна система и ЦНС (186). Множество органи на ИС получават симпатикова стимулация – тимус, слезка, лимфни възли. Крайният ефект е комплексно състояние с активиране на определени процеси и подтискане на други. Норадренергични неврони в мозък, обозначавани като А1-А7 се локализируют в ограничен брой мозъчни структури, но имат обширни проекции към множество други области с мощен ефект на въздействие. Норадренергични А1 неврони се разполагат в медула и участват в баланса на телесните течности. Неврони А2 се разполагат в мозъчен ствол – nucleus solitarius, и участват в множество отговори като прием на храна и отговор към стрес. А5-А7 изпращат проекции към гръбначен мозък. А6 се разполагат в locus ceruleus (LC) – малка структура с до 15 000 неврона, която изпраща проекции към всички важни области на главен мозък и към гръбначен мозък. Активността на locus ceruleus корелира с вижиланса и скоростта на реакция – ниска по време на сън, почти нула по време на REM сън. Основно ниво се наблюдава в будно състояние. Временно повишена активност има при среща на индивида с някакъв стимул, който изисква насочено внимание. Неприятни стимули като болка, затруднено дишане, горещина и студ пораждат по – голямо повишаване на активността. Крайно неприятни стимули – силен страх или силна болка се свързват с много голяма активност на LC. Норадреналин, освободен от LC (А6) повлиява функциите на мозъка по множество начини. Подобрява обработката на сензорна информация, повишава вниманието, подобрява формирането и изтегляне на дългосрочната и работна памет, повишава способностите на мозъка да отговори на стимули чрез промени в патерна на активност на префронтална кора и някои други области. LC съществено повлиява мозъка и го мобилизира за действие, а симпатиковата периферна нервна система мобилизира по същия начин тялото.

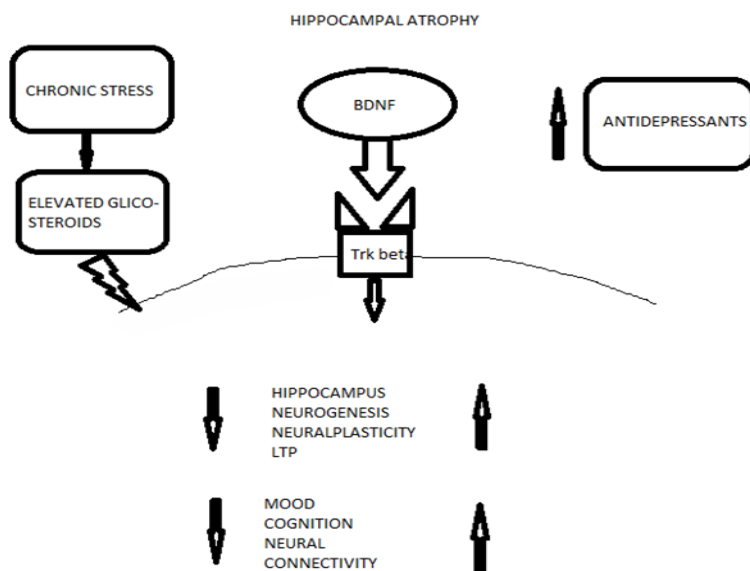
Различните стресори повишават норадренергичната активност с последваща мобилизация на мозък и тяло. Хроничният стрес може да увреди много телесни органи и системи. Значителна част от увредата е следствие от повишената секреция на NA. Основната физиологична функция на NA е да

отклонява ресурси от процеси на поддържане, регенерация и репродукция към системите, които са необходими за активно движение-стратегия „*Fight or flight*“. Последствията могат да бъдат забавено развитие (по време на растеж в детска възраст), безсъние, загуба на либидо, гастроинтестинални проблеми, намалена резистентност към болести, забавено зарастване на рани, депресия, повишена податливост към пристрастяване.

1.12.2. РОЛЯ НА КОРТИЗОЛ ЗА ПРОМЕНИ В ОБЕМ НА ХИПОКАМП

Хипокамп съдържа голям брой рецептори за гликокортикоиди, което го прави особено чувствителен към хроничен стрес в сравнение с други мозъчни области (123). Доказано е, че при индивиди подложени на тежък хроничен травматичен стрес се установява атрофия на хипокамп в по-голяма степен в сравнение с други области на мозъка. Една от клиничните изяви е нарушеното когнитивно представяне. Такива промени са наблюдавани при посттравматичен стрес (PTS). Вероятно те допринасят и за хипокампалната атрофия, установена при пациенти със шизофрения и клинична депресия. Проучване при пациенти с депресия демонстрира атрофия на хипокамп, която може да се преустанови с приложение на антидепресанти, дори когато те не са достатъчно ефективни за овладяване на клиничната симптоматика (47).

Стрес и подтискане на невrogenезата:



Фигура 5. Промени в процеса на невrogenеза и обем на хипокамп под влияние на фактор стрес и приложение на антидепресанти

Кортизол заедно с адреналин участват в процеса на краткосрочна памет за емоционални събития. Това е механизмът за създаване на *flash-bulb memories* и вероятно представлява еволюционно затвърден механизъм за запаметяване какво да се избягва в бъдеще. Дългосрочното излагане на кортизол (стрес), уврежда клетки в хипокамп (токсичност на глюкокортикоиди), което води до нарушения в заучаването. Нещо повече, кортизол подтиска извличане на вече складирана информация. Така се обясняват когнитивните промени, придружаващи състояния на хроничен стрес и депресия.

Хроничният стрес повишава продължително серумните нива на гликокортикостероиди, особено на кортизол и е причина за атрофия на хипокамп. При синдром на Кушинг (Cushing's syndrome) се развива атрофия и се установява намален обем на хипокамп (216). Неврална загуба се развива като резултат от нарушена невrogenеза. Друг фактор, който допринася за по – малък обем на хипокамп е ретракция на дендрити (скъсяване на дендрити и намаляване броя на дендритите) в отговор на повишени нива на гликокортикостероиди (28). Тази дендритна ретракция е обратим процес.

След медикаментозно лечение на синдром на Кушинг с цел намаляване серумните нива на кортизол, се наблюдава възстановяване обема на хипокамп с около 10%. Промяната е следствие от реформиране на дендритите. Възстановяване на дендритите като брой и конекция се наблюдава и при отстраняване на стресовите фактори. Съществуват доказателства, макар основно от проучвания при плъхове, че стрес преживян в ранна детска възраст (скоро след раждане), може да повлияе функционирането на хипокамп, като промените персистират през целия живот (102).

1.12.3. КОРТИЗОЛ И ИМУННА СИСТЕМА

Нивата на кортизол в серум са съществени не само за баланса между *“Fight or flight”* поведение/ЦНС токсичност. Кортизолът участва и в балансиране на имунната активност. Той блокира секрецията на проинфламаторни субстанции. Подтиска секрецията на IL-12, INF- γ , INF- α , TNF- α от антиген-представящите клетки и Th1. Повишава секрецията на IL-4, IL-10, IL-13 от Th2. Така измества баланса в посока на Th2-медиирани имунни механизми. При възникване на инфекция се активира стрес системата с последващо отклоняване на баланса към Th2 активност вследствие на повишаване нивата на кортизол. Целта е активиране на обратна регулаторна връзка за да се прдотврати свръхактивиране на възпалителен отговор. Възпалителният отговор към „агресор“, застрашаващ хомеостазата, е свързан с токсичност и деструктивни процеси. При преминаване над определена

степен на активност може да се стигне до нежелано и несъвместимо с живота разрушаване на тъкани и органи. Кортизолът може да отслаби имунната система. Той повлиява Т-клетъчната пролиферация като превръща Т-клетките, които секретират IL-2 в нечувствителни към IL-1, както и неспособни да произвеждат IL-2 (T-cell growth factor). IL-2 е интерлевкин, който има съществена роля в имунната система поради своя директен ефект върху Т-лимфоцитите. В тимуса, чрез свързването си с рецептор на клетъчната повърхност, IL-2 предизвиква клетъчна диференциация на определени Т-клетки в Т-регулаторни, които са основни фактори в автоимунните реакции. IL-2 промотира и диференцирането на незрелите Т-лимфоцити в ефекторни и в паметови Т-клетки след среща на Т-клетките с антиген. Кортизолът има негативен feed-back ефект по отношение на IL-1. За да се произведе кортизол е необходим прогестерон. Продължителен стрес „краде“ прогестерон и нарушава баланса между прогестерон и естроген/тестостерон нивата. В резултат на хормоналните промени при съответния индивид се разгръщат репродуктивни проблеми.

Установена е полово детерминирана (специфична) разлика в отговора към стресови фактори при лабораторни животни (плъхове). Проучванията демонстрират, че полово-свързаната реактивност има отражение и върху хипокамп. Хроничен стрес при мъжки плъхове води до дендритна ретракция и клетъчна загуба в СА3 област на хипокамп. Ефектът не се наблюдава при женски екземпляри. Приема се, че разликата е следствие от защитната роля на овариалните хормони (61,177).

„*Neuroscience of sex difference*“ е направление в невронауките, което изследва характеристики на човешкия мозък, отличаващи тази анатомична структура при мъжете и жените. Приема, че физиологичните полови разлики отразяват взаимодействието на гени, хормони и социални умения, които повлияват развитието на мозъка през индивидуалния живот. Според някои автори има доказателства, извлечени от изследвания на мозъчната морфология и функция, които показват, че мозъкът при жените и мъжете не може винаги да се приема за идентичен от гледна точка на структура и функция, и че някои мозъчни структури са полово диморфни.

Установените разлики се разглеждат в светлината на еволюционната необходимост. Те отразяват разлики в процесите на заучаване. Това от своя страна определя успех в процеса на интер и интрасексуалната селекция – избор на партньор от биологично детерминиран противоположен пол, и съревнование с индивиди от същия биологичен пол. Това е отражение на успех в процеса на еволюционна приспособимост и възможност за оставяне на потомство. Вниманието е насочено към структури като мозъчните хемисфери, амигдала, хипокамп, фронтален лоб, орбитална префронтална

кора, съотношение бяло/сиво мозъчно вещество. Разглеждат се отлики по отношение на невронни мрежи. Разлики в неврохимията, в частност ефект на хормони като естроген, тестостерон, окситоцин и вазопресин; невротрансмитери като серотонин, допамин, опиоиди, норадреналин. На следващ етап се проучват разлики по отношение функционирането на мозъка при двата пола при изпълнение на когнитивни задачи в условия на стрес. (Neural masculinization)

По отношение на хипокамп са провеждани редица проучвания. Една част от тях посочват полово свързани разлики в контекста на анатомия, неврохимия и LTP. Тези проучвания предполагат полови разлики в процесите на заучаване. Amber N.V. Ruigrok et al. провеждат мета-анализ (195). Те заключават, че средния обем на мозъка при мъжете е по – голям в сравнение с този при жените (най – голям брой проучвания са проведени във възрастов диапазон 18-59 години). Изследователите установяват и регионални разлики по отношение на обем и тъканна плътност в определени структури при двата пола като: амигдала, хипокамп, инсула. Тези структури, както знаем, се ангажират в развитие на определени психиатрични нарушения с установена полово-детерминирана по – голяма предразположеност за развитие. като шизофрения и депресия. При мъжете се установяват по – големи обеми и по – голяма тъканна плътност на ляв амигдал, хипокамп, инсуларен кортекс, путамен; по-голяма тъканна плътност на VI дял на малък мозък и ляв клауструм; по – големи обеми билатерално на парахипокампални гънки, posterior cingulate gyri, precuneus, temporal pole, cerebellum, области от лява задна и предна cingulate gyri, десен амигдал, хипокамп и путамен. При жените се установяват по – голяма плътност на left frontal pole, по – големи обеми на десен фронтален полюс, долна и средна фронтална гънка, pars triangularis, planum temporale/parietal operculum, anterior cingulate gyrus, insular cortex, Heschl's gyrus, билатерално thalamus и precuneus; left parahippocampal gyrus и lateral occipital cortex (23). Резултатите от проведените изследвания на обем и тъканна плътност включват области, които са част от лимбичната и езиковата системи на мозъка. Тези резултати посочват потенциална латерална асиметрия в полово свързаните структурни и функционални отлики. По – големите обеми при мъжете се отнасят предимно за билатералната лимбична система и ляв постериорен cingulate gyrus. По – голяма тъканна плътност се установява в рамките на лява половина на лимбичната система. В същото време по – големи обеми при индивидите от женски пол се установяват изключително в зони локализирани в дясна хемисфера, свързани с езиковите умения, както и в редица структури на лимбичната система – right insular cortex anterior и cingulate gyrus. Данните от този мета-анализ посочват мозъчни структури, подходящи за изследване

на асиметричния ефект на пола върху развиващия се мозък. Изучаването на тези структури хвърля светлина върху полово детерминирани като предразположеност за развитие неврологични и психиатрични заболявания. (23) Мета-анализ, проведен през 2016г. обаче посочва, че няма разлика в обем на хипокамп между двата пола. Експериментални проучвания на активността на хипокамп в условия на стрес- влияние на стрес върху Рефлекс на Павлов (Pavlovian conditioning performance), установява по-добро справяне/резултатност при мъжете в сравнение с жените. Установява се доминантно активиране на ляв хипокамп при жените, докато при мъжете се демонстрира по- голяма активност на десен хипокамп. Това от своя страна повлиява cognitive reasoning. Жените използват повече вербални стратегии в сравнение с мъжете при изпълнение на задачи, които изискват когнитивно функциониране (21).

Връзката на хипокамп с други структури в мозъка повлиява процесите на заучаване. Установен е полов диморфизъм и по отношение на тези връзки. Доказано е, че естрадиол повлиява развитието на хипокамп. Редица проучвания върху ендогенната неврогенеза – вътрешно обусловено формиране на нови неврони, установяват по – силно застъпен процес в хипокамп при мъжете в сравнение с жените. Инжектиране на екзогенен естрадиол увеличава броят на нови неврони в хипокамп на женски индивиди до нива, еквивалентни на установените при мъжките индивиди. Това демонстрира, че половите разлики по отношение на хипокамп се определят отчасти от нивата на ендогенния естрадиол.

1.12.4. РОЛЯ НА ПОЛОВИТЕ ХОРМОНИ ЗА ПРОМЕНИ В ОБЕМ НА ХИПОКАМП

Известно е, че естроген/естрадиол оказва въздействие в ЦНС и други тъкани посредством клетъчни и молекулярни механизми на взаимодействие. Естроген повлиява множество поведенчески и физиологични процеси извън традиционната му роля за възпроизводство. Мозъчни структури като хипокамп са под въздействие на естроген независимо от малочисления брой клетъчни нуклеарни естрогенови рецептори (ER) (154). Този ефект може да се обясни с мощно транс-синаптично влияние на малък брой ER-съдържащи клетки върху други неврони (напр. GABA инхибиторни неврони). Или чрез действие на не-нуклеарни ER и second-messenger активиране. Или като следствие от двата пътя на въздействие. В други области на ЦНС, които не експресират ER α , естроген въздействието може да се обясни с наличие на клетъчни нуклеарни ER β . Следователно извън класическия геномен ефект на естрадиол изучаван през последните 40 години, молекулярните механизми на въздействие на естроген вероятно участват в много пътища, обичайно

неглижирани, в рамките на които се разгръща индиректна геномна активация като следствие от second-messenger активирание. Ефектите на естроген на ниво ЦНС включват:

- регулиране на невротрансмитерни системи, свързани с контрол на настроение, като серотонин, допамин, адреналин, норадреналин;
- повлиява активността на РЕМТ и синтеза на холин, чрез което индиректно оказва ефект по отношение ДНК-метиране, морфогенеза, структурен интегритет и клетъчни окислително/редукционни системи;
- чувствителност на ниво амигдала по отношение промени в нивата на естроген, която е свързана с процесите на регулация на настроението/емоциите;
- стимулиране активности в хипокамп, свързани с емоциите-реакции на възнаграждение.

Някои жени са изключително чувствителни към промени в нивата на половите хормони, което обуславя голяма податливост към депресия при спад на тези нива.

1.13. ИМУНОМОДУЛИРАЩИ АГЕНТИ

Лечението с имуномодулиращи агенти има за цел да модифицира хода на развитие на болестта чрез промяна в активността на автоимунния процес. Прилага се извън пристъп (15). Крайната цел е намаляване степента на инвалидизация при пациентите посредством подтискане на клиничната и субклиничната активност, честотата и тежестта на пристъпите, степента на възстановяване на неврологичния дефицит и дългосрочните промени като развитие на мозъчна атрофия.

Определя се от формата на развитие на болестта и активността. Понастоящем медикаментите от тази група се прилагат само при пристъпно-ремитентна форма на болестта. За болни с вторично прогредиентен ход на заболяването клинични резултати са потвърдени само от приложение на интерферон бета-1в (β -1b) (15).

Имуномодулиращите агенти са разпределени в групи като медикаменти на избор от първа линия и втора линия. Медикаменти от първа линия са интерферон бета-1а (Avonex, Rebif и Plegridy) и бета-1в (Betaferon и Extavia), синтетичен кополимер glatiramer acetate, dimethyl fumarate и teriflunomide (15).

1.13.1. ИНТЕРФЕРОН БЕТА - ИЗТОЧНИЦИ

Интерферон бета (beta-1a и beta-1b) е г्लукопротеин, натурален цитокин. Интерфероните са открити през 1957г. Наречени са така, защото интерферират с репликацията на вирусите. Открити са три типа интерферони – алфа, бета и гама. Принадлежат към семейството на естествени сигнални протеини, които се секретират от клетки в присъствие на различни патогени като вируси, бактерии, паразити, туморни клетки. Тези сигнални протеини взаимодействат с мембранни клетъчни рецептори. Разгръщат се интрацелуларни противовирусни, антипролиферативни и имуномодулаторни ефекти. Причина за първоначалното прилагане на интерферони за лечение на МС е предположението за вирусна етиология на заболяването.

Интерферон бета е съставен от 166 аминокиселини. Произвежда се от фибробласти и някои други видове клетки в отговор на вирусна инфекция. Натурален бета интерферон се добива от човешки фибробластни клетки. Прилагат се рекомбинантни ДНК технологии за добиване на продукта в големи количества. С помощта на генно инженерство от човешкия интерферон бета са създадени две рекомбинантни молекули. По – близък до човешкия интерферон е полученият от овариални клетки на китайски хамстер интерферон бета-1a. Той е г्लуколизиран. Интерферон бета-1в се добива от бактерии *E. coli*. В неговата молекула в аминокиселината на 17 позиция вследствие на мутация липсва метионин в азотния терминал. Аспаргиновият остатък на 80 позиция не е г्लуколизиран. Тези промени стабилизират молекулата без да се отразяват на функцията на белтъчната молекула. Двата продукта не се различават по физични и химични свойства, по фармакодинамика и фармакокинетика (15).

1.13.2. МЕХАНИЗЪМ НА ДЕЙСТВИЕ

Интерферон бета е утвърден за приложение при множествена склероза поради установените ефекти върху активността на имунния процес. Той не преминава кръвно-мозъчната бариера и няма директен ефект по отношение на възпалителния процес в главния и гръбначния мозък. Приложението на интерферон води до клинично подобрене около 2 до 12 месеца след началото на апликиране. Ефект от лечението може да се наблюдава до 6 месеца след преустановяване на терапията (15). Интерферон подтиска клетъчната пролиферация, клонирането на Т-клетките в Th1 и активността на автореактивните Т-лимфоцити, повлиява тяхната миграция през кръвно-мозъчната бариера и навлизането им в ЦНС (13). По този начин се подтиска деструкцията на миелин и активността на олигодендроцитите. Интерферон бета стимулира секреция на IL-10, който принадлежи към семейството на

цитокините и има противовъзпалителен ефект. Подтиска синтеза на INF- γ , който засилва имунната реакция.

Интерферон бета повлиява антигенната презентация от антиген-представящите клетки (АПК) – макрофаги и В-лимфоцити посредством подтискане на провокираната от IFN- γ експресия на молекули от клас II върху повърхността на АПК. Така се намалява възможността за обработка и презентация на антигени, което е необходимо условие за активиране на Т-лимфоцитите. Бета интерфероните активират експресията на вътреклетъчна костимулационна молекула CTLA4 и повърхностни Fas молекули върху CD4+ Т-лимфоцитите. Така намалява апоптозния протеин и съответно резистентността на Т-клетките към апоптоза. Постига се апоптоза на автореактивни Т-клетки. Вероятността да се активират патогенни автореактивни Т-клетки също намалява. Затруднява се каскадата от невротоксични събития. Намалява секрецията на проинфламаторни цитокини от Th1 лимфоцитите (INF- γ , TNF- α , IL-2, IL-12, IL-23, IL-27). Променя се балансът на съотношението Th1/Th2 в полза на Th2 отговор, който е с противовъзпалителен ефект. Включва се секреция на противовъзпалителни цитокини- IL-4 и IL-10. Те достигат максимално серумно ниво след едногодишна терапия (13). Повишава се експресията на хемокинен рецептор CCR7, който е важен за навлизане на Т-лимфоцитите в периферните лимфни възли, и съответно пренасочване на автореактивни Т-клетки към вторичните лимфни тъкани (13). Като подтискат експресията на адхезионни молекули върху клетъчната повърхност, бета интерфероните намаляват потенциала за адхезия към ендотела, и така подтискат миграцията на Т-клетки през КМБ и инвазията на ЦНС (13).

Бета интерфероните имат невропротективен ефект, осъществяван посредством техния противовъзпалителен ефект (13). Като резултат от модифициране на възпалителната активност се предотвратява развитието на невронна загуба и атрофия. Подтискане активността на микроглията предотвратява увредата на миелина, на аксоните и на кръвно-мозъчната бариера, което от своя страна също води до инхибиране процесите на атрофия на ЦНС. Интерфероните стимулират освобождаване на нервнен растежен фактор от астроцитите (NGF) (13). Така се подпомага процесът на клетъчна регенерация.

1.13.3. СТРАНИЧНИ ЕФЕКТИ ОТ ПРИЛОЖЕНИЕ НА ИНТЕРФЕРОН БЕТА

Психиатрични и особено афективни нарушения се срещат често при пациентите с МС. В комплексната генеза на състоянията своята роля имат и прилаганите медикаменти за лечение на пристъп (кортикостероиди) и

имуномодулиращи агенти като INF- β (249). Goeб J. L. съобщава за 16 публикувани проучвания, които предоставят данни за прояви на депресия и намерения за самоубийство при пациенти на лечение с INF- β 1a/1b. Страничните ефекти са наблюдавани главно в ранните етапи от лечението и са били причина за преустановяване на терапията в 2-12,5% от случаите (109). Патологичните механизми, които обуславят разгръщане на тези странични ефекти включват активиране на хипоталамо- хипофизо- надбъбречна ос, имунорегулаторно действие и изчерпване на серотонин. Интерфероните (α , β и γ) индуцират ензима indoleamine- 2,3-dioxygenase (IDO), което изчерпва триптофан. Триптофан е прекурсор на серотонин. Проучване върху активността на ензима при МС пациенти, третирани с INF- β установява значително нарастване на активността на IDO. Като резултат от повишената активност и изчерпване на триптофан, се появява серотонинов дефицит и намалена активност на серотонинергичната невротрансмитерна система (86).

Клиничната ефективност на интерферон се определя чрез отчитане на два аспекта:

- активност на заболяването – честота, тежест и продължителност на пристъпите, като трябва да се има предвид, че времето до поява на следващ пристъп след започване на лечение зависи от активността на болестта и от честотата на пристъпите в периода, предхождащ включването на интерферон;
- тежест на заболяването – оценява се чрез натрупания неврологичен дефицит, оценен по скалата на Kurtzke (137). Тя определя инвалидността на пациентите, както и индиректно дава прогноза за прогресията на болестта. Оценката на тежестта на заболяването, определена по скалата на Kurtzke обаче не е много точна. Освен това трябва да се има предвид, че лечението може да се започне при различна изходна тежест.

1.14. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МС е сред най – честите причини за инвалидизация при млади хора. Заболяването представлява автоимунен възпалителен процес, медиран от погрешно насочена атака на Т-клетките срещу структури на ЦНС, в частност миелиновите обвивки на аксоните. МС се развива при повечето пациенти като пристъпно-ремитентно състояние и демонстрира характеристики на автоимунен и възпалителен процес при лабораторни и образни изследвания. В ликворно изследване на пациенти често се установяват олигоклонални имуноглобулини от клас Г (IgG), както и преходно усилване с Gadolinium на

лезиите при МРТ изследване на ЦНС. И двата показателя демонстрират наличие на възпалителен процес и нарушен пермеабилитет на кръвно-мозъчната бариера. В допълнение, патоанатомични изследвания на биопсичен материал от пациенти с МС визуализират характерен периваскуларен възпалителен инфилтрат, който се състои основно от Т-клетки и макрофаги, заедно с разпадни продукти на миелин и дегенерация на прилежащи аксони. МС традиционно се възприема като заболяване на бялата субстанция в ЦНС. През последните години данни от образни изследвания доказват, че структури на сивото мозъчно вещество (неврони и синапси) също са ангажирани в патологичния процес.

Години наред болестта бе интерпретирана като първично аутоимунна по етиология въз основа на неоспоримо установените възпалителни характеристики. Редица трудове и изследвания, проведени през последните няколко десетилетия, се фокусират върху разкриване на имунологична причина и съответни молекулярни таргети. Тези изследвания разширяват познанията в областта на имунологията, генетиката и епидемиологията на МС. Установена е силна корелация между генетични фактори и регулаторни имунологични механизми, която води до атака срещу ЦНС елементи. Разработени са фармакологично активни субстанции за лечение. Те са насочени към модулиране на имунната система и нейната активност. Този подход, базиран на доминиращите доказателства, че болестта има инфламаторен фенотип почива на презумпцията, че патофизиологичният процес се отключва от имунна дисрегулация. Това може да наречем модел на МС „*отвън-навътре*“, според който основни аномалии на имунната система се задействат и атакуват ЦНС. Клиничният опит демонстрира някои несъответствия, които подлагат на съмнение тази теория.

Възможно ли е МС да е първично прогресивно заболяване, при което подлежащ дегенеративен процес се развива прогресивно, задействан от съответни генетични фактори, подобно на други невродегенеративни нарушения, като остава относително не повлиян от последващо активиране и действие на защитен възпалителен процес. Като се фокусираме върху възпалителния процес при пристъпно-ремитентна форма на МС може да интерпретираме едностранчиво и да negliжираме подлежащ процес. Моделът „*отвътре-навън*“ предполага, че при МС има първична цитодегенерация, която първоначално може да обхваща олигодендроцитите и миелина. Този модел допуска, че заболяването стартира години преди да се развие явен клиничен симптом. Това, което поставя МС отделно от всяко друго прогресивно невродегенеративно заболяване е предиспозицията на гостоприемника да реагира на процеса на невродегенерация и на силно аутоантигенните компоненти (напр. цитрулиниран миелин базичен протеин,

миелинови липиди и екстернализиран фосфатидилсерин от апоптозните миелинови мембрани), които се освобождават като последица от цитодегенерацията.

Последни проучвания демонстрират наличие на имунен отговор и при болестта на Алцхаймер. Това потвърждава тесните връзки между ЦНС и имунната система. В случая имунната система има роля подпомагаща изчистване, отстраняване на продукти на невродегенерация и по този начин оздравяване на ЦНС. Този модел предполага, че МС може да е резултат от взаимодействието между процеси на прогресивна цитодегенерация и вариативна имунна активация.

Имунофокусираният подход в теориите за патогенезата на заболяването въвежда идеята за аберантна имунна система. Тя провокира инфилтриране на ЦНС с автореактивни Т-лимфоцити. Отключва се каскада и мрежа от имуномедиранни реакции в мозъчната тъкан атакуващи миелин, с последващи етапи на възпалителна демиелинизация и аксонна дегенерация. Повече от МС пациентите се представят с прогресивен ход на болестта след известен брой години. Около 50-70% от пациентите с ПРМС преминават във ВПМС след около 10 годишен ход на боледуване Това поставя под въпрос изчерпателността на имунофокусираната теория. Алтернативна хипотеза приема, че първично дегенеративен процес на бялата мозъчна субстанция вторично въвлича пристъпни атаки на възпалителна демиелинизация. След като имунната дисрегулация отслабне с годините в рамките на възрастовите промени на имунната система, прогресивната дегенерация продължава вече без маската на имунен процес. Това обуславя важността от прилагане на нови технологии, които да изследват биохимични промени в бялата мозъчна субстанция на етап преди развитие на изявена демиелинизация и без наличие на възпалителна инфилтрация. Съчетаното прилагане на различни неконвенционални МРТ методи и невропсихологични тестове позволява нов прочит на най – ранните промени при МС.

1.15. ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ ОБЗОР

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

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

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

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

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

ГЛАВА ВТОРА

1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1.1. ЦЕЛ

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

1.2. ЗАДАЧИ

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

ГЛАВА ТРЕТА

1.КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ

1.1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

Проучването включва 50 пациента с уточнена диагноза множествена склероза, съобразно ревизираните критерии на McDonald. Подбрани са пациенти с под 10 години продължителност на заболяването поради установено преминаване на ПРМС във ВПМС при около 70% от ПРМС за 6-10 год. след началото на болестта. Изследваната група болни е сравнена с група здрави индивиди – 30 на брой, подбрани в съответствие с кореспондиращи демографски критерии. Статистически анализ на получените данни бе проведен въз основа на резултатите от изследванията при 50 МС пациента и 28 здрави контроли. От статистическа обработка на данните отпаднаха двама от изследваните индивиди в групата на здравите контроли поради неизпълнение на протокола.

Група на пациентите с МС:

Включващи критерии:

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

Изключващи критерии:

- пристъп на заболяването в последните шест месеца преди изследването.
- приложение на кортикостероид през последните два месеца преди изследването.
- наличие на друго автоимунно заболяване.
- анамнеза за уточнена диагноза депресия, тежък депресивен епизод и/или провеждано лечение с антидепресанти за установена депресивна симптоматика.

- наличие на активен възпалителен процес.
- провеждано лечение с друг вид имуномодулираща терапия.
- наличие на двигателен дефицит, зрителни или слухови нарушения.
- употреба на алкохол или други психотропни медикаменти и вещества.

Контролна група:

Включващи критерии:

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

Изключващи критерии:

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

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

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

1.2. МЕТОДИ

1.2.1. КЛИНИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

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

1.2.2. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

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

1.2.2.1. PACED AUDITORY SERIAL ADDITION TEST

Paced Auditory Serial Addition Test е невропсихологичен тест за оценка на капацитет и скорост на обработка на информация, както и на поддържане и разпределяемост на вниманието. Оригиналният тест е бил известен като Paced Auditory Serial Addition Task (PASAT). PASAT е разработен първоначално за изследване на пациенти с черепномозъчни травми (2). Впоследствие тестът намира широко приложение за оценка и при други състояния извън травматичните мозъчни увреждания (33). Включен е в състава на панел тестове за оценка на когнитивното функциониране при MS Minimal Assessment of Cognitive Function in MS (MACFIMS) (33).

Версията, прилагана като част от Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) се изпълнява като на изследвания индивид се подава гласно число на всеки 3 секунди (63). Тестът ангажира за изпълнението си работната памет (working memory), процесите на внимание, бдителност и аритметични способности (116). Пациентът слуша аудио запис на числа, подавани едно по едно. Задачата за пациента е да сумира числата като прибавя последно подаденото число с това, което е чул непосредствено преди него. Например: записът може да подава числата 1, 7, 5, 4. Пациентът сумира първите две числа ($1+7$) и дава отговор- 8. След това пациентът сумира следващите две числа ($7+5$) и дава съответен отговор – 12. На следващия етап пациентът сумира трета двойка числа- в случая $5+4$, и дава отговор- 9. Задачата продължава по описания начин докато се изпълни за пълния брой от 61 числа, като числата се подават на случаен принцип. Разработени са и версии на теста, при които се подава число на всеки 2 секунди. Оригиналната версия на теста е с подаване на числата на всеки 2.4 секунди с 0.4 декремент за последващите изпитвания (trials). Тестът може да се изпълнява като числата

се подават през различен времеви интервал- от бавно подаване на число на всеки 2.4 секунди до най- бързо подаване през интервал от 1.2 секунди.

PASAT оценява процесите внимание и бдителност, тъй като се изисква пациентът не само да внимава за подаваните стимули – числа, но и да бъде бдителен за промените, които настъпват в представянето на стимулите. Това е изключително чувствителен тест за измерване на бдителност. PASAT ангажира участие на работната или т.н. краткосрочна памет. Пациентът трябва да „задържи“ в краткосрочната памет предшестващото подадено число, докато сумира и формулира отговор. /вж. Приложение 27/

1.2.2.2. ТЕСТ СИМВОЛ-ЦИФРОВИ МОДАЛНОСТИ „SYMBOL DIGIT MODALITIES TEST“

The Symbol Digit Modalities Test – устна и писмена версия, е изключително чувствителен тест за оценка на промени в скоростта на обработка на информация. SDMT характеризира процеси като зрение, реч, заучаване, скорост и прецизност, мануална моторна функция. Поради лесното приложение, както и в резултат на неговата надеждност, обща и предикативна достоверност, чувствителност и специфичност, тестът е основен инструмент за невропсихологична оценка при пациентите с МС (180). SDMT е съставна част от панел тестове The Brief International Cognitive Assessment for MS (32, 33, 140, 149, 157). През последните години SDMT е най-широко прилаган тест за оценка на промените в обработката на информация в клинични изпитания на медикаменти за лечение на МС (27, 32, 35, 43). Тестът оценява промени в бързата визуална обработка на информация и на работната памет. При пациенти с множествена склероза често се откриват нарушения в тези функции. Изпълнението на теста и оценяване на получения резултат се извършва в рамките на приблизително пет минути.

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

Тестът не е валидизиран в България. Прилага се при когнитивна оценка на пациенти, включени в изпитване на лекарствени продукти за лечение на МС. В проучването е приложен идентичен вариант на теста. /вж. Приложение 28/

1.2.2.3. СКАЛА ЗА ОЦЕНКА ТЕЖЕСТТА НА УМОРА „FATIGUE SEVERITY SCALE“

Представява скала от девет въпроса за самооценка на тежестта на умората и нейният ефект върху ежедневните дейности на индивида, както и по отношение режима на живот. Прилага се при различен тип заболявания. Може да се оценяват пациенти със системен лупус еритематозус, артрит, фибромиалгия, синдром на хронична умора, множествена склероза, паркинсонова болест, инсулт, травматична мозъчна увреда. Скалата е разработена за да диференцира умората от клиничната депресия, тъй като двете състояния имат общи симптоми.

Въпросник за самооценка с девет въпроса прилага 7 точкова Likert скала („напълно несъгласен“ до „напълно съгласен“). Отчита влиянието на умората при съответния пациент върху определени дейности като отбелязва субективна оценка на тежестта на ефекта в седем-степенна стъпка. Седем точкова скала маркира тежестта на проява при отделните въпроси като с 1 се отбелязва – „напълно не съм съгласен“ до 7 – „напълно съгласен“. Минимален резултат от скалата е 9 точки, максимално възможен резултат е 63 точки. Колкото по – висок е резултатът, толкова по – тежка е умората. Друг възможен начин за сумиране и представяне на резултата е средна стойност от всички резултати по отделните въпроси с минимален резултат 1 и максимален – 7. Пациентите с депресия обикновено имат резултат около 4,5, докато тези с МС или системен лупус – около 6,5.

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

Всички пациенти проведоха тестване в еднакъв период от деня – часовете преди обяд, при идентичен температурен диапазон. /вж. Приложение 29/

1.2.3. ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕМОЦИОНАЛНАТА СФЕРА – СКАЛИ ЗА ДЕПРЕСИЯ

1.2.3.1. ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР БЕК BDI

BDI е въпросник, разработен от Aaron T. Beck през 1961 г. като скрининг на депресивни състояния. Разработени са три версии на BDI – оригиналната версия, публикувана през 1961 г., по – късно ревизирана през 1978 г. като BDI – 1А , и BDI – II от 1996 г. Съдържа 21 въпроса за самооценка относно това как се е чувствал индивидът през последните две седмици с отговори по типа на multiple choice. При изчисляване на резултата за всеки отговор се дава стойност от 0 до 3 и общият брой точки се съотнася към ключ за да се определи тежестта на депресия. Степените са съответно: минимална (minimal), лека (mild), средна (moderate), тежка (severe). Съответният диапазон: 0-13, 14-19, 20-28, 29-63 съгласно версия BDI – II 1996. Това е един от най – широко прилаганите психо метрични тестове. Тестът позволява проследяване на пациента и предоставя обективно измерване на промени в състоянието и ефективност от провежданата терапия. Понастоящем се прилага версия BDI – II, която може да се използва при индивиди от 13 годишна възраст нагоре. Състои се от въпроси, отнасящи се до симптоми на депресия като състояние на безнадеждност и раздразнителност, чувство на вина или съзнание за наказание, а така също и физически симптоми като умора, загуба на тегло и липса на удоволствие включително от секса.

Тестът се прилага широко, както от здравни специалисти, така и от изследователи в клинични проучвания и други разработки. Въз основа на BDI е разработена и скалата за оценка на депресия при деца Children’s Depression Inventory (CDI) 1979 г. от Maria Kovacs.

В исторически аспект депресията е описвана с психо динамични термини като „*обърната враждебност към самия себе си*“. В контраст на това определение BDI е разработена в разказвателен стил чрез съпоставяне дословно на описание, представено от пациента, към неговите симптоми. Тези данни са приложени за структуриране на скала, която може да отрази интензивността или тежестта на съответните симптоми. Beck привлича вниманието към важността на негативното познание “*negative cognitions*”, представено като продължителни, неточни и често пъти натрапчиви негативни мисли за самия себе си. Погледнато така това съзнание (cognitions) предизвиква депресия, а не се провокира от самата депресия. Beck разработва триада от негативни „*съзнания*“, отнесени към света, към бъдещето и към самия себе си, които играят основна роля при депресия.

Тестът като всяка скала за самооценка страда от недостатък пациентът да преувеличава или да подценява и минимализира състоянието си и неговата

оценка. Наблюдава се, както при други въпросници, ефект на социалната среда. Ако пациентът трябва да попълни въпросника в болнична обстановка, социалните очаквания предизвикват отговори, които се различават от тези, дадени в случай, че въпросите се попълват и изпращат по пощата. /вж. Приложение 30/

1.2.3.2. ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР ГОЛДБЪРГ „GOLDBERG DEPRESSION INVENTORY QUESTIONNAIRE“

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

Разработен е от Ivan Goldberg през 1993 г. Goldberg е психиатър, специализирал в лечение на депресия и биполярни разстройства, работил в National Institute of Mental Health, New York, USA, и Columbia University. Състои се от 18 въпроса, оценяващи емоционалното, физическо и интелектуално благополучие на пациента. Предоставя бърза оценка на симптомите, която не може да замени диагностичен процес, проведен от лицензиран специалист психиатър. Отговорите на въпросите се степенуват в следния вид: *въобще не, само леко, отчасти, много, доста много, до голяма степен*. Отговорите се оценяват съответно с точки от 0 – „*въобще не*“ до 5 – „*до голяма степен*“. След сумиране на оценките се определя крайната оценка на резултата от теста за значимостта на симптомите:

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

При повторно провеждане на теста ежеседмично или месечно, промяна в резултата с 5 или повече точки е от значение. В този смисъл тестът се прилага за мониториране на промени в настроението, особено по време на медикаментозна терапия за депресия. Проучвания върху валидността на теста са установили, че е удобен инструмент за бърз скрининг на пациенти с депресия, с добра надеждност и стабилност на получените резултати.

Приложението на теста отнема около 5 минути за отговор на въпросите. /вж. Приложение 31/

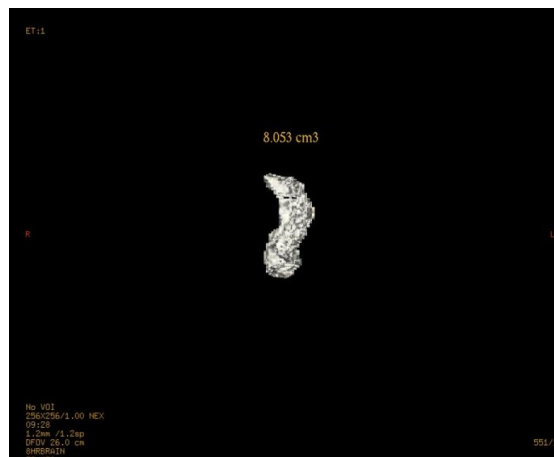
1.2.4. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КРЪВНА ПРОБА

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

1.2.5. МРТ ОБРАЗНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

1.2.5.1. 3-D T1 МРТ ХИПОКАМП- ВОЛУМЕТРИЯ

Двете групи провеждат кМРТ на глава съгласно утвърден протокол за пациенти с МС, прилаган в Отделение по „Образна диагностика“ към УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София. От получените T1 образи се измерва обем на хипокамп с прилагане на 3-измерна методика (3-D acquisition volumetry) в равнина, перпендикулярна на оста на хипокамп (PERP протокол) (24, 28). МРТ е осъществена на МРТ “Signa “ 1.5T HDxt. 3-D T1 образи се получават в аксиална и сагитална равнина с мануален полуавтоматичен метод при дебелина на среза 0,5мм и отстояние 0мм. Обемът на структурата се изчислява чрез сумиране на очертаните образи в последователните срезове, умножени по дебелината на среза. Измереният обем се представя в cm^3 . Прилага се полуавтоматичен метод за маркиране зоната на интерес. Измерват се тяло и опашка на хипокамп – hippocampus proper, subiculum, gyrus dentatus, alveus, fimbria hippocampi. В измерването не се включват amygdala, gyrus parahippocampalis, isthmus gyrus cinguli, crus fornicis.



Фигура 6. Триизмерно представяне на хипокамп посредством приложение на 3-D хипокампадна волуметрия. Измереният обем се представя в cm^3 .

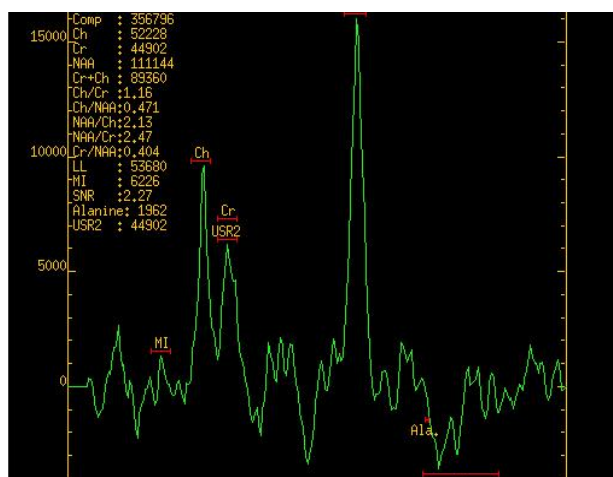
1.2.5.2. ПРОТОННА МАГНИТНОРЕЗОНАНСНА СПЕКТРОСКОПИЯ

Протонната магнитнорезонансна спектроскопия е метод за изследване и регистриране на промени в мозъчния метаболизъм *in vivo*.

ПрМРС е метод, при който се записват сигнали, отразени от протоните на органични молекули – метаболити в ЦНС. Техните концентрации са 1000 пъти по – ниски от тази на водата в тъканите. Нормалният спектър на мозъка се представя с три резонансни пика на метаболитите. Първият пик се оформя от тетраметил амините (Cho), които са предимно холинови фосфолипиди. Те участват в синтез и разграждане на клетъчни мембрани. Втори пик се оформя от съдържанието на креатин и фосфокреатин (Cr). Те участват в енергийния метаболизъм. Третият пик е на N-ацетиловите групи (A), които обхващат невронно локализираните NAA. Четвърти пик може да се оформи, особено при патологичен процес, от лактати и липиди (LA).

ПрМРС е единственият метод, специфичен за увреждания на определени клетъчни типове (13). При този метод се изследват протони в органични молекули на жива тъкан, а не тези на водата. При МС пациентите интерес представлява измерването на органичните молекули холин, креатин, N- ацетиласпартат, глутамат и миоинозитол.

NAA е аминокиселина, разположена изключително преимуществено в неврони, аксони и дендрити (13). Cho отразява мембрания търновер. Cr и фосфокреатин са маркери за клетъчната активност, а Муо се произвежда от глиални клетки. Изследването отнема 10-15мин. и може да се прибави към протокола на конвенционално МРТ изследване. МРТ е осъществена на МРТ “Signa “ 1.5T HDxt. Приложен е протокол за ПрМРС, използван в Отделение по „Образна диагностика“ към УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София.



Фигура 7. Протонна магнитно резонансна спектроскопия- графично представяне на спектър на изследвани мозъчни метаболити със съответни резонансни пикове (ppm).

1.2.6. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

А. Описателни методи и методи за оценка:

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

Б. Методи за проверка на хипотези:

1) Параметрични

1. Т-test за две независими извадки (Independent Samples T-test) – проверява съществува ли статистически значима разлика между две средни на две независими извадки, когато променливата е нормално разпределена.
2. Еднофакторен дисперсионен анализ (Oneway ANOVA) – проверява за равенство на повече от две средни, когато разпределението във всяка група е близко до нормалното и разсейването в групите е приблизително еднакво. При наличие на статистически значима разлика между средните към този анализ се прилага и Post-Hoc, за да установи между кои средни се установява разлика. Дисперсионният анализ може да се използва и при наличие на две средни, защото по същество той дава отговор на въпроса, дали фактор, който има качествено изражение, оказва влияние върху резултат с количествено изражение.

2) Непараметрични

1. Тест на Mann-Whitney за две независими извадки (Mann-Whitney U Test) – проверява съществува ли статистически значима разлика между две средни на две независими извадки, когато променливата не е нормално разпределена или има качествено изражение. Това е непараметричният аналог на Т-теста;
2. Тест на Kruskal-Wallis за повече от две независими извадки (Kruskal-Wallis H Test) – проверява за равенство на повече от две средни, когато разпределението във всяка група не е близко до нормалното или разсейването в групите е различно;

3. Хи-квадрат анализ – проверява наличие на връзка между две качествени променливи;
4. Тест на Kolmogorov-Smirnov – проверява дали една количествена променлива е нормално разпределена. Използва се при големи по обем извадки;
5. Тест на Shapiro-Wilk – проверява дали една количествена променлива е нормално разпределена. Използва се при малки по обем извадки;

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

$0 < |R| \leq 0,3$ – слаба корелация

$0,3 < |R| \leq 0,5$ – умерена корелация

$0,5 < |R| \leq 0,7$ – значителна корелация

$0,7 < |R| \leq 0,9$ – висока корелация

$0,9 < |R| < 1,0$ – много висока корелация

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

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

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

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

ХИПОТЕЗА

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

ГЛАВА ЧЕТВЪРТА

1. СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ

1.1. ДЕМОГРАФСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ИЗВАДКАТА

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

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

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

Заболяването МС засяга лица предимно в млада възраст, най – често във възрастов диапазон 30 – 34 години. Проучването включва пациенти на възраст между 20 и 40 години, със средна възраст при здравите пациенти 33 ± 5 години, а при МС пациентите 33 ± 7 години, и средна продължителност на заболяване $4,85\pm 2,68$ години.

Таблица 4. Демографски променливи на изследваните лица

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

1- нормирано работно време

2- гъвкаво работно време

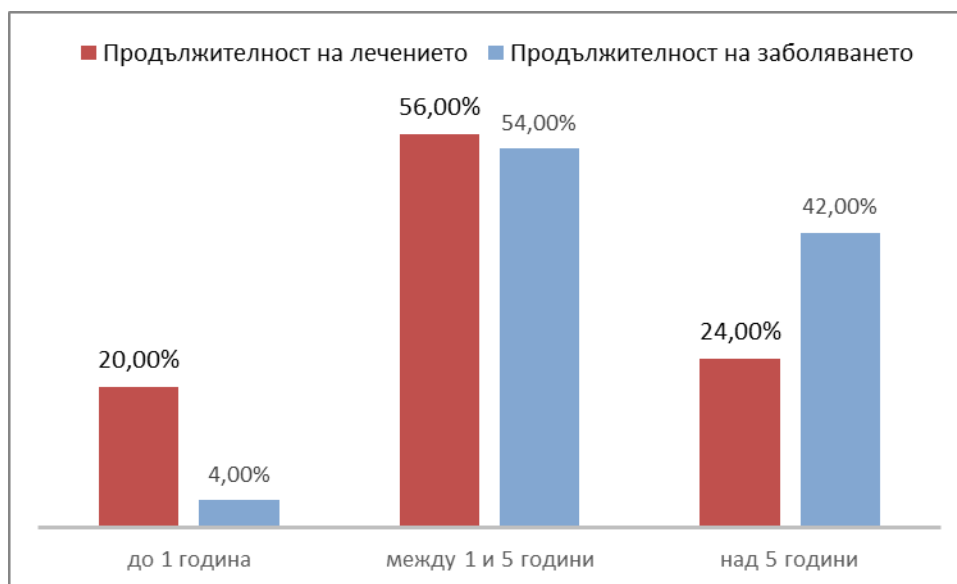
След тестване за статистически значима разлика по демографските фактори между двете групи пациенти (таблица 4) не са открити съществени различия. Това дава основание да се направи извода, че двете групи са сходни по отношение на пол, образование, работна заетост и възраст, и те не оказват влияние в тестваните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

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

Таблица 5. Засегнати функционални системи при МС болните (Kurtzke-EDSS)

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

Продължителността на заболяването е изчислена според момента на уточняване на диагнозата и времето на изследванията. Средна продължителност на заболяването, изчислена спрямо момента на уточняване на диагнозата $4,85 \pm 2,68$ години. Пациентите са разделени в три групи – с продължителност до 1 година, между 1 и 5 години и над 5 години. Около половината от болните попадат в групата с продължителност между 1 и 5 години (54%). Двама пациенти (4%) са с продължителност под 1 година. Останалите 42% са с продължителност на заболяване над 5 години. Максималната продължителност на заболяването е 10 години.

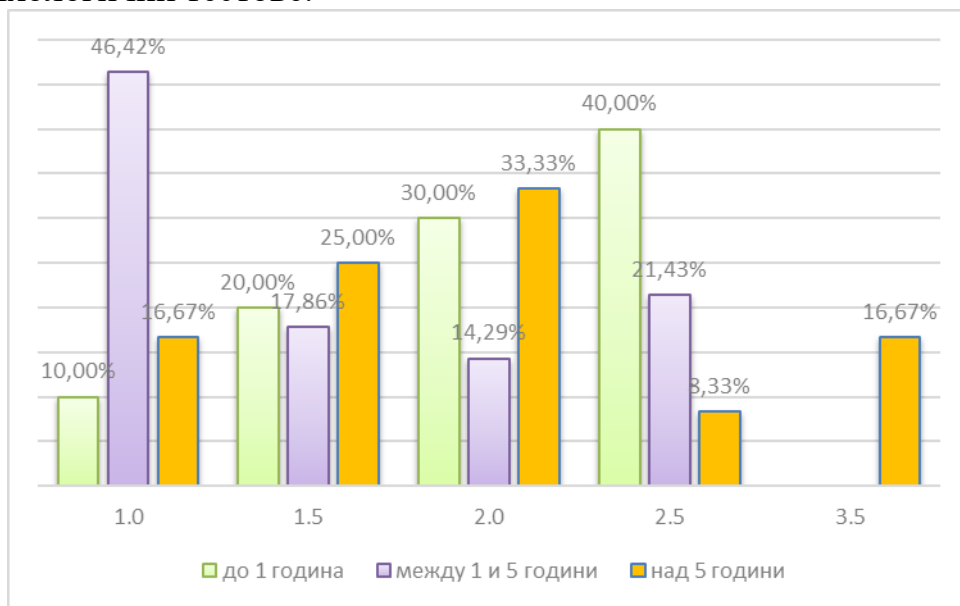


Фигура 8. Структура по продължителност на заболяване и лечение на МС пациенти.

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

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

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



Фигура 9. Структура на МС пациентите според степен на инвалидност (EDSS) при продължителност на лечение до 1 година, между 1 и 5 години и над 5 години.

1.2.ХИПОКАМП ВОЛУМЕТРИЯ

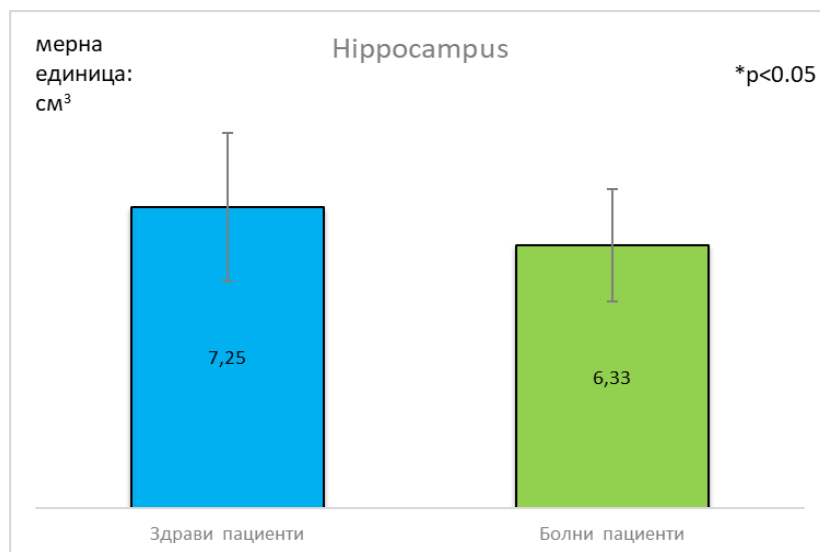
Измерването на структурата на хипокампа е осъществено по МРТ протокол, прилаган в Отделението по „Образна диагностика“ на УМБАЛ „Св. Иван Рилски“. Въз основа на литературните данни се допуска хипотезата, че между обема на хипокампа при здравите контроли и МС пациентите ще има значима разлика. Тази разлика е представена на фигура 10, която онагледява хипокампа при случайно избрана контрола и пациент. За да се установи дали това е така, ще се използва статистическа проверка на хипотези за статистически значима разлика между контроли и пациенти.

Заболяването МС се характеризира с по – голяма честота сред индивидите от женски пол. По – агресивно протича при болните от мъжки пол. Това насочва анализа на обема на хипокампа в търсене и на полово детерминирани разлики.

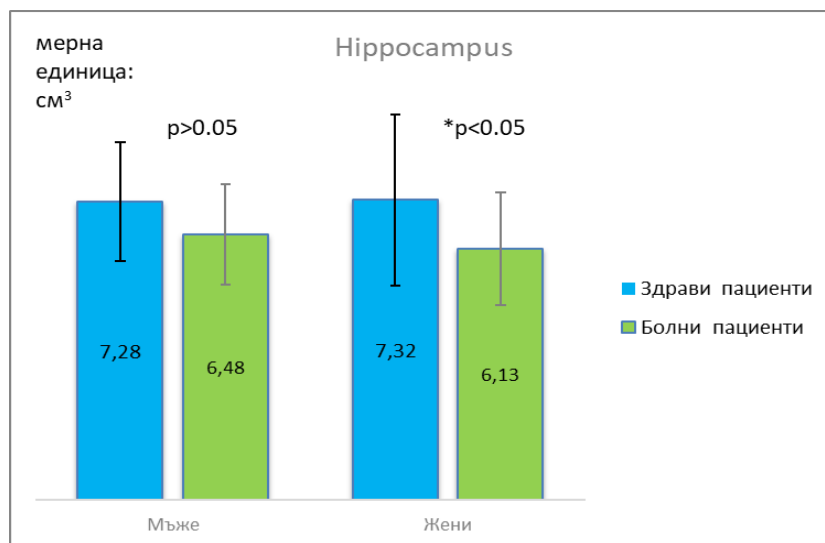


Фигура 10. Хипокамп – 3D МРТ хипокамп волуметрия. Обем на хипокамп на здрава контрола – 6,763 см³ (вляво) и на МС пациент – 6,712 см³ (вдясно).

Въз основа на данните от МРТ хипокамп волуметрията е изчислена средната стойности на измерените обеми за двете групи лица. Установено е отчетливо намаление на обем на хипокампа при пациентите с множествена склероза, със статистически значима разлика между двете изследвани групи.



Фигура 11. Средни стойности на обема на хипокампа при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите ($x=7,25$ и $\sigma=\pm 1,79$) и болните ($x=6,33$ и $\sigma=\pm 1,35$) пациенти е статистически значима при 5% риск за грешка.



Фигура 12. Средни стойности на обема на хипокампа при здрави и болни пациенти по пол. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите мъже ($x=7,28$ и $\sigma=\pm 1,46$) и болните мъже ($x=6,48$ и $\sigma=\pm 1,23$) не е статистически значима при 5% риск за грешка. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите жени ($x=7,32$ и $\pm\sigma=2,09$) и болните жени ($x=6,13$ и $\pm\sigma=1,39$) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Разпределението на обема на хипокампа се оказва нормално¹, което дава основание да се използва параметричен метод за проверка на хипотезите (Т-тест за разлика между две независими извадки). Резултатите² от тестовете са показани в таблица 6.

Таблица 6. Резултати от сравненията между групите за разликите в обема на хипокампа между болни и здрави пациенти

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

Резултатите от сравнението между здрави и болни пациенти има равнище на значимост (Sig.=0,013), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между МС болни и здрави контроли по отношение обема на хипокампа.

Резултатите от сравнението между здрави и болни пациенти мъже има равнище на значимост (Sig.=0,088), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между МС болни и здрави мъже по отношение обема на хипокампа.

Резултатите от сравнението между здрави и болни пациенти жени има равнище на значимост (Sig.=0,030), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между МС болни и здрави жени по отношение обема на хипокампа.

1.3. ОБЕМ НА ХИПОКАМП И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ

Известно е, че заболяването МС при пациенти с ПРМС преминава от пристъпно-ремитентна в прогресираща форма средно 6 – 10 години след

¹ Приложение 1

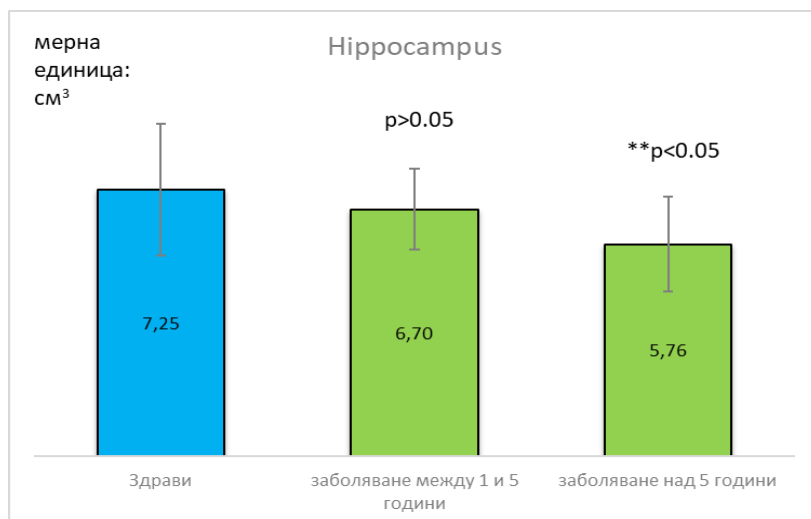
² Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 2

началото на болестта. Изследвахме пациенти с пристъпно-ремитентен ход на протичане. Значителното намаляване на обема на хипокампа може да се асоциира с атрофия на измерваната структура, което се свързва с невродегенеративен процес. Всички пациенти са подложени на ИМТ ($2,40 \pm 2,21$ години среден срок на лечение). Продължителността на имуномодулираща терапия и липсата на пристъпи за период повече от два месеца (при необходим минимум два според литературни данни), преди изследването на лицата, отстраняват ефекта на възможна „псевдоатрофия“ в проведеното измерване. В групата на МС пациентите 54% от изследваните лица са с продължителност на заболяване от 1 до 5 години. От тях 48% са жени. Данните от изследването показват статистически значимо намаляване на обем на хипокампа в групата на МС пациентките. Това насочва вниманието към пола като възможен фактор със съществено значение за развитие на атрофия в ранните етапи от заболяването.

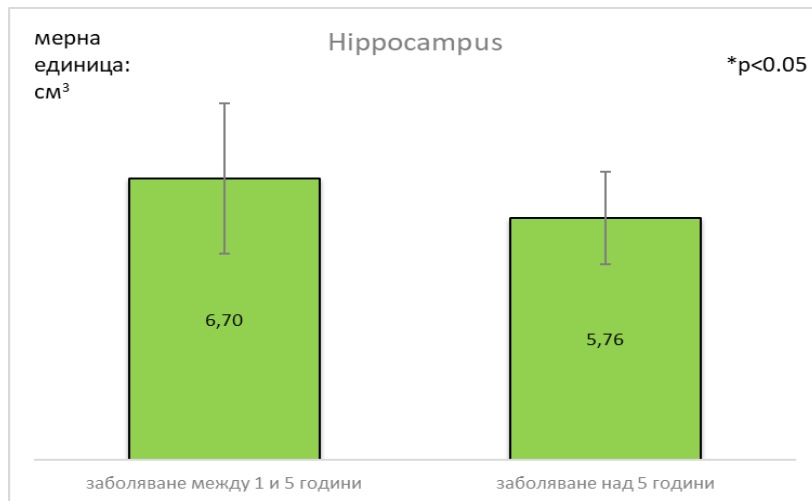
В тази връзка се провери съществува ли разлика в обем на хипокампа при изследваните МС пациенти в зависимост от продължителността на заболяването. ПРМС като форма на протичане се развива при около 85% от пациентите. Наблюдават се остро настъпващи пристъпи, преминаващи спонтанно до няколко седмици с пълно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

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

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



Фигура 13. Средни стойности на обема на хипокампа при здрави и болни пациенти. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите контроли ($x=7,25$ и $\sigma=\pm 1,79$) и МС пациенти с продължителност на заболяването между 1 и 5 години ($x=6,70$ и $\sigma=\pm 1,10$) не е статистически значима при 5% риск за грешка. Разликата в средния обем на хипокампа при здравите контроли и МС пациенти с продължителност на заболяване над 5 години ($x=5,76$ и $\sigma=\pm 1,28$) е статистически значима при 5% риск за грешка.



Фигура 14. Средни стойности на обема на хипокампа при МС пациенти. Разликата в средния обем на хипокампа при МС пациенти с продължителност на заболяване между 1 и 5 години ($x=6,70$ и $\sigma=\pm 1,10$) и МС пациенти над 5 години ($x=5,76$ и $\sigma=\pm 1,28$) е статистически значима при 5% риск за грешка.

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

Разпределението на обема на хипокампа се оказва нормално³, което дава основание да се използва параметричен метод за проверка на хипотезите (Т-тест за разлика между две независими извадки). Резултатите⁴ от тестовете са показани в таблица 7.

Таблица 7. Резултати от сравненията между групите за разликите в обема на хипокампа между болни и здрави пациенти, и болни пациенти с различна продължителност на заболяването

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

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти със срок на заболяването между 1 и 5 години има равнище на значимост (Sig.=0,170), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болни със срок на заболяването между 1 и 5 години по отношение обема на хипокампа.

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти със срок на заболяването над 5 години има равнище на значимост (Sig.=0,002), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между

³ Приложение 3.

⁴ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 4.

здравите контроли и МС болни със срок на заболяването над 5 години по отношение обема на хипокампа.

Резултатите от сравнението между МС пациенти със срок на заболяването между 1 и 5 години, и МС пациенти със срок на заболяването над 5 години има равнище на значимост ($\text{Sig.}=0,010$), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между МС болни от двете групи по отношение обема на хипокампа.

ОБСЪЖДАНЕ

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

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

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

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

група. В групата на МС пациентите 54% от изследваните лица са с продължителност на заболяване от 1 до 5 години. От тях 48% са жени. Данните от изследването показват статистически значимо намаляване на обем на хипокампа в групата на МС пациентките. Това насочва вниманието към пола като възможен фактор със съществено значение за развитие на атрофия в ранните етапи от заболяването.

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

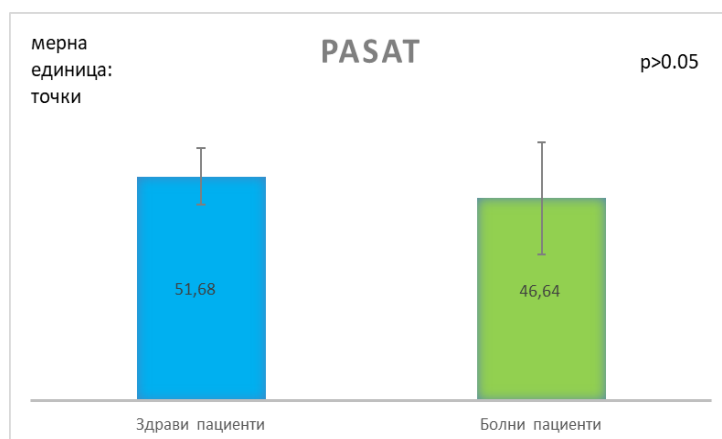
1.4. НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

Целта на това проучване е да се направи характеристика на когнитивните промени при пациенти с ПРМС в ранен етап от развитие на болестта. Хипокампът е мозъчна структура с широк диапазон проекции към мозъчните области, които са анатомичен субстрат на когницията и афекта. Хипокампът е включен във функционални кръгове, чието интактно функциониране е необходимо за паметта и емоционалната интелигентност. От проведените изследвания и анализ на данните (точка 1.2) се установи редукция в обем на хипокампа при МС пациенти в сравнение със здрави контроли и различна величина на редукцията в зависимост от продължителността на боледуване (точка 1.3). Подложихме двете групи (МС пациенти с ПРМС и здрави контроли) на тестове за оценка на когнитивното функциониране, промени в афекта и наличие на умора.

Проведен е сравнителен анализ на данните от приложените тестове за невропсихологично функциониране при изследваните групи.

1.4.1. ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ ТЕСТА PASAT- 3 S.

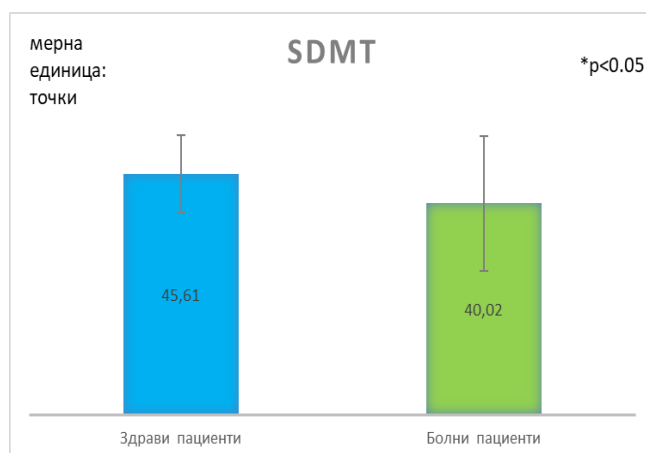
PASAT – 3s е невропсихологичен тест за оценка на аритметичните способности, капацитет и скорост на обработка на информация, както и поддържане и разпределяемост на вниманието. Направено е сравнение между стойностите от резултатите на контролите и МС болните пациенти.



Фигура 15. Средни стойности на теста PASAT – 3s при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния брой точки на PASAT при здрави пациенти ($x=51,68$ и $\sigma=\pm 6,58$) и МС болните ($x=46,64$ и $\sigma=\pm 12,85$) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

1.4.2.ИЗСЛЕДВАНЕ НА КОГНИТИВНО ФУНКЦИОНИРАНЕ ЧРЕЗ ТЕСТА SDMT.

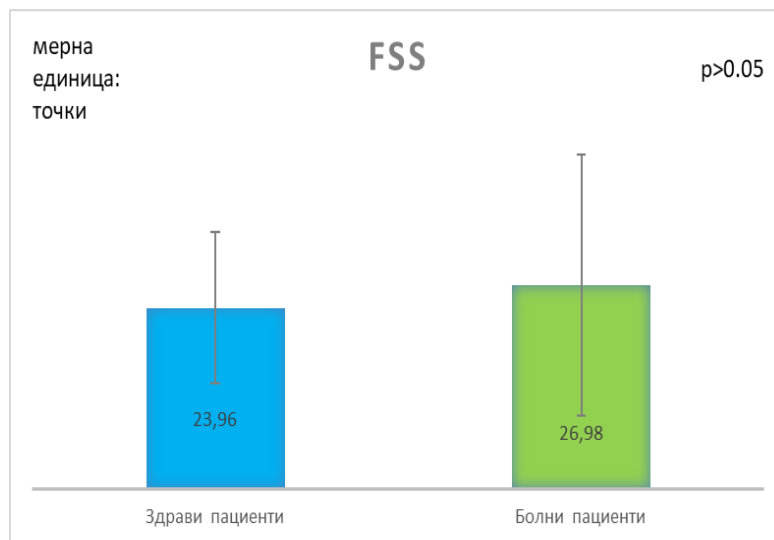
През последните 5 и повече години SDMT е най – често прилаганият невропсихологичен тест за оценка скорост на обработка на информация при МС (33).



Фигура 16. Средни стойности на теста SDMT при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния брой точки на SDMT при здрави пациенти ($x=45,61$ и $\sigma=\pm 7,35$) и МС болните ($x=40,02$ и $\sigma=\pm 12,80$) е статистически значима при 5% риск за грешка. Отчита се значимо влошено представяне на изследваните МС болни при изпълнение на теста.

Анализът на данните от проведените когнитивни тестове PASAT – 3s и SDMT показва, че групата на здравите контроли е с по – големи средни стойности. Здравите индивиди дават значително по – голям брой верни отговори.

1.4.3. ОЦЕНКА НА УМОРАТА ЧРЕЗ САМООЦЕНЪЧНА СКАЛА FSS

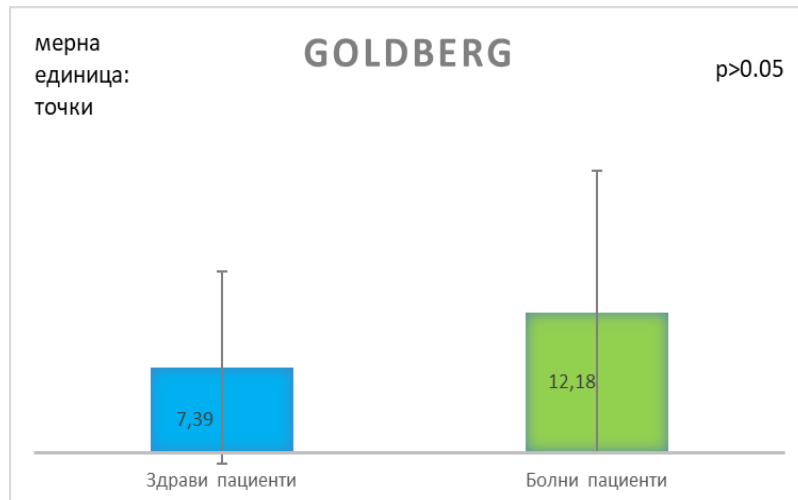


Фигура 17. Средни стойности на скалата FSS при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния брой точки на FSS при здрави пациенти ($x=23,96$ и $\sigma=\pm 10,92$) и МС болните ($x=26,98$ и $\sigma=\pm 15,75$) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

След изчисляване на резултата (Likert scale) и за двете групи се отчитат стойности под 4. В групата на здравите лица изчисленият среден резултат е 2.7. МС пациентите се представят с резултат 3.0.

1.4.4. ОЦЕНКА НА ДЕПРЕСИЯ ЧРЕЗ СКАЛА ЗА САМООЦЕНКА GDI И BDI

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



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



Фигура 19. Средни стойности на скалата BDI при здрави контроли и МС болни. Разликата в средния брой точки на Beck при здрави пациенти ($x=3,86$ и $\sigma=\pm 3,88$) и МС болните ($x=6,64$ и $\sigma=\pm 7,30$) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

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

Разпределението на точките от всички тестове не е нормално⁵, поради което трябва да се приложи непараметричен метод за проверка на разликите

⁵ Приложение 5

(Тест на Ман-Уитни (Man-Whitney test) между две независими извадки. Резултатите⁶ от тестовете са показани в таблица 8.

Таблица 8. Резултати от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между болни и здрави пациенти.

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

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за теста PASAT – 3s има равнище на значимост (Sig.=0,203), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста PASAT – 3s.

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за теста SDMT има равнище на значимост (Sig.=0,023), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста SDMT.

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за теста FSS има равнище на значимост (Sig.=0,700), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста FSS.

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за теста Goldberg DI има равнище на значимост (Sig.=0,073), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста Goldberg.

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за теста BDI има равнище на значимост (Sig.=0,210), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди,

⁶ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 6.

че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на броя точки от теста Веск.

ОБСЪЖДАНЕ

PASAT – 3s е невропсихологичен тест за оценка на аритметичните способности, капацитет и скорост на обработка на информация, както и поддържане и разпределяемост на вниманието. Скоростта на обработка на информацията е основна когнитивна функция, която вероятно повлиява последващи процеси като памет. SDMT е тест за оценка на промени в скоростта на обработка на информация. Характеризира процеси като зрение, реч, заучаване, скорост и прецизност, мануална моторна функция. Прилага се за оценка на когнитивните функции, в частност на бързата визуална обработка на информация и на работната памет. Забавена скорост на обработка на информация е идентифицирана като основен симптом при МС от Charcot още през 1877 г. Той установява, че концепциите се формират бавно, и интелектуалните и емоционалните способности са приглушени в тяхната цялост (33). През следващото столетие психометрични изследвания потвърждават хипотезата на Charcot, че брадифренията е в сърцевината на неврологичния дефицит при МС. Скоростта на когнитивната обработка на информация се оценява количествено от 1980 г. въз основа работата на Stephen Rao главно с прилагането на два когнитивни теста: PASAT и SDMT. В следствие, благодарение на лесното приложение и фактори като надеждност, валидност, предикативна валидност, чувствителност и специфичност, SDMT се определи като първи тест на избор за невропсихологична оценка при МС. През последните 5 и повече години SDMT е най – често прилаганият невропсихологичен тест за оценка скорост на обработка на информация при МС (33). Прилага се за оценка на когнитивните функции, в частност на бързата визуална обработка на информация и на работната памет.

Анализът на данните от проведените тестове за оценка на когницията показват обективна промяна при МС болните. Групата на пациентите с МС е с по-ниски средни стойности на брой верни отговори. Здравите индивиди дават значително по-голям брой верни отговори.

Може да се предположи, че пациентите с МС имат влошено представяне на когнитивните тестове поради ефект на умора или промени в афекта.

В настоящото проучване болните с МС регистрират по-висок резултат при самооценъчната скала за определяне на умората. Данните са в съответствие с други проучвания Двете групи са идентични по отношение фактор „*работна заетост*“. Индивидите в МС групата са с ниво на

инвалидност, оценено по EDSS ≤ 3.5 . Всички пациенти провеждат ИМТ. Може да допуснем, че тези ефектът на терапията по отношение на възпалителната активност при МС болните определя наличието на минимална разлика в оценката на умората между двете групи, без статистически значима разлика. След изчисляване на резултата (Likert scale) и за двете групи се отчитат стойности под 4. В групата на здравите лица изчисленият среден резултат е 2.7. МС пациентите се представят с резултат 3.0. В заключение данните демонстрират сходни резултати за двете групи, т.е. групата на пациентите с МС не се отличава съществено по отношение на параметър „умора“ спрямо здравите лица.

Отклоненията в афекта при изследваните болни с МС са без статистически значима стойност и при двете скали. При Goldberg DI средният резултат за МС болните е в диапазон „вероятно лека депресивна симптоматика“ – среден резултат $12,18 \pm 12,30$ (референтни 10 – 17 точки). Здравите контроли са в интервал „няма депресия“ (0 – 9 точки) със среден резултат $7,39 \pm 8,34$. Здравите контроли се разпределят в първите четири категории на скалата съответно 20; 4; 1; 3. Резултатът при МС пациентите варира в рамките на групата от „няма депресия“ – 30 пациента; „вероятно лека“ – 7 пациента; „гранична“ – 2 пациента, „лека към средна тежест на депресия“ – 7, „средно тежка към тежка“ – 4 пациента; „тежка депресия“ – 0 пациента. И в двете групи изследвани лица преобладават индивидите без депресия.

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

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

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

1.5. ВРЪЗКА МЕЖДУ ПОЛ И ДЕПРЕСИЯ

В тази част от анализа ще се провери възможна връзка между пола и депресията при МС болните, оценена чрез прилагане на Goldberg DI и Beck DI. По литературни данни промени в афекта се срещат при над 75% от пациентите с МС. Те включват на първо място депресия, както и еуфория, биполярни нарушения, психотични епизоди, тревожност, раздразнителност, ажитираност, патологичен смях и плач, антисоциално поведение. Депресията е най-честото поведенческо разстройство при пациентите с МС (206). По – често се развива при по-млади индивиди, при по – голяма продължителност на заболяването, при прогресиращи форми и при по – голяма степен на инвалидизация на пациентите. Връзката на фактора пол с развитието на депресия се обяснява с ефекти на естроген на ниво ЦНС. Естрогенът

- регулира невротрансмитерни системи, свързани с контрол на настроение, като серотонин, допамин, адреналин, норадреналин;
- повлиява активността на РЕМТ и синтеза на холин, чрез което индиректно оказва ефект по отношение ДНК – метилиране, морфогенеза, структурен интегритет и клетъчни окислително/редукционни системи;
- промените в нивата на естроген се отчитат на ниво амигдала, която е свързана с процесите на регулация на настроението/емоциите;
- стимулира активности в хипокамп, свързани с емоциите – реакции на възнаграждение.

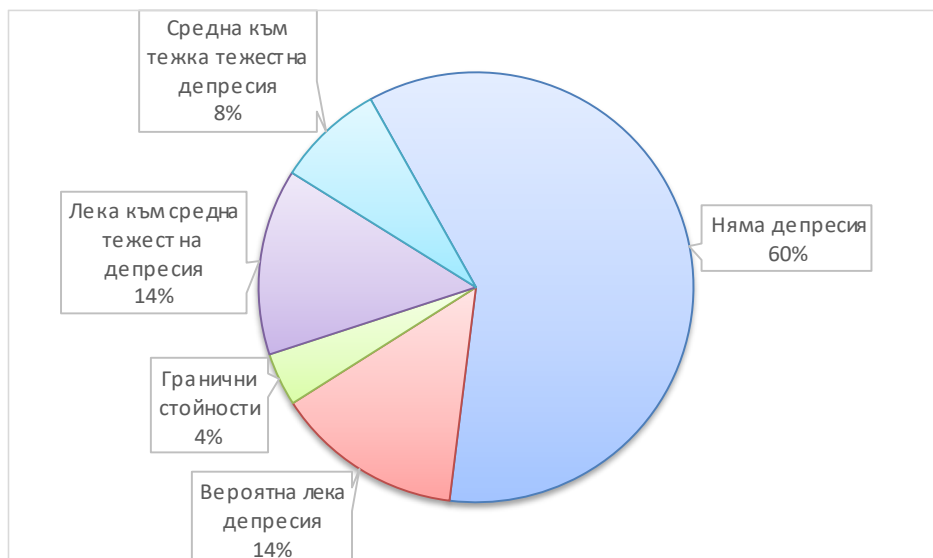
Някои жени са чувствителни към промени в нивата на половите хормони, което обуславя податливост към депресия при спад на тези нива.

За да се изследва връзката между пола и депресията се трансформира диапазона от точки от двата теста в условни скали (Таблица 9).

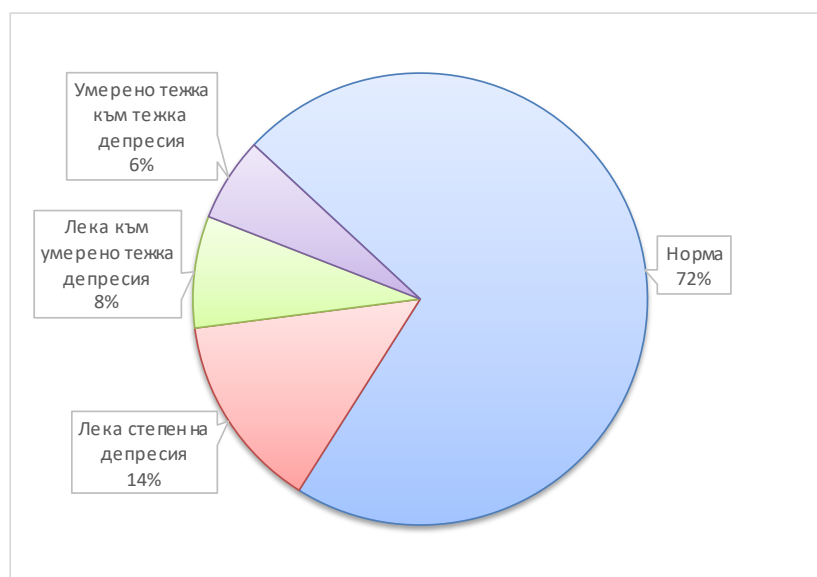
Таблица 9. Условни граници на скалиране на тестовете GDI и Beck DI.

Тест на Goldberg		Тест на Beck	
Числови граници	Условна скала	Числови граници	Условна скала
До 9	Няма депресия	До 9	Норма
10-17	Вероятна лека депресия	0-13	Минимална депресия
18-21	Гранични стойности	14-19	Лека депресия
22-35	Лека към средна тежест на депресия	20-28	Умерена депресия
36-53	Средна към тежка тежест на депресия	29- 63	Тежка депресия
Над 54	Много тежка депресия	-	-

Разпределението на скалираните тестове изглежда следното:

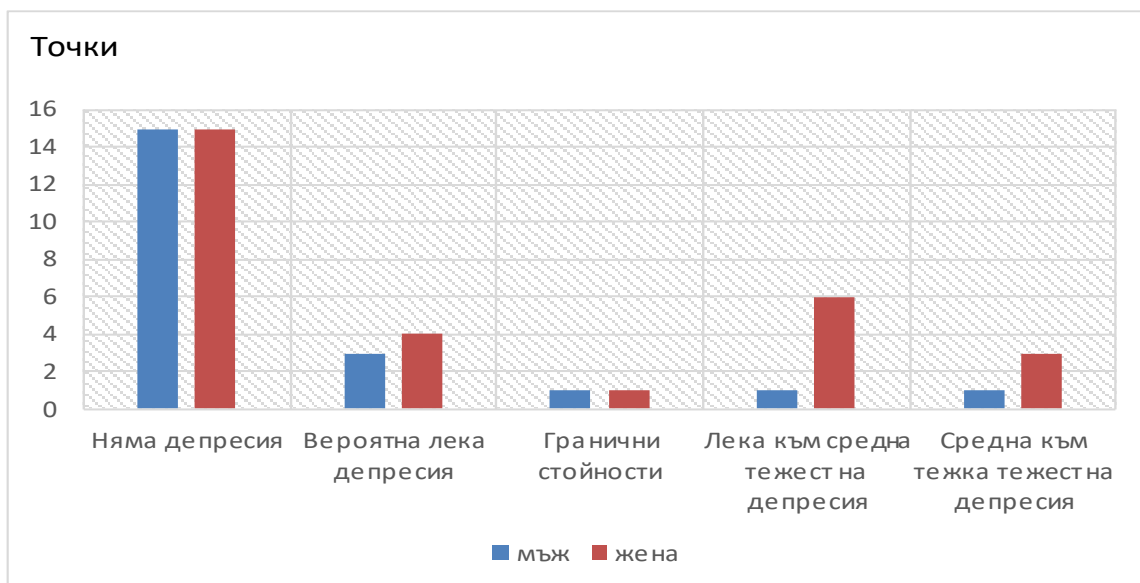


Фигура 20. Разпределение на МС болните по тежест на депресивна симптоматика като процент (оценени с Goldberg DI).

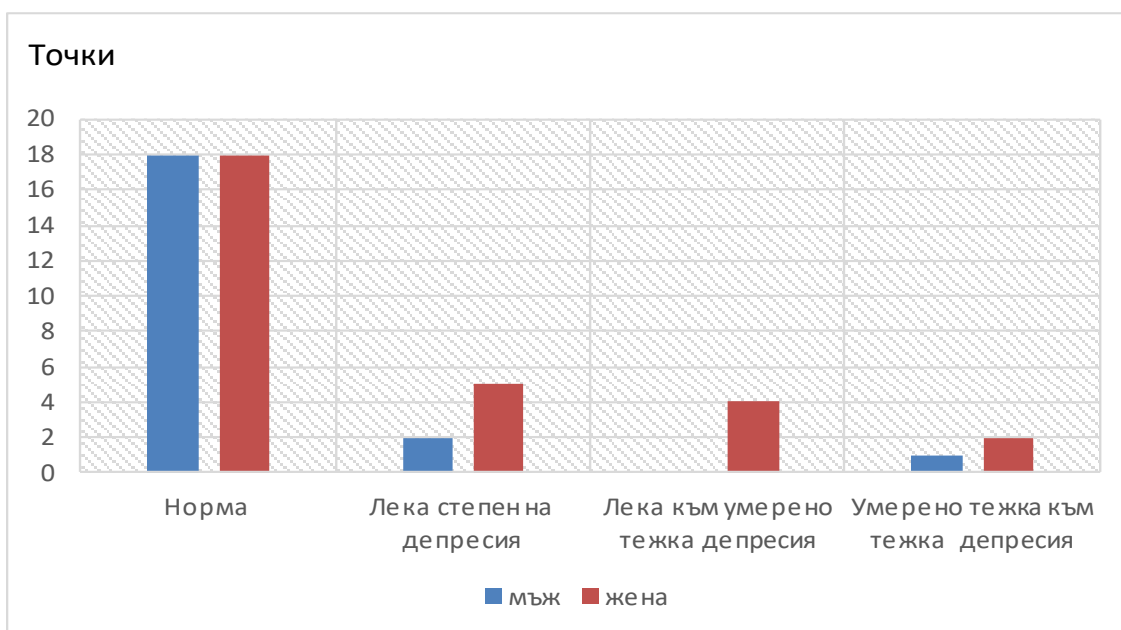


Фигура 21. Разпределение на МС болните по тежест на депресивна симптоматика като процент (оценени с BDI).

И при двата теста преобладаваща е нормата или липсата на депресия. Разпределението по пол и тежест на депресия е следното:



Фигура 22. Разпределение на МС болните по пол и тежест на депресивна симптоматика, оценени с приложение на Goldberg DI.



Фигура 23. Разпределение на МС болните по пол и тежест на депресивна симптоматика, оценени с приложение на BDI.

Търси се връзка между качествени променливи. Следователно се прилага Хи-квадрат анализ (Chi-square test). Резултатите от тестовете са показани в таблица 10.

Таблица 10. Резултат от Хи-квадрат теста за връзка между тежестта на депресията и пола.

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

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

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

ОБСЪЖДАНЕ

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

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

морфогенеза, структурен интегритет и клетъчни окислително/редукционни системи;

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

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

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

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

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

Потърсихме някои връзки и посоки между когнитивното функциониране, умората и депресията. За оценка на когнитивното функциониране при МС болни с ПРМС са приложени тестовете PASAT – 3s и SDMT. Двата теста изследват когнитивните процеси на ниво субкортикални структури. Резултатите от тестовете оценяват наличие на дисконекция между структурите, ангажирани в процесите памет, внимание, скорост на обработка на информация. Скалите на Beck и Goldberg оценяват наличие на депресия при МС пациентите, а FSS е самооценъчна скала за умора.

1.6.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

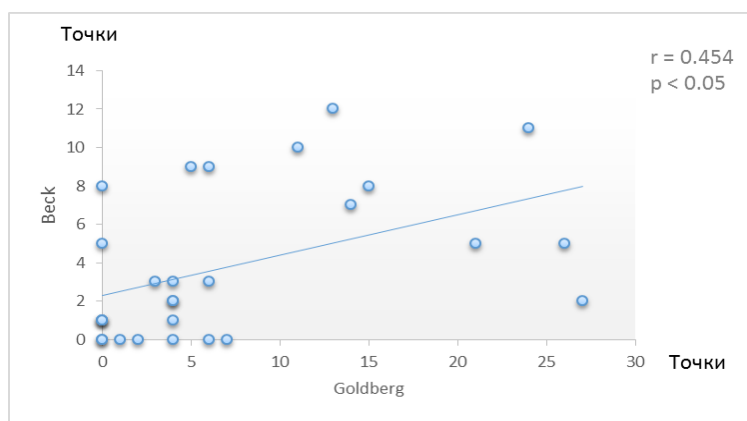
Таблица 11. Корелационни коефициенти между направените тестове при здрави контроли.

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

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

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

* . Корелацията е значима при равнище от 5 %.



Фигура 24. Графично представяне на връзката между Goldberg DI и BDI при изследвана група здрави контроли. Установява се умерена правопрпорционална връзка ($r=+0.454$, $p<0.05$) между двата теста за оценка на депресия в групата. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

1.6.2. БОЛНИ С МС

Таблица 12. Корелационни коефициенти между направените тестове при МС болни пациенти.

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

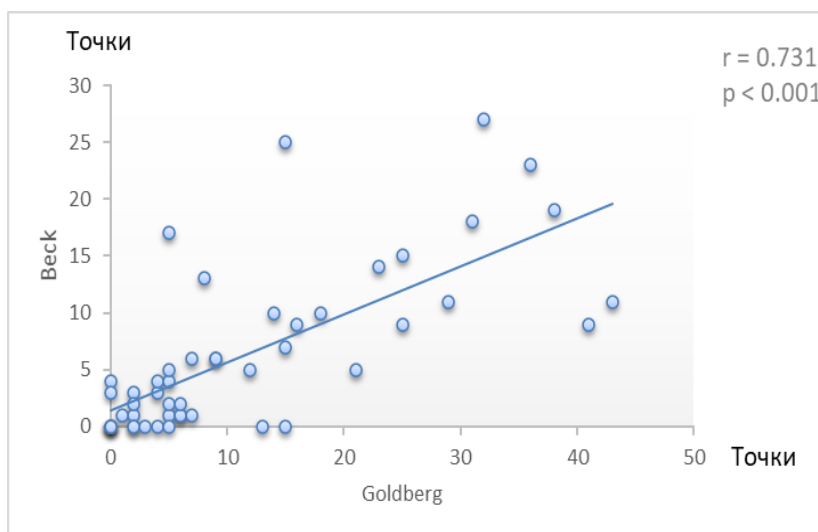
***. Корелацията е значима при равнище от 0.1 %.

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

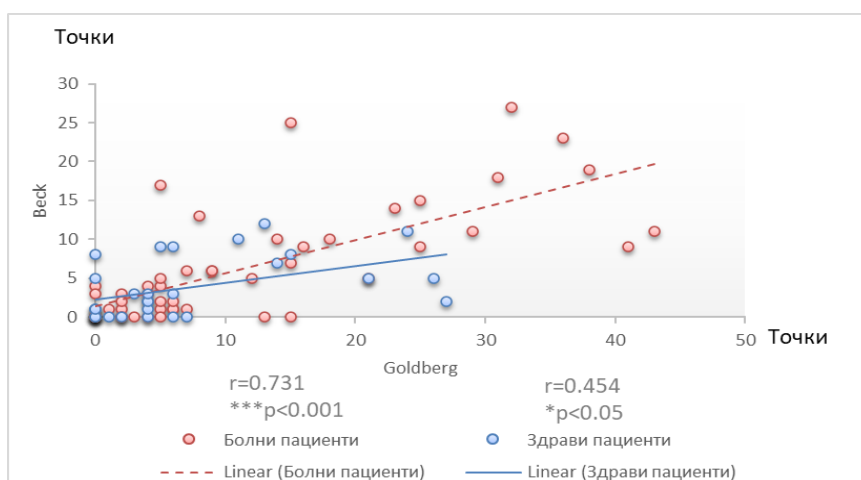
*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

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

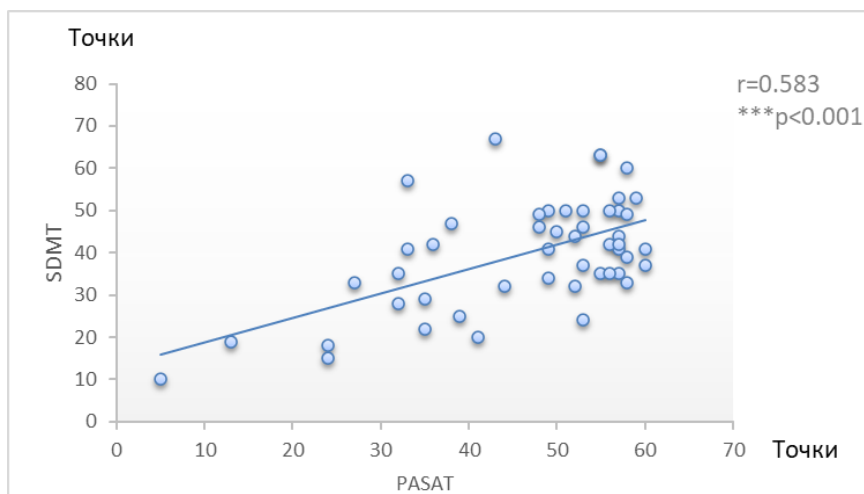
BDI отчита влиянието на категории като негативно възприемане на собствената личност, нарушения в телесни функции. Goldberg DI оценява и налична тревожност.



Фигура 25. Графично представяне на връзката между Goldberg DI и BDI при изследваните МС болни. Установява се висока правопрпорционална връзка ($r=+0.731$, $***p<0.001$) между двата теста за оценка на депресия в групата на изследваните болни лица. Това означава, че двата теста са надежден инструмент за оценка на депресия при МС пациентите.

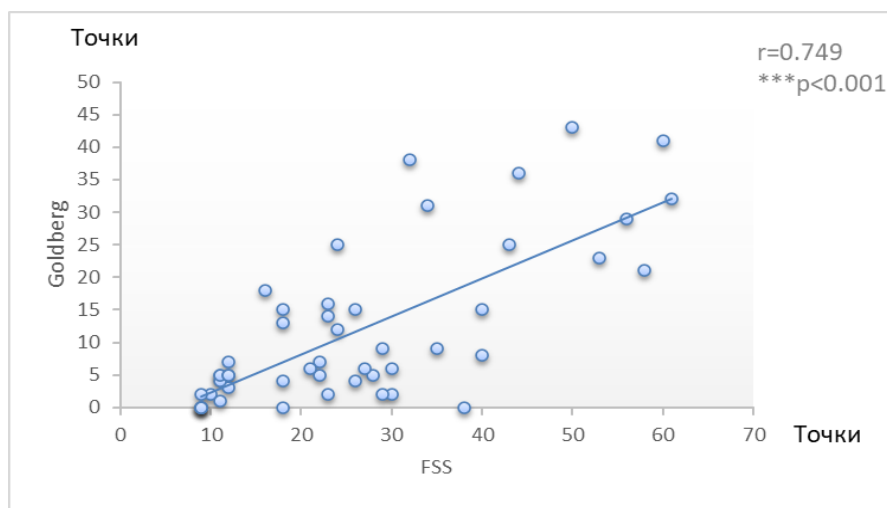


Фигура. 26 Графично представяне на връзката между променливите Goldberg DI и BDI при МС пациенти и здрави контроли. При МС пациентите се установява висока правопрпорционална връзка ($r=+0.731$, $***p<0.001$) между двата теста. Този извод може да се твърди с вероятност за сигурност от 99,9%, докато при здравите контроли връзката е умерена ($r=+0.454$, $*p<0.05$) и извода може да се твърди с вероятност от 95%.

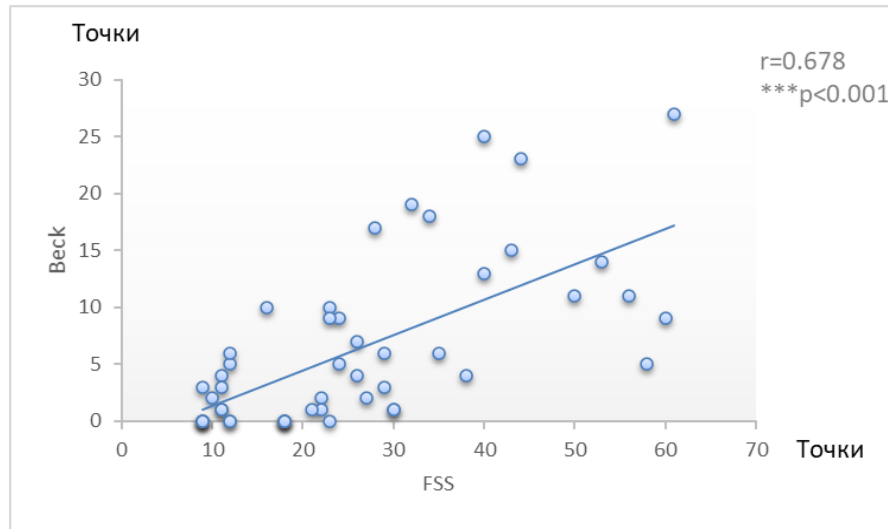


Фигура 27. Графично представяне на връзката между променливите PASAT – 3s и SDMT при изследваните МС болни. Доказва се значителна правопрпорционална зависимост ($r=+0.583$, $***p<0.001$) на промените в неврокогнитивното функциониране, отчетени с тестовете PASAT – 3 sec. и SDMT при болните с множествена склероза.

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



Фигура 28. Графично представяне на връзката между променливите Goldberg DI и FSS при изследваните МС болни. Установява се висока правопрпорционална връзка ($r=+0.749$, $***p<0.01$) между Goldberg DI за оценка на депресия и FSS теста за оценка на умората в групата на изследваните болни лица.



Фигура 29. Корелация между променливите BDI и FSS при изследваните МС болни. Установява се значителна правопрпорционална зависимост ($r=+0.678$, $***p<0.001$) на промените в емоциите, отчетени с BDI и чувството на умора (FSS) при пациентите с множествена склероза.

ОБСЪЖДАНЕ

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

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

Скалите на BDI и Goldberg DI оценяват наличие на депресия при МС пациентите. BDI отчита влиянието на категории като негативно възприемане

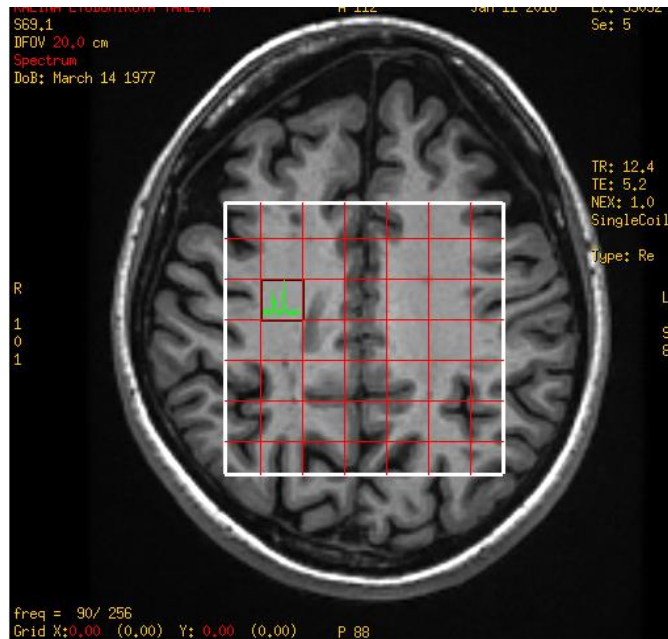
на собствената личност, нарушения в телесни функции. Goldberg DI оценява и налична тревожност. Установихме висока правопрпорционална връзка между двата теста за оценка на депресия в групата на изследваните болни лица. Това означава, че двата теста са надежден инструмент за оценка на депресия при МС пациентите.

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

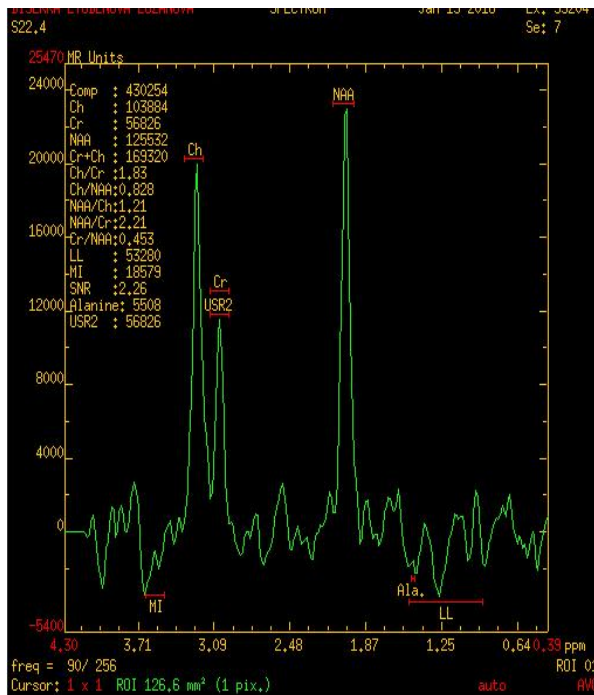
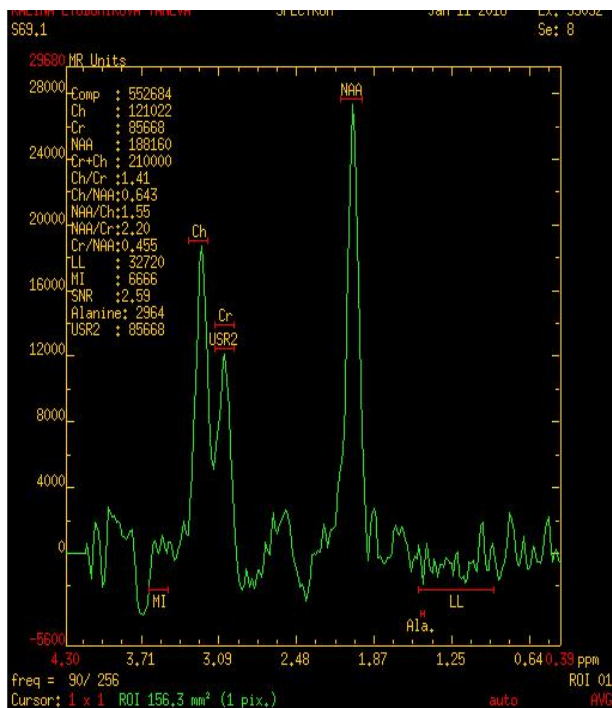
1.7. ИЗСЛЕДВАНЕ НА НЯКОИ МОЗЪЧНИ МЕТАБОЛИТИ В ЗОНИ НА ИНТЕРЕС – NAWM ЧРЕЗ ПрМРС

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

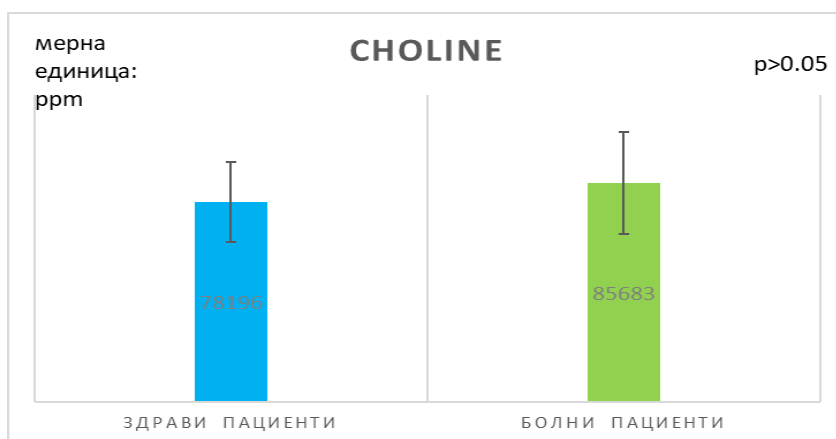
Сравнихме данните от спектроскопското измерване. Честотите на изследваните метаболити се измерват в единици, наречени parts per million (ppm) и се представят графично с пик с различна величина за различните метаболити. Чрез замерване на всеки пик – ppm на отделния метаболит, и след сравняване с нормалната мозъчна тъкан, неврорадиологът може да определи типа на изследваната тъкан.



Фигура 30. ПрМРС при МС пациент. T2 образ. Маркирана е зоната на интерес NAWM, свободна от лезии на демиелинизация, в дясна голямо мозъчна хемисфера париетално.

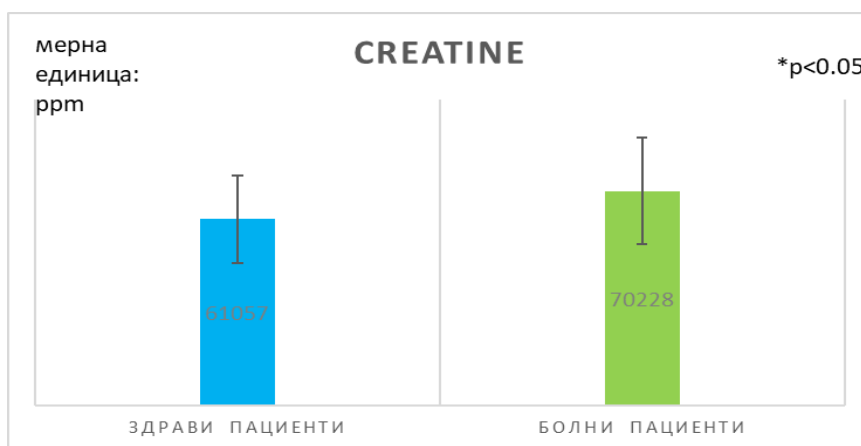


Фигура 31. ПрМРС – спектрограма. Графично представяне на отделните изследвани метаболити с маркиране на съответен пик, кореспондиращ на измерената метаболитна концентрация (ppm) при МС пациент (вляво) и здрава контрола (вдясно).



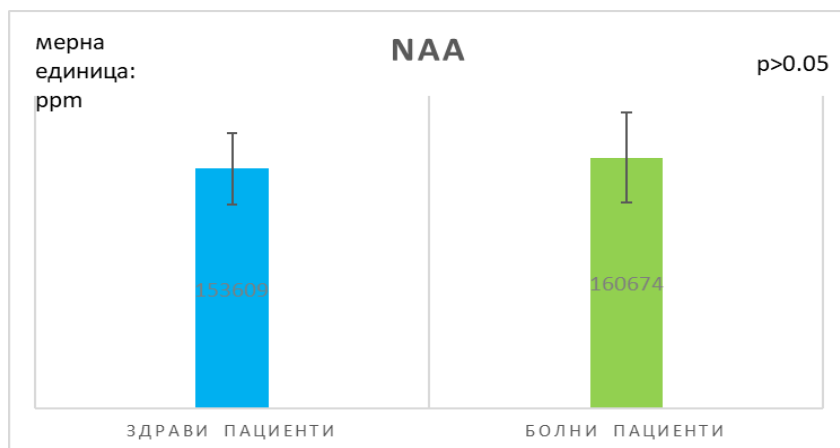
Фигура 32. Средни стойности на Choline при здрави контроли и МС болни. Разликата в средните нива на Choline при здравите ($x=78196$ и $\sigma=\pm 15798,72$) и болните пациенти ($x=85683$ и $\sigma=\pm 20018,07$) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

Отчита се нарастване нивото на изследвания метаболит при МС пациентите. Установените средни стойности за холина са измерени в ppm в области свободни от лезии на демиелинизация – NAWM. Cho е маркер за клетъчен и мембранен търновер. Установените промени са в зони, свободни от демиелинизация.



Фигура 33. Средни стойности на Creatine при здрави контроли и МС болни. Разликата в средните нива на Creatine при здравите ($x=61057$ и $\sigma=\pm 14334,29$) и болните пациенти ($x=70228$ и $\sigma=\pm 17326,47$) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установихме по-високи нива на изследвания метаболит в групата на МС пациентите. Cr е маркер за енергийната хомеостаза.



Фигура 34. Средни стойности на NAA при здрави контроли и МС болни. Разликата в средните нива на NAA при здравите ($x=133609$ и $\sigma=\pm 23048,17$) и болните пациенти ($x=160674$ и $\sigma=\pm 28647,21$) не е статистически значима при 5% риск за грешка.

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

Резултатите показват, че изследваните метаболити не са разпределени нормално⁷, което означава че трябва да се използва непараметричен метод за проверката. Приложен е непараметричен метод на Ман-Уитни (Man-Whitney test). Резултатите⁸ от тестовете за разлика между средните са показани на таблица 13.

Таблица 13. Резултати от сравненията между групите за разликите в концентрации на измерени метаболити между болни и здрави пациенти

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

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за метаболита Choline има равнище на значимост (Sig.=0,122), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95%

⁷ Приложение 7

⁸ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 8

може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средните нива на Choline.

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

Резултатите от сравнението между здрави и МС пациенти за метаболита NAA има равнище на значимост (Sig.=0,151), по – голямо от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средните нива на NAA.

ОБСЪЖДАНЕ

ПрМРС е метод за изследване на мозъчни метаболити и промените в техните концентрации. Установихме увеличено ниво на холинови фосфолипиди в NAWM. Литературната справка за етапите, предшестващи появата на нова плака на демиелинизация в NAWM, отчита нарастване нивата на Cho метаболити. Данните кореспондират с отчитаните промени в NAWM при МС пациенти с ПРМС, представени в проучвания на други изследователски групи (219). При ПрМРС изследване и сравнение на получените данни за трите основни мозъчни метаболита – холин, креатин и N-ацетиласпартат се установява отчетлива промяна в концентрациите на метаболитите с по – високи пикове при спектроскопско изследване на NAWM при пациентите с МС. Повишените нива на Cho отразяват засилена активност на Cho метаболизъм. Cho осигурява структурен интегритет и сигнална функция на клетъчните мембрани. Като компонент на фосфолипидите (фосфатидилхолин и сфингомиелин) изгражда клетъчната мембрана. Участва във формирането на миелиновите обвивки на нервните влакна (210, 211). Cr е маркер за енергийната хомеостаза. Получените данни демонстрират повишен енергиен обмен, вероятно поради интензивност на биохимични процеси в NAWM при изследваните МС пациенти.

Интерес предизвикват регистрираните по-високи нива на NAA. При болните с МС са установени три типа метаболитни модели: на остри и хронични плаки на демиелинизация и на нормален мозъчен паренхим (бяло мозъчно вещество извън зони на демиелинизация (NAWM). Патологичният процес при МС преди поява на нова плака се съпровожда с повишен миоинозитол (mIns), холин (Cho), лактат и липиди (LA). Повишената концентрация на холин-съдържащи метаболити се свързва основно с процес на възпаление, а не с промени на демиелинизация (220). След поява на плака

на демиелинизация се отчита по-нататъшно увеличение на Cho, Cr и LA. Промени в нивата на лактат като мозъчен метаболит се свързват с остър възпалителен процес. Това е първата стъпка в еволюцията на фокус на демиелинизация. Намалената концентрация на NAA вероятно отразява невронна дисфункция, а не загуба. Метаболитните промени са най- силно изразени в центъра на плаката според данните от ПрМРС. Тези промени по отношение на NAA персистират и в хроничните плаки. Увеличените нива на Cho и Cr също може да персистират, докато това на LA се възстановява (13).

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

1.8. КОРЕЛАЦИИ НА СРЕДНИ СТОЙНОСТИ НА ИЗМЕРЕНИ МЕТАБОЛИТИ И СРЕДЕН ОБЕМ НА ХИПОКАМП

Анализирахме данните за обема на хипокампа при здрави контроли и МС пациенти и установихме къде има наличие на статистически значима разлика. Потърсихме връзка между двата процеса – атрофия на хипокампа и промените в мозъчните метаболити като участници в механизми за поддържане на структурните и функционални връзки.

1.8.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

Таблица 14. Корелационни коефициенти между изследваните метаболити и хипокампа.

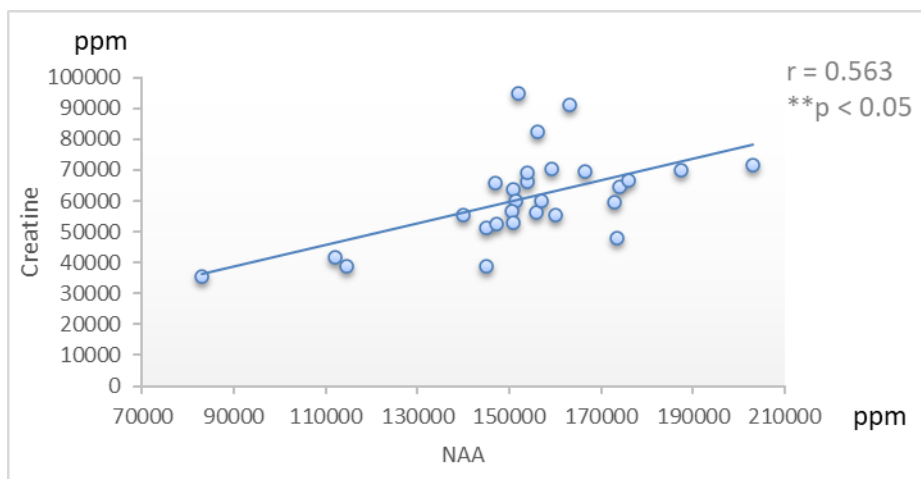
		Корелации			
		Cho	Cr	NAA	Хипокамп
Cho	Корелация на Пирсън	1	.302	.472*	.320
	Равнище на значимост		.119	.011	.097
	Брой	28	28	28	28
Cr	Корелация на Пирсън	.302	1	.563**	.066
	Равнище на значимост	.119		.002	.738
	Брой	28	28	28	28
NAA	Корелация на Пирсън	.472*	.563**	1	.083
	Равнище на значимост	.011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

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

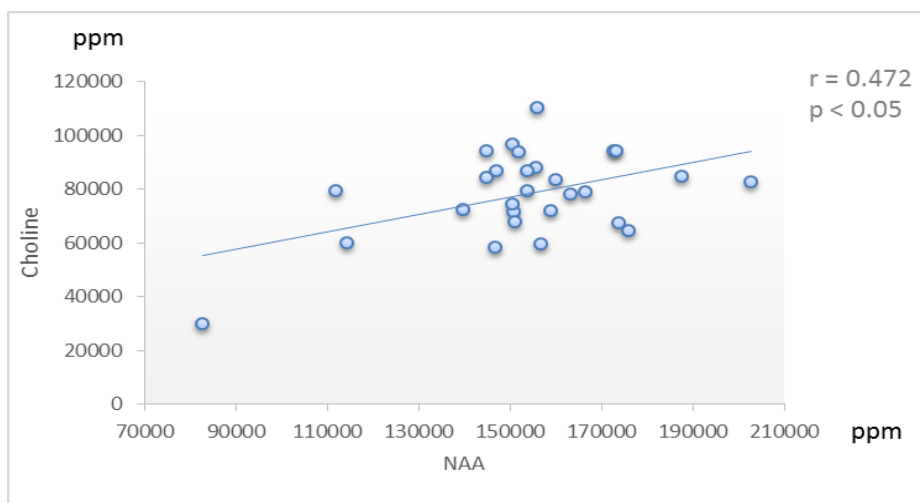
** . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

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



Фигура 35. Графично представяне на връзката между NAA и Cr при изследвана група здрави контроли. Установява се значителна правопрпорционална връзка ($r=+0.563$, $p<0.05$) между двата метаболита. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.



Фигура 36. Графично представяне на връзката между NAA и Cho при изследвана група здрави контроли. Установява се умерена правопрпорционална връзка ($r=+0.472$, $p<0.05$) между двата метаболита. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

1.8.2. БОЛНИ С МС

Таблица 15. Корелационни коефициенти между изследваните метаболити и хипокампа.

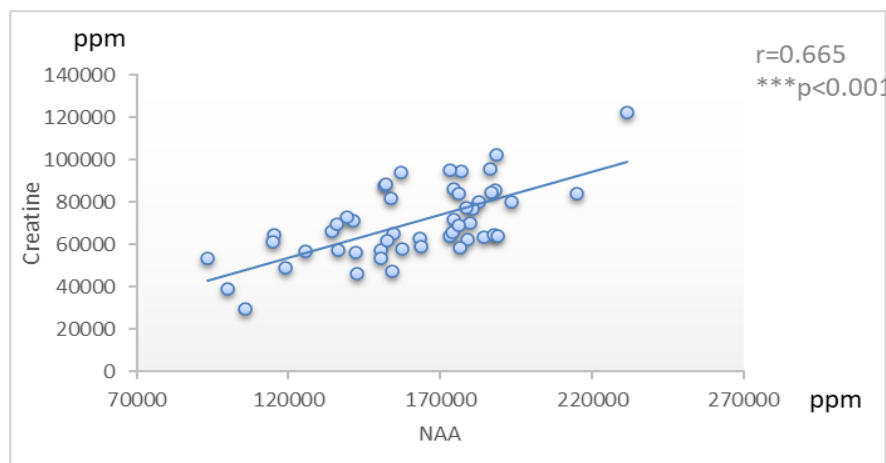
		Корелации			
		Cho	Cr	NAA	Хипокампа
Cho	Корелация на Пирсън	1	.194	.254	.006
	Равнище на значимост		.177	.075	.965
	Брой	50	50	50	50
Cr	Корелация на Пирсън	.194	1	.665**	-.023
	Равнище на значимост	.177		.000	.872
	Брой	50	50	50	50
NAA	Корелация на Пирсън	.254	.665***	1	.038
	Равнище на значимост	.075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

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

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

*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

Не се установи корелационна зависимост между промените в нивата на изследваните метаболити и обема на хипокампа при болните с МС. Значителна правопрпорционална връзка ($r=+0.665$, $***p<0.001$) се установява между двата метаболита NAA и Cr.



Фигура 37. Графично представяне на връзката между NAA и Cho при изследвана група МС болни пациенти. Установява се, че между нивата на NAA – маркер за невронален интегритет и Cr – маркер за енергиен резерв и метаболизъм, съществува значителна правопрпорционална връзка ($r=+0.665$, $***p<0.001$). Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.

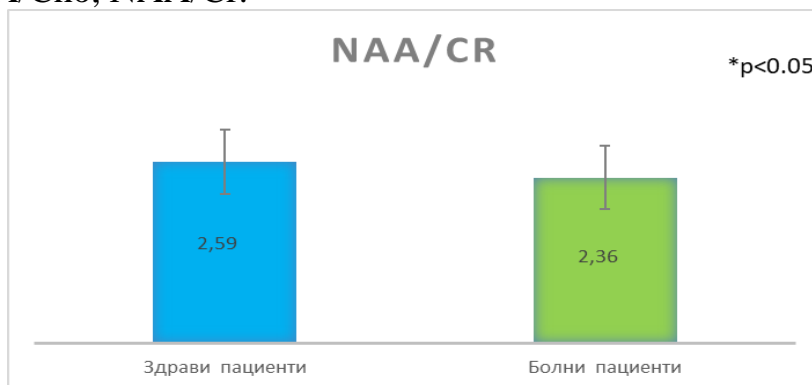
ОБСЪЖДАНЕ

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

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

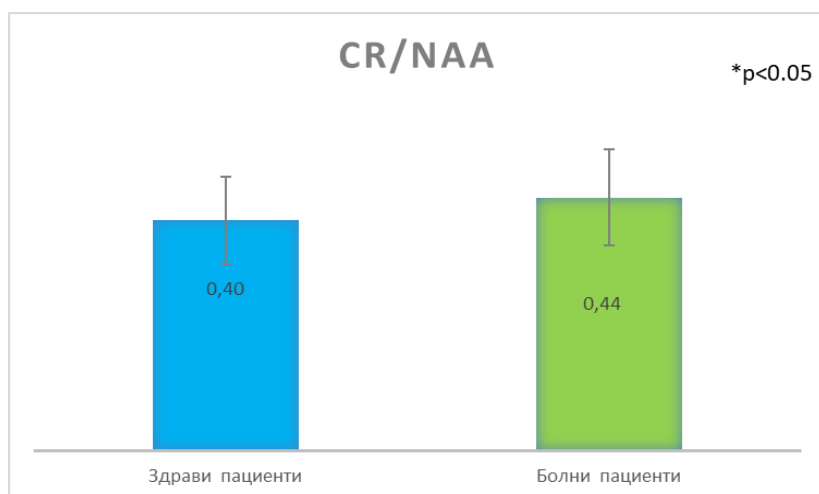
1.9. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА СЪОТНОШЕНИЯ МЕЖДУ МЕТАБОЛИТИ, ИЗМЕРЕНИ В NAWM ПРИ МС БОЛНИ И ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

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



Фигура 38. Средни стойности на отношението NAA/Cr при здрави контроли и болни с МС. Разликата в средните при здрави пациенти ($x=2,59$ и $\sigma=\pm 0,46$) и МС болните ($x=2,36$ и $\sigma=\pm 0,45$) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при здравите контроли.



Фигура 39. Средни стойности на отношението Cr/NAA при здрави контроли и болни с МС. Разликата в средните при здрави пациенти ($x=0,40$ и $\sigma=\pm 0,08$) и болните с МС ($x=0,44$ и $\sigma=\pm 0,08$) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при МС болните.

Таблица 16. Резултати от сравненията между групите за разликите в съотношенията на метаболитите на болни и здрави пациенти.

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

При тестване на съотношенията за нормално разпределение се оказва, че само едно е нормално разпределено ⁹(NAA/Cr) и за него приложихме параметричен метод на проверка на хипотезата за разлика между средните

⁹ Приложение 9

при болни с МС и здрави контроли (Т-тест). При всички останали използвахме непараметричен тест (Mann-Whitney тест) за проверка на разликите. Резултатите¹⁰ са показани в таблица 16.

Резултатите от сравнението между здрави контроли и болни с МС на съотношението NAA/Cr има равнище на значимост (Sig.=0,035,) по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средното съотношение на метаболитите NAA/Cr.

Резултатите от сравнението между здрави контроли и болни с МС на съотношението Cr/NAA има равнище на значимост (Sig.=0,041), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средното съотношение на метаболитите Cr/NAA.

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

ОБСЪЖДАНЕ

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

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

При всички изследвани съотношения се установява промяна в групата на МС пациентите. Статистически значима разлика се потвърждава

¹⁰ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 10

единствено за съотношенията NAA/Cr и Cr/NAA. Cr е маркер за енергиен резерв, а NAA – за невронален интегритет.

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

1.10. ПОЛ И МЕТАБОЛИТИ ПРИ ЗДРАВИ КОНТРОЛИ И МС БОЛНИ

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

1.10.1. МЪЖЕ

При тестване на съотношения за нормално разпределение се оказва, че единствено отношението Cho/Cr е нормално разпределено¹¹ и за него ще бъде приложен непараметричен метод на проверка на хипотезата за разлика между средните при болни и здрави пациенти (Mann-Whitney тест). При всички останали ще бъде използван параметричен тест (Т-тест) за проверка на разликите. Резултатите¹² са показани в таблица 17.

Таблица 17. Резултати от сравненията между групите за разликите в съотношенията на метаболитите на болни и здрави мъже пациенти.

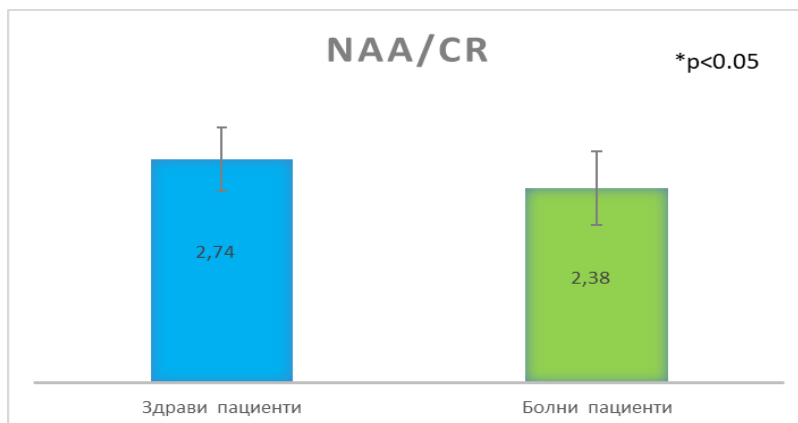
Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
Cho/Cr	Здрав	14	1.264	0.432	0.567	Не
	Болен	21	1.291	0.404		
Cho/NAA	Здрав	14	.515	0.115	0.436	Не
	Болен	21	0.551	0.146		
NAA/Coh	Здрав	14	2.031	0.438	0.453	Не
	Болен	21	1.917	0.437		
NAA/Cr	Здрав	14	2.447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

Резултатите от сравнението между средните съотношения на изследваните метаболити при здрави и МС пациенти мъже имат равнища на значимост по-големи от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че няма статистически значима разлика между здравите контроли мъже и МС болни мъже.

¹¹ Приложение 11

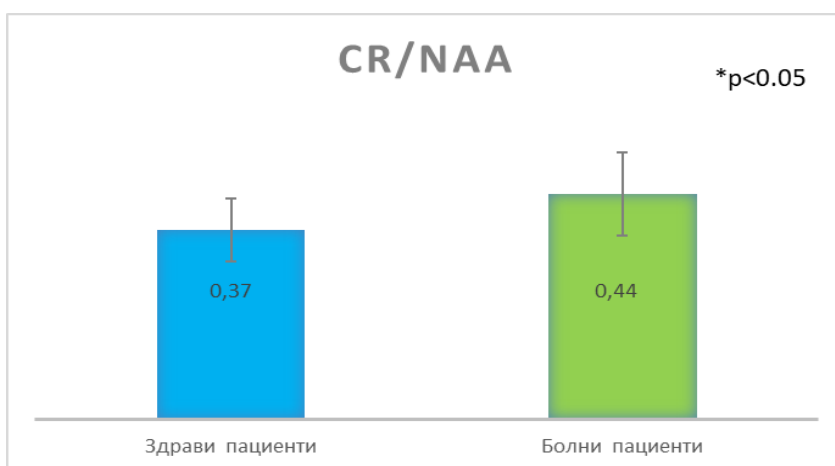
¹² Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 12

1.10.2. ЖЕНИ



Фигура 40. Средни стойности на отношението NAA/Cr при здрави жени и МС болни жени. Разликата в средните при здравите жени ($x=2,74$ и $\sigma=\pm 0,39$) и МС болните жени ($x=2,38$ и $\sigma=\pm 0,45$) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при здравите контроли жени.



Фигура 41. Средни стойности на отношението Cr/NAA при здрави жени и МС болни жени. Разликата в средните при здравите жени ($x=0,37$ и $\sigma=\pm 0,06$) и МС болните жени ($x=0,44$ и $\sigma=\pm 0,08$) е статистически значима при 5% риск за грешка.

Установяват се завишени стойности на съотношението при МС болните жени.

При тестване на съотношения за нормално разпределение се оказва, че нормално разпределени¹³ са NAA/Cr и Cho/Cr. За тях ще бъде приложен параметричен метод на проверка на хипотезата за разлика между средните

¹³ Приложение 13

при болни и здрави пациенти жени (Т-тест). При всички останали ще бъде използван непараметричен тест (Mann-Whitney тест) за проверка на разликите. Резултатите¹⁴ са показани в таблица 18.

Таблица 18. Резултати от сравненията между групите за разликите в съотношенията на метаболитите на болни и здрави жени пациенти.

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

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

Резултатите от сравнението между здрави жени и МС пациентки за съотношението Cr/NAA има равнище на значимост (Sig.=0,005), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между здравите контроли и МС болните по отношение на средното съотношение на метаболитите Cr/NAA.

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

¹⁴ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 14

ОБСЪЖДАНЕ

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

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

Естрогенът взаимодейства с невротрансмитерни системи, като серотонин, допамин, адреналин, норадреналин. Те са активни участници в контрола на емоционалния баланс. Мозъчни структури като хипокампа са под въздействие на естроген независимо от малочисления брой клетъчни нуклеарни естрогенови рецептори (ER) (154). Малък брой клетки в ЦНС, съдържащи рецептори за естроген, оказват мощно транс-синаптично влияние върху други неврони (напр. GABA инхибиторни неврони). Посредством регулиране активността на PEMT и ендогения синтез на холин, естрогенът индиректно оказва ефект върху процесите на по отношение ДНК – метилиране. Така се включва в процесите на морфогенеза. Промените в обема на хипокампа се асоциират с наличие на мозъчна атрофия, т.е. процес на невродегенерация при МС пациентите. Хипокампа е ключова структура в процесите на когниция. Данните от проведените в двете групи тестове за оценка на невропсихологичното функциониране също отразяват наличие на промени в групата на МС пациентите. Нарушенията в невропсихологичното представяне, отчетени чрез приложените тестове в нашето проучване, отразяват невродегенеративни промени, в частност синдром на дисконекция.

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

Потърсена е корелация между промените в невропсихологичното функциониране, оценени с приложените тестове за когниция, депресия и умора и обема на хипокампа. Корелациите са проверени за двете изследвани групи – здрави контроли и болни пациенти между хипокампа и SDMT, PASAT – 3s, FSS, Goldberg DI и BDI.

1.11.1. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

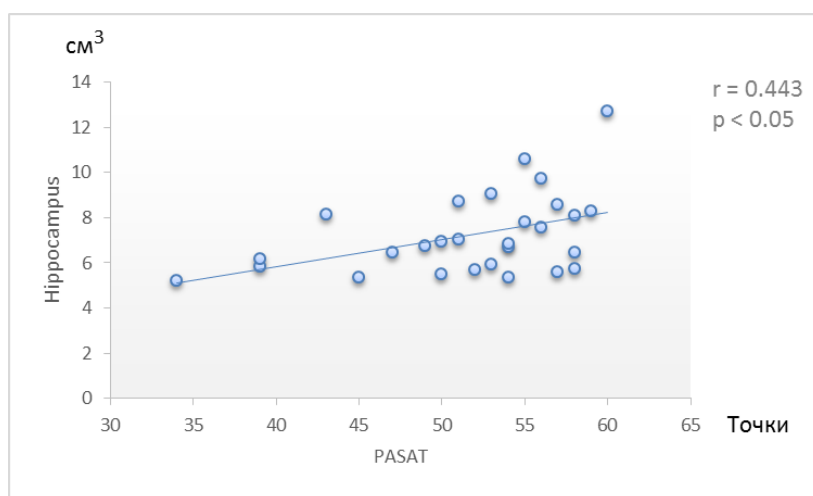
Таблица 19. Корелационни коефициенти при здрави контроли между направените тестове

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

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

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

*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.



Фигура 42. Графично представяне на връзката между PASAT – 3s и среден обем на хипокампа при изследвана група здрави контроли. Установява се умерена правопрпорционална връзка ($r=+0.443$, $p<0.05$) между обема на хипокамп и PASAT – 3s. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

1.11.2. БОЛНИ С МС

Таблица 20. Корелационни коефициенти при болни пациенти между направените тестове

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

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

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

*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

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

ОБСЪЖДАНЕ

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

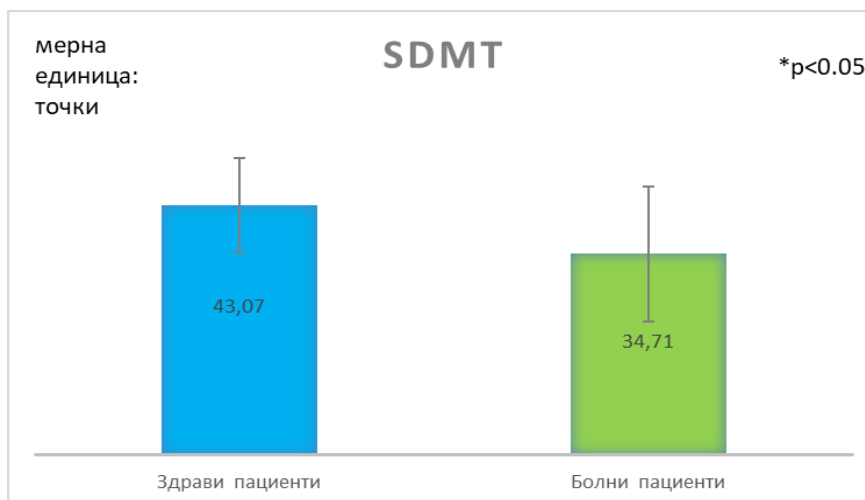
В нашето проучване установихме редукция в обема на хипокамп в групата на болните с МС спрямо здравите контроли. Промените в обема на хипокампа се асоциират с наличие на мозъчна атрофия, т.е. процес на невродегенерация при МС пациентите. Данните от проведените в двете групи тестове за оценка на невропсихологичното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

1.12. ПОЛ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

Направена е проверка за статистическа разлика между здрави контроли и болни с МС по пол по отношение на невропсихологичното представяне, оценено чрез когниция, умора и депресия с тестове SDMT, PASAT- 3s, FSS, Goldberg DI и BDI.

От предходно тестване на променливите е известно, че те не са нормално разпределени и трябва да се приложи непараметричен метод за проверка наличие на статистическа разлика между болните с МС и здравите контроли по пол.

1.12.1. МЪЖЕ



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

Таблица 21. Резултати¹⁵ от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между болни и здрави мъже пациенти.

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

Резултатите показват, че при мъжете само при променлива SDMT съществува статистически значима разлика между здрави контроли и болни с МС. Този извод може да се твърди с вероятност от 95%. Тестът оценява внимание, разпределяемост на вниманието и скорост на обработка на

¹⁵ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 15.

информацията. Нашите данни отчитат статистически значимо влошаване на посочените когнитивни функции. SDMT оценява когнитивно представяне, чието изпълнение е функция на връзките между корови и подкорови структури. Промените в SDMT в групата на МС пациентите отразяват процес на дисконекция между отговорните за посочените когнитивни функции мозъчни структури. Потърсена е връзка между когнитивното представяне, умората и депресията при мъжете с МС, за да проверим влиянието на факторите умора и депресия върху когнитивното представяне.

1.12.1.1 МЪЖЕ БОЛНИ С МС

Таблица 22. Корелационни коефициенти при МС болни мъже между направените тестове:

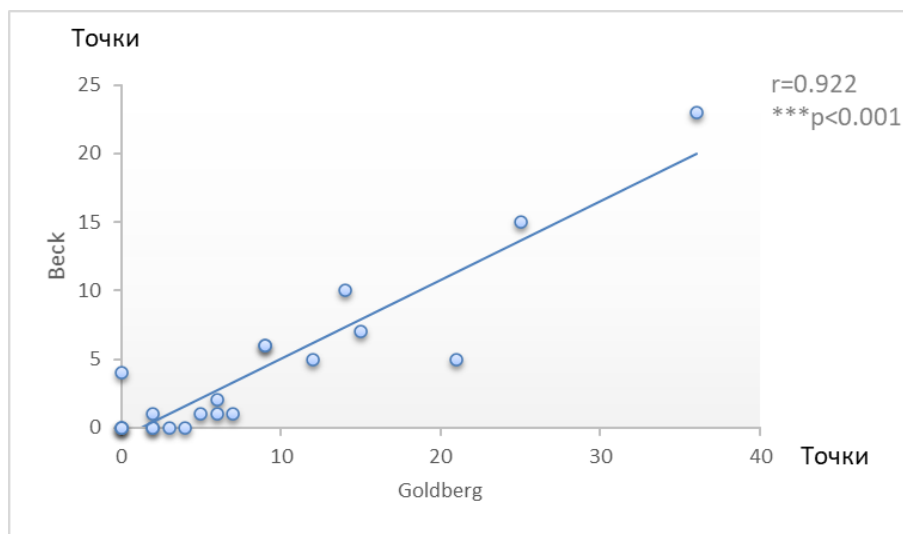
		Корелации				
		PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	BDI
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.737***	-.382	-.102	-.029
	Равнище на значимост		.000	.087	.661	.901
	Брой	21	21	21	21	21
SDMT	Корелация на Пирсън	.737**	1	-.381	-.067	.008
	Равнище на значимост	.000		.088	.774	.973
	Брой	21	21	21	21	21
FSS	Корелация на Пирсън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

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

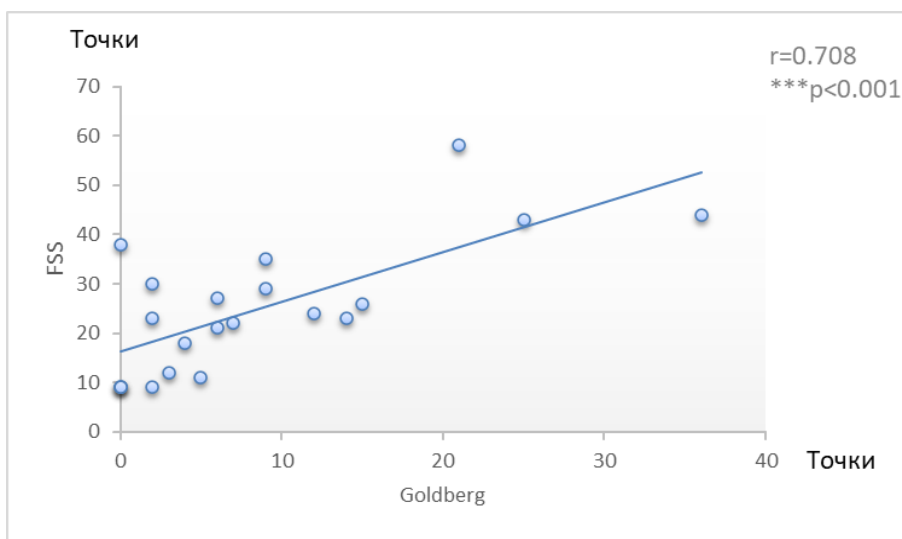
** . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

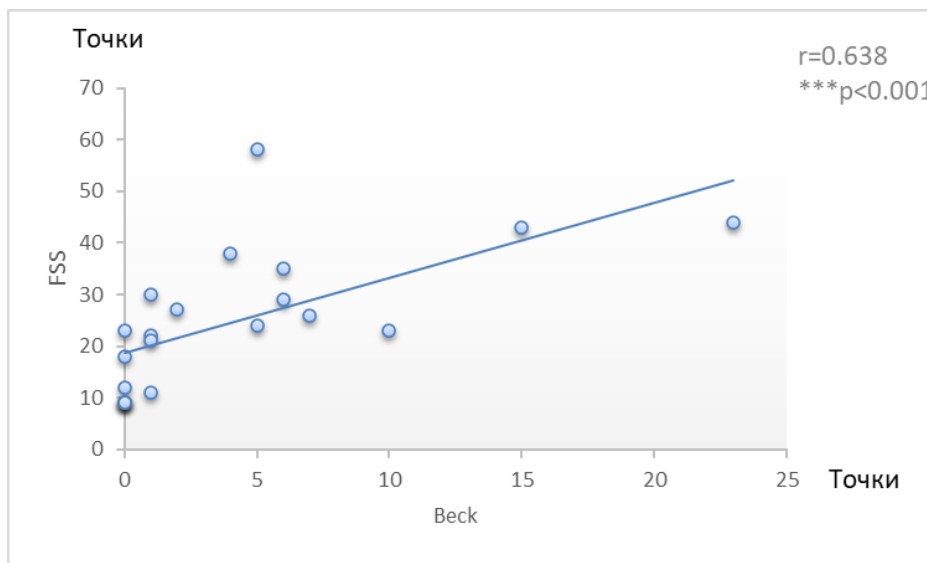
Установява се, че между умората (FSS) и депресията, оценена по скалата на Beck съществува значителна правопрпорционална връзка. Между използваните тестове за когнитивно оценяване PASAT – 3s и SDMT, между депресията оценена по скалата на Goldberg и умората (FSS), и между двата самооценъчни теста за депресия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



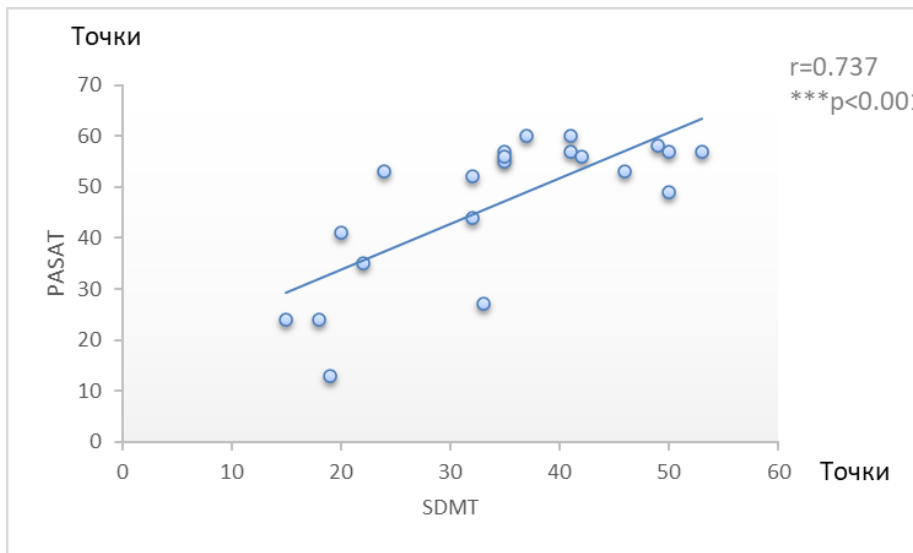
Фигура 44. Графично представяне на връзката между Goldberg DI и BDI при изследваните МС пациенти мъже. Установява се много висока правопрпорционална връзка ($r = +0.922$, $***p < 0.001$) между двата теста за оценка на депресия. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 45. Графично представяне на връзката между Goldberg DI и FSS при изследваните МС пациенти мъже. Установява се висока правопрпорционална връзка ($r = +0.708$, $***p < 0.001$) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 46. Графично представяне на връзката между BDI и FSS при изследваните МС пациенти мъже. Установява се значителна правопрпорционална връзка ($r = +0.638$, *** $p < 0.001$) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 47. Графично представяне на връзката между SDMT и PASAT при изследваните МС пациенти мъже. Установява се висока правопрпорционална връзка ($r = +0.737$, *** $p < 0.001$) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.

1.12.1.2 ЗДРАВИ КОНТРОЛИ МЪЖЕ

Таблица 23. Корелации при здрави мъже пациенти:

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

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

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

*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

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

1.12.2. ЖЕНИ

Потърси се статистически значима разлика по отношение невропсихологичното представяне между двете групи жени. Изследваните променливи не са нормално разпределени.¹⁶ Резултатите¹⁷ са представени в таблица 24.

Таблица 24. Резултати от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между болни и здрави жени пациенти.

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

¹⁶ Виж Приложение 5

¹⁷ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 23.

Жените от групата на болните с МС постигат по – нисък резултат при изпълнение на PASAT – 3s. Не се установява статистически значима разлика между двете групи (зdravi 50,43±8,16 точки и болни 46,34±12,09 точки). При провеждане на когнитивен тест SDMT при жени от двете изследвани групи, жените от групата на МС пациентите постигат по-нисък резултат при изпълнение на SDMT: здрави 48,14±5,76 точки спрямо болни 43,86±12,42 точки. Жените от групата на МС пациентите се представят с по – висок резултат при попълване на FSS теста за наличие на умора. Оценка на данните с прилагане на Liekert скала изчислява средно ниво на умора в групата на здравите контроли 2,53±1,12. В групата на МС пациентите жени, резултатът е 3,51±1,93. Пациентите с депресия обикновено имат нива над 4,5 по Liekert скала. А тези с МС – над 6,5. Нашите данни демонстрират умора и в двете групи под 4,5, и далеч под установената за МС пациентите по литературни данни. При сравнение на данните от попълване на самооценъчен тест за депресия BDI и Goldberg DI теста при жени от двете изследвани групи, жените от групата на МС пациентите представят по – изразена депресивна симптоматика при самооценка.

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

1.12.2.1 ЖЕНИ БОЛНИ С МС

Таблица 25. Корелационни коефициенти при МС болни жени между направените тестове

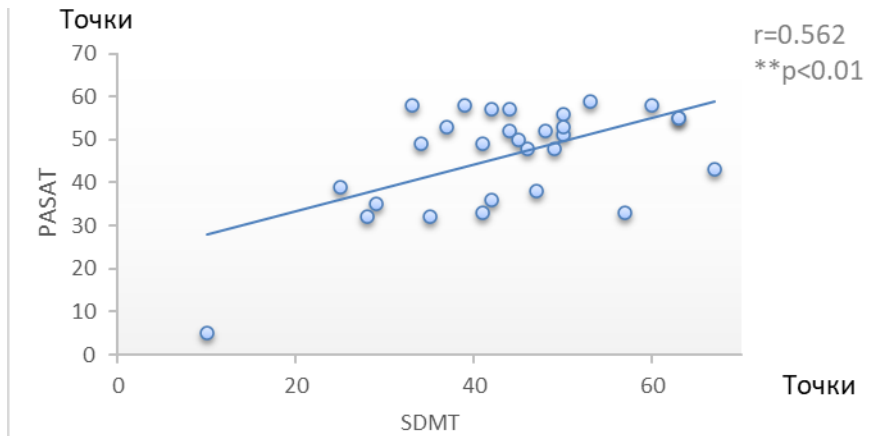
		Корелации				
		PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	BDI
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.562**	-.092	-.248	-.316
	Равнище на значимост		.002	.636	.195	.095
	Брой	29	29	29	29	29
SDMT	Корелация на Пирсън	.562**	1	-.163	-.288	-.377*
	Равнище на значимост	.002		.397	.129	.044
	Брой	29	29	29	29	29
FSS	Корелация на Пирсън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

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

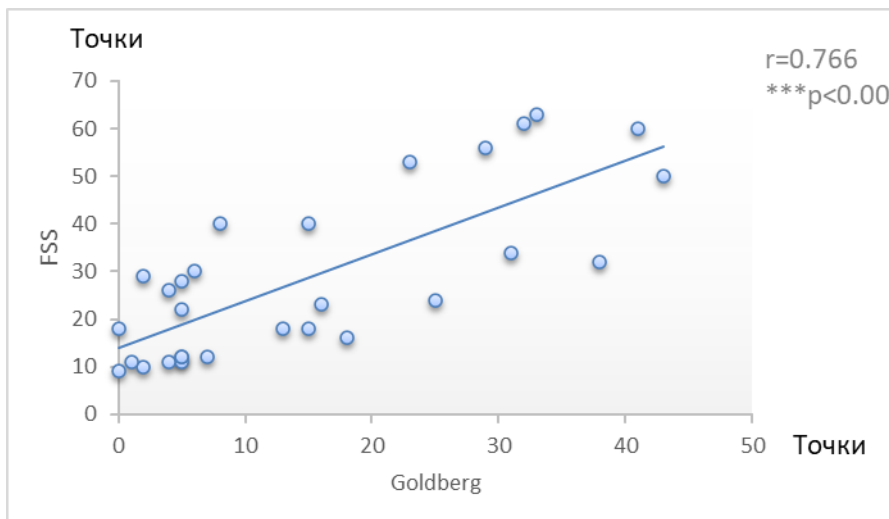
** . Корелацията е значима при равнище от 1 %.

*. Корелацията е значима при равнище от 5 %.

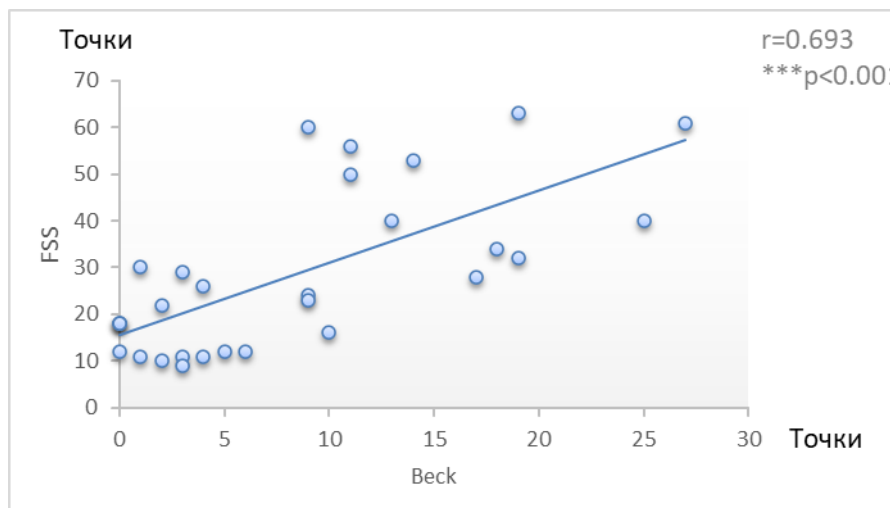
Установява се, че между Beck и FSS, BDI и Goldberg DI, и между PASAT – 3s и SDMT съществува значителна правопрпорционална връзка. Между FSS и Goldberg DI съществува висока правопрпорционална връзка. Единствено при SDMT и BDI се наблюдава умерена отрицателна корелация.



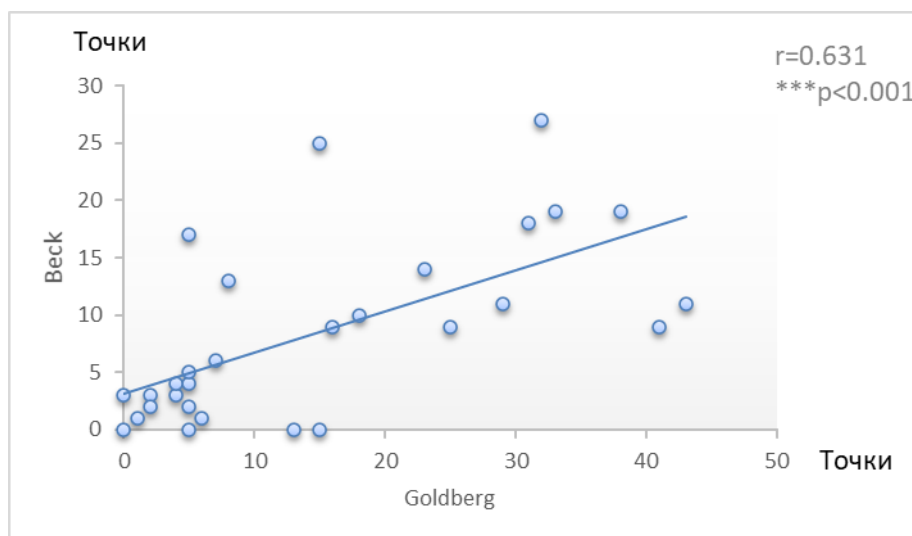
Фигура 48. Графично представяне на връзката между PASAT – 3s и SDMT при изследваните МС пациенти жени. Установява се значителна правопрпорционална връзка ($r = +0.562$, $**p < 0.01$) при болните от МС жени между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99%.



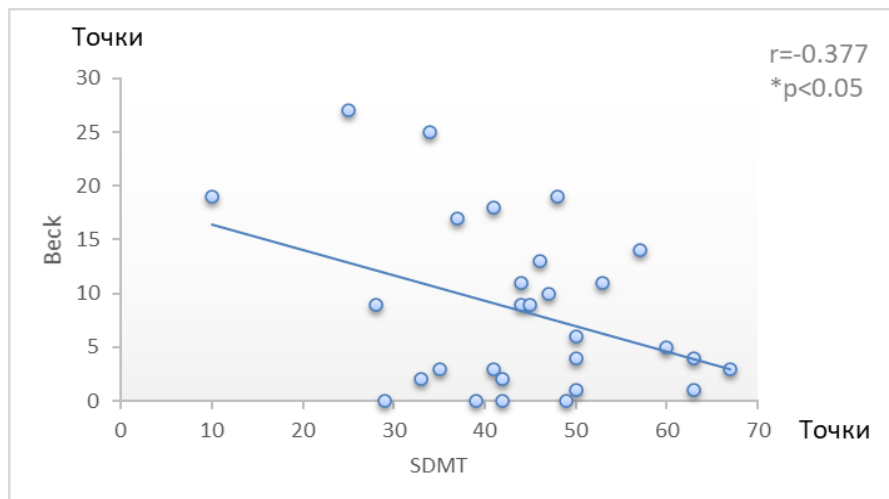
Фигура 49 Графично представяне на връзката между Goldberg DI и FSS при изследваните МС жени. Установява се висока правопрпорционална връзка ($r = +0.766$, $***p < 0.001$) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 50. Графично представяне на връзката между BDI и FSS при изследваните МС пациенти жени. Установява се значителна правопрпорционална връзка ($r = +0.693$, $***p < 0.001$) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 51. Графично представяне на връзката между Goldberg DI и BDI при изследваните МС пациенти жени. Установява се значителна правопрпорционална връзка ($r = +0.631$, $***p < 0.001$) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99,9%.



Фигура 52. Графично представяне на връзката между BDI и SDMT при изследваните МС пациенти жени. Установява се умерена обратнопропорционална връзка ($r=-0.377$, $*p<0.05$) между двата теста при болните от МС жени. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 95%.

1.12.2.2 ЗДРАВИ КОНТРОЛИ ЖЕНИ

Таблица 26. Корелации при жени здрави контроли:

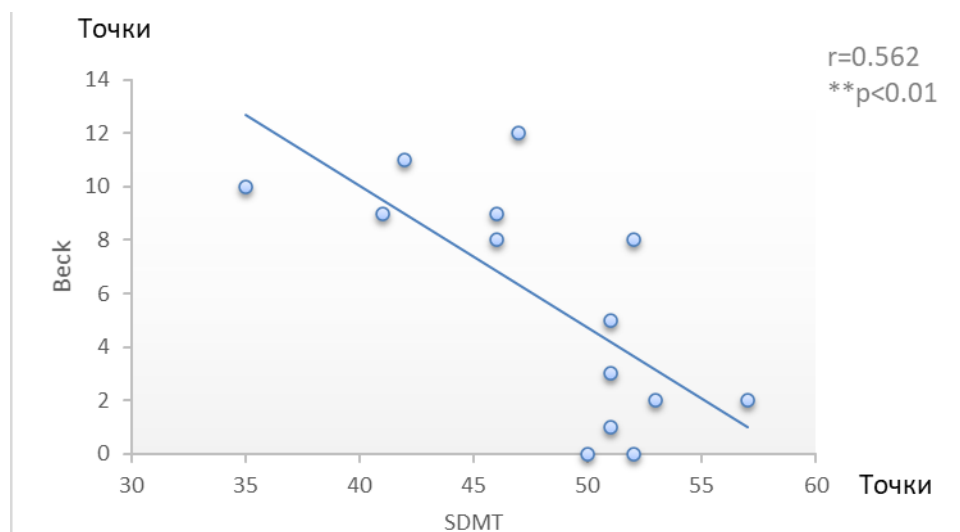
		Корелации				
		PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	BDI
PASAT	Корелация на Пирсън	1	.391	-.157	-.008	-.147
	Равнище на значимост		.167	.592	.979	.615
	Брой	14	14	14	14	14
SDMT	Корелация на Пирсън	.391	1	.227	-.229	-.711**
	Равнище на значимост	.167		.435	.430	.004
	Брой	14	14	14	14	14
FSS	Корелация на Пирсън	-.157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

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

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

* . Корелацията е значима при равнище от 5 %.

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



Фигура 53. Графично представяне на връзката между BDI и SDMT при изследваните здрави жени. Установява се висока обратнопропорционална връзка ($r=-0.711$, $**p<0.01$) между двата теста. Този извод може да се потвърди с вероятност за сигурност от 99%.

ОБСЪЖДАНЕ

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

Анализът при жените, включени в проучването установява влошено представяне при всички проведени тестове в групата на жениет с МС. При провеждане на когнитивен тест SDMT при жени от двете изследвани групи,

жените от групата на МС пациентите постигат по-нисък резултат при изпълнение на SDMT. При тях се отчита по – високо ниво на самооценката за наличие на умора от FSS теста.

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

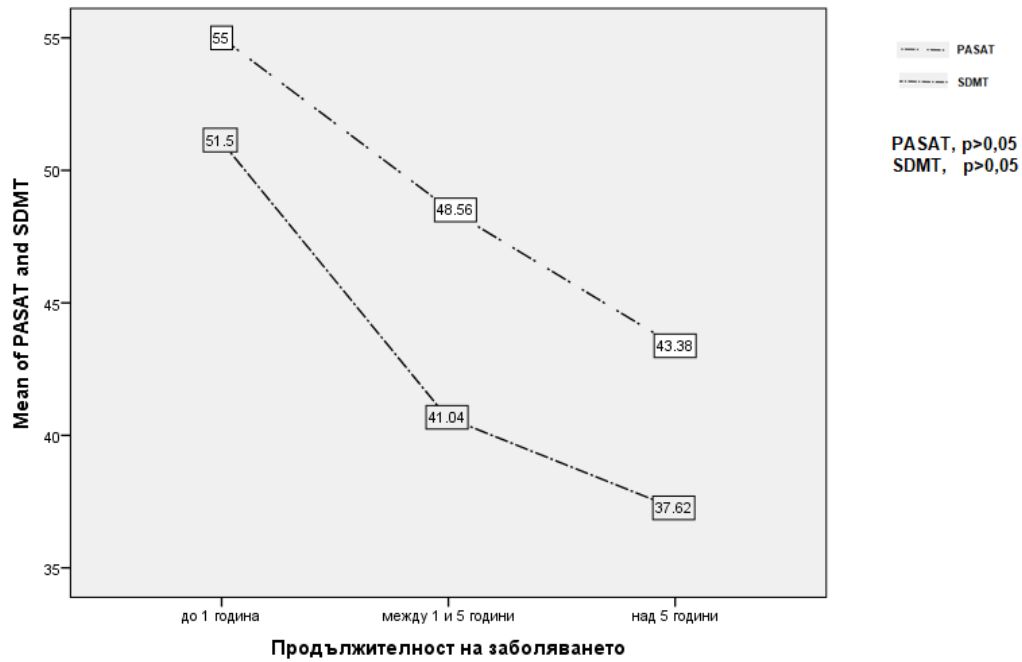
Промените при изследваните жени с МС не са статистически значими. Не се установи статистически значима разлика между здрави контроли и МС пациенти при нито един от тестовете. При тестване за статистически значима разлика по демографски фактори между двете групи, обект на проучването, не се откриват съществени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

1.13. ДАВНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

Факторът давност на заболяването при МС влияе върху процеса на атрофия. Пациентите с ПРМС преминават във ВПМС около 10 години след начало на заболяването (13). В тази връзка ще се провери, съществува ли статистически значима разлика между FSS, PASAT – 3s, SDMT, Goldberg DI и BDI при различна продължителност на заболяването¹⁸.

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

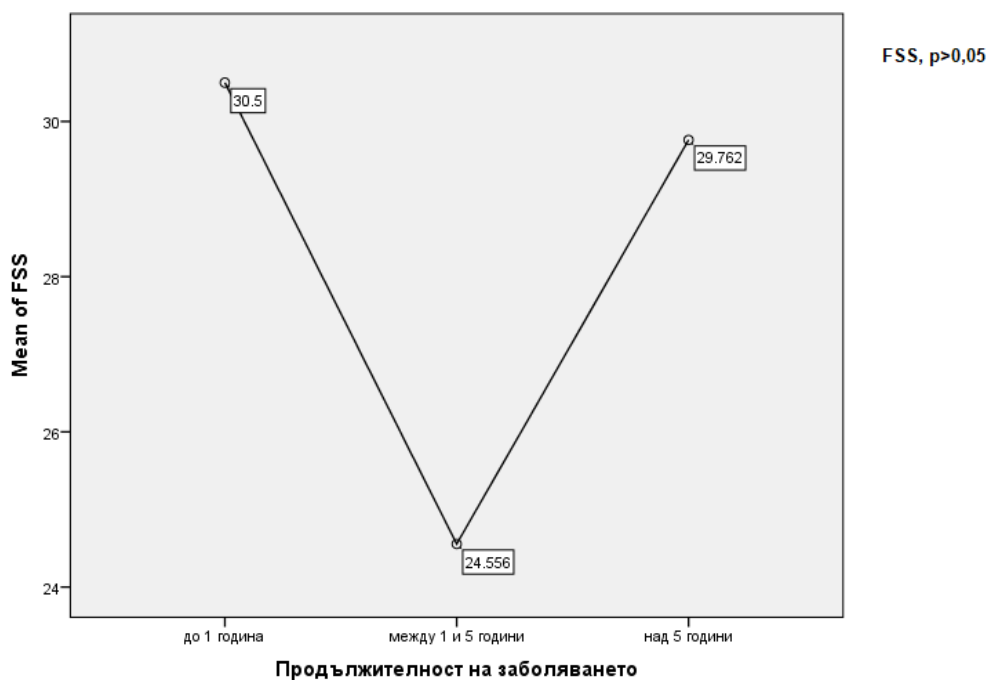
¹⁸ Приложение 18



Фигура 54. Графично представяне на промените в PASAT – 3s и SDMT при МС пациентите в зависимост от продължителността на заболяването.

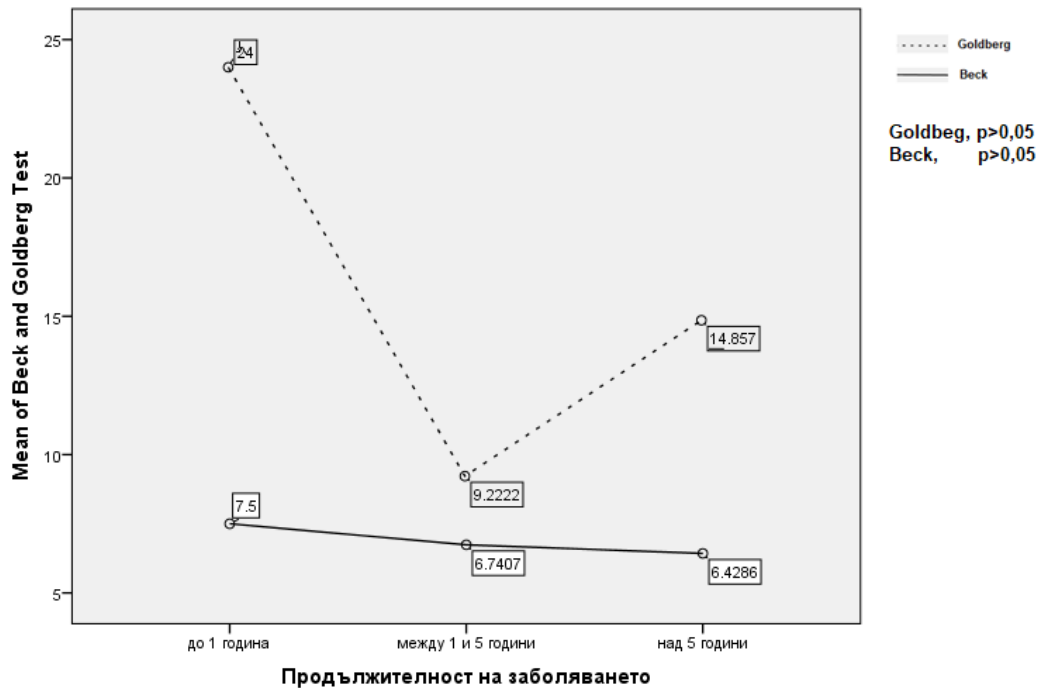
Налице е трайна тенденция за влошено представяне при изпълнението и на двата теста с нарастване продължителността на заболяването.

1.14. УМОРА, ДЕПРЕСИЯ И ПРОДЪЛЖИТЕЛНОСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ



Фигура 55. Промени в резултат от FSS при МС пациентите в зависимост от продължителността на заболяването.

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



Фигура 56. Наличие на депресия, оценено чрез прилагане на BDI и Goldberg DI при МС пациентите в зависимост от продължителността на заболяването.

Проверката за разпределението на резултатите отчита, че разпределението в никоя група не е нормално или случаите в групата са прекалено малко за да се изчисли такава.¹⁹ Резултатите²⁰ за проверка на разлики между различната продължителност на заболяване са представени в таблица 27.

Получените резултати показват, че всички равнища на значимост са по-големи от приетия риск за грешка, което означава, че няма статистически значима разлика в средните стойности между трите групи по продължителност на заболяването т.е. няма връзка между продължителността на заболяването и изброените тестове. Този извод може да бъде потвърден с вероятност от 95%.

¹⁹ Приложение 17

²⁰ Пълните резултати от тестовете се намират в Приложение 18

Таблица 27. Резултати от сравненията между изследваните тестове при различна продължителност на заболяването.

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

1.15. EDSS И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

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

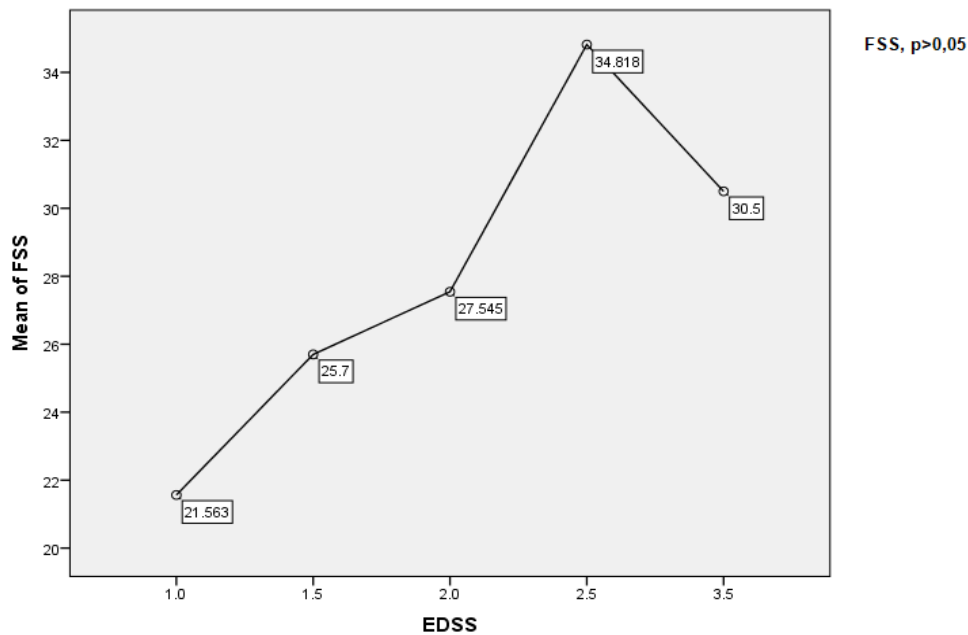
Според оценката на инвалидния статус се оформят повече от две групи, за тази проверка се приложи дисперсионен анализ или негов аналог в зависимост от това дали условията за приложението му са изпълнени. Дисперсионният анализ сравнява дали има статистически значима разлика едновременно в няколко групи.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

Условията за приложение на дисперсионния анализ са следните:

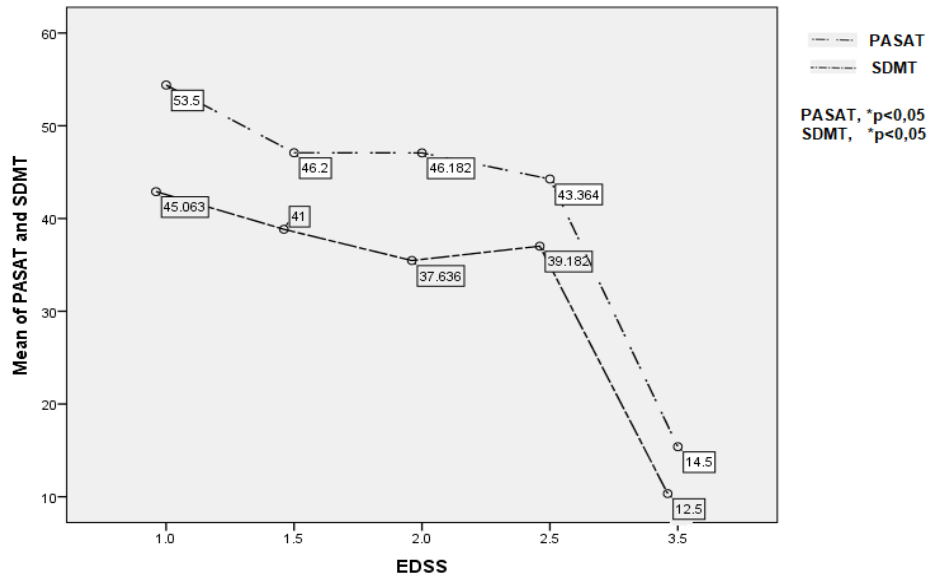
- разпределението на променливата да бъде нормално във всяка група;
- дисперсиите да бъдат приблизително равни;

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

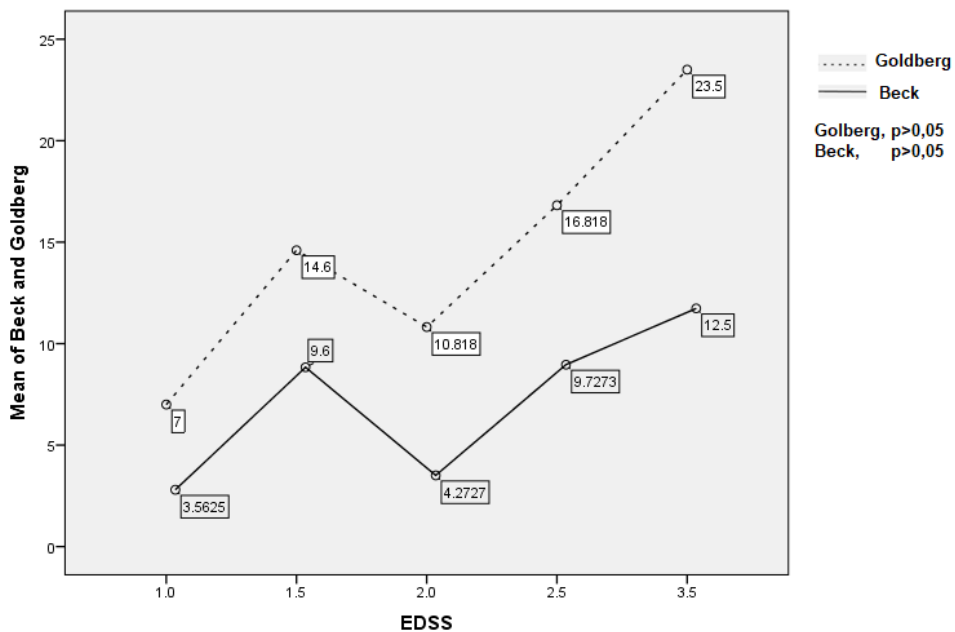
На фигурите по-долу са представени средните стойности при всяка от изследваните променливи според инвалидния статус.



Фигура 57. Средна стойност на FSS в зависимост от EDSS оценка на степен на инвалидност при МС пациентите. Наблюдава се тенденция за нарастване на умората с увеличаване на степента на инвалидност.



Фигура 58. Средна стойност на PASAT – 3s и SDMT в зависимост от EDSS оценка на степен на инвалидност при МС пациентите. Резултатите от двата приложени теста за оценка на когнитивното функциониране демонстрират трайна тенденция за влошена когнициция с нарастване на степента на инвалидност.



Фигура 59. Средна стойност на Goldberg DI и BDI оценка в зависимост от EDSS оценка на степен на инвалидност при МС пациентите. При самооценъчните скали за депресия не се наблюдава определена тенденция с нарастване на степента на инвалидност.

Разпределението²¹ на някои от променливите в групите не е нормално. За тях е използван непараметричен аналог на дисперсионен анализ.

Таблица 28. Резултати от сравненията между изследваните тестове при различна стойност на инвалидност.

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

Резултатите от сравнението между различните стойности на инвалидност при PASAT – 3s теста има равнище на значимост (Sig.=0,013), по – малко от риска за грешка ($\alpha=0,05$). Следователно с вероятност за

²¹ Приложение 19

сигурност от 95% може да се твърди, че има статистически значима разлика между средния брой точки при различните равнища на инвалидност.

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

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

След като такава разлика е доказана при PASAT – 3s и SDMT причината за тази разлика може да се установи с помощта на Post Hoc анализ, основаващ се на LSD (Least Significant Difference) тест. Резултатът²² показва, че средния брой точки на променливата PASAT при пациенти с EDSS=3.5 се различава статистически значимо от всички останали средни при останалите инвалидни статуси. Същото важи и за SDMT. Това означава, че средните при този инвалиден статус се различава от всички останали средни и при двата теста. Неврологичният дефицит при пациентите, включени в нашето изследване със степен на инвалидност EDSS=3.5 е обусловен от промени в тазово резервоарни функции и прояви на пареза за долни крайници. В проучването не са включвани пациенти с неврологичен дефицит, ангажиращ горните крайници, зрителни, слухови или координационни нарушения. Следователно отчетената степен на инвалидизация и връзката и с промените по отношение на когнитивното функциониране вероятно трябва да се търсят в придружаващ процес на атрофия, без пряка връзка с неврологичния дефицит при тези пациенти. Следователно когнитивните нарушения са свързани с атрофия, обуславяща дисконекция на мозъчни области, свързани с когнитивни функции. Пациентите с EDSS=3.5 в нашето изследване са с продължителност на заболяване над 5 години.

1.16. ВЪЗРАСТ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ В ДВЕТЕ ИЗСЛЕДВАНИ ГРУПИ

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

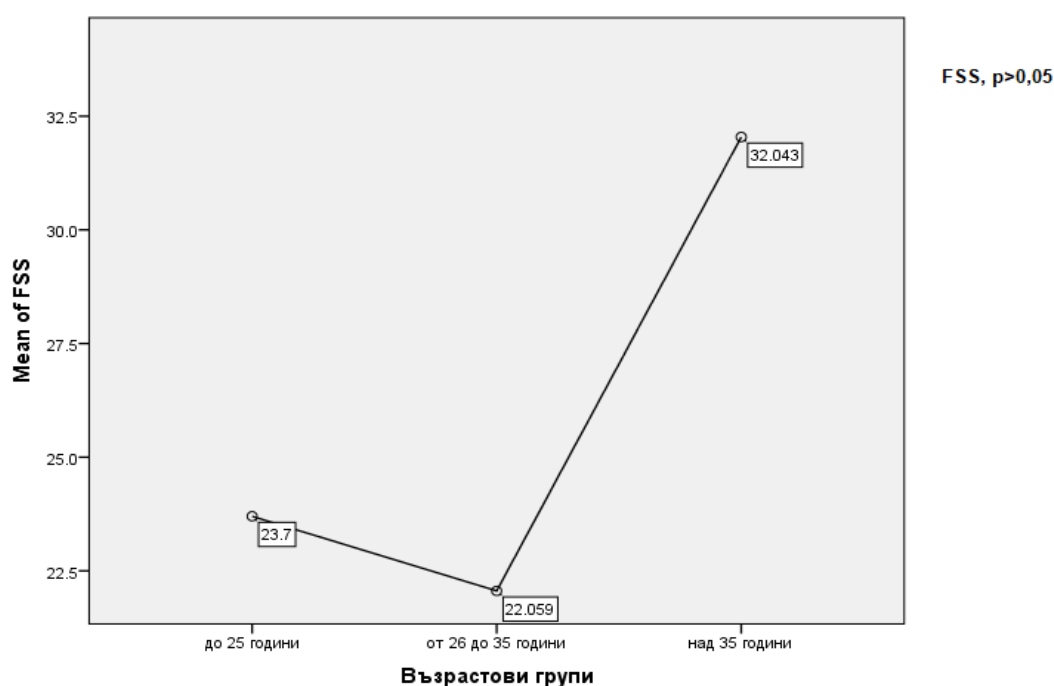
²² Приложение 21

Условно изследваните лица са разделени в три възрастови групи:

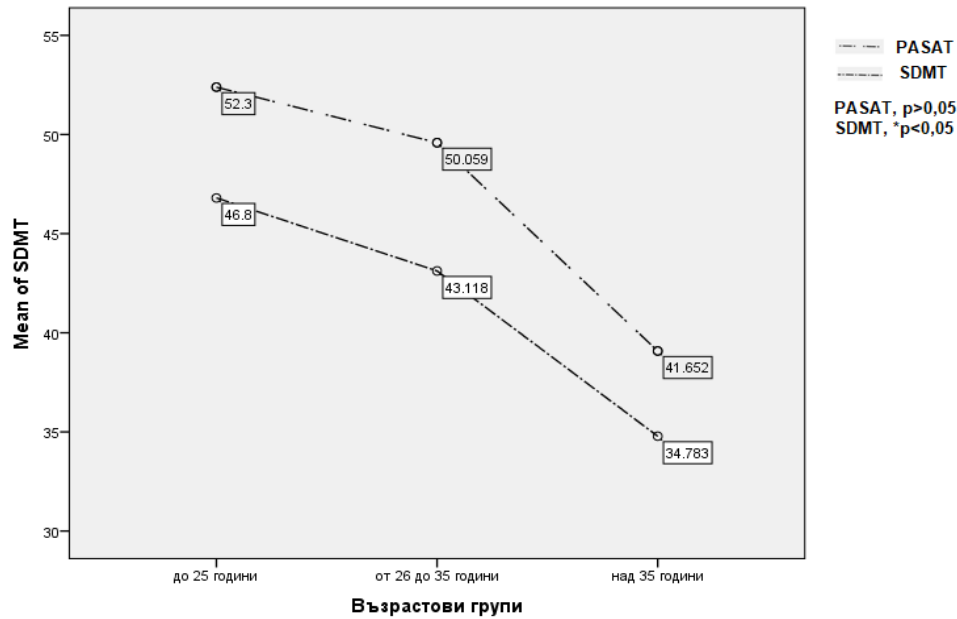
- Първа група: до 25 години
- Втора група: от 26 до 35 години
- Трета група: над 35 години
-

1.16.1. БОЛНИ С МС

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

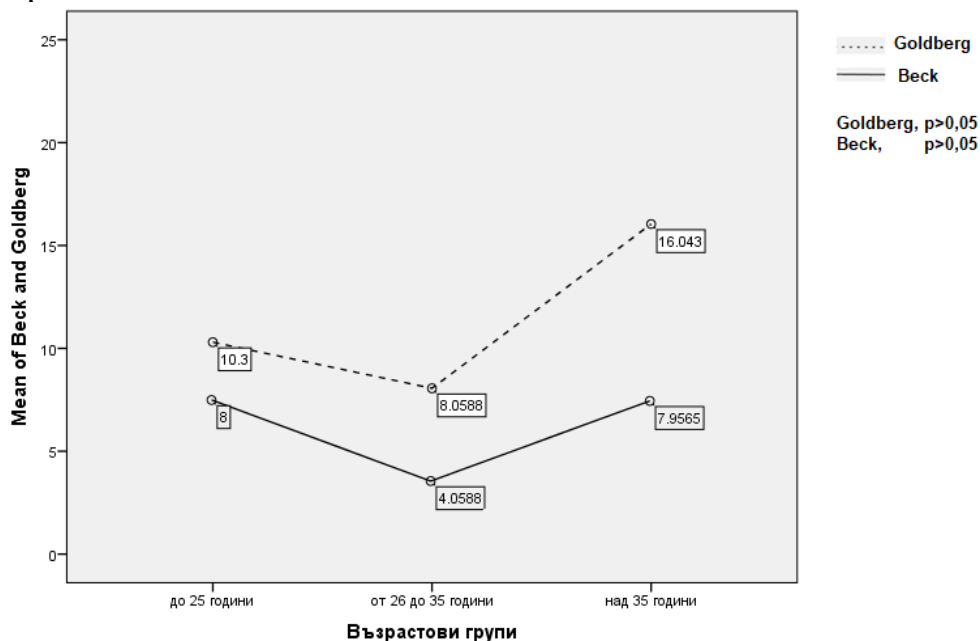


Фигура 60. Промени в FSS оценка в зависимост от възрастовата група на изследваните болни с МС. С нарастване възрастта на пациентите се отчита по-изразена умора.



Фигура 61. Промени в PASAT – 3s и SDMT в зависимост от възрастовата група на изследваните болни с МС.

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



Фигура 62. Промени в Goldberg DI и BDI в зависимост от възрастовата група на изследваните болни с МС.

Разпределението на променливите е тествано²³ и са приложени съответните тестове за проверка.

Резултатите представени на таблица 29 показват, че единствено при SDMT има статистически значима разлика между средните стойности по възраст. Това означава, че възрастта оказва влияние при този тест. При останалите променливи такава разлика не се наблюдава. Този извод може да се твърди с вероятност за сигурност от 95%.

Таблица 29. Резултати от сравненията между изследваните тестове при различна възраст.

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

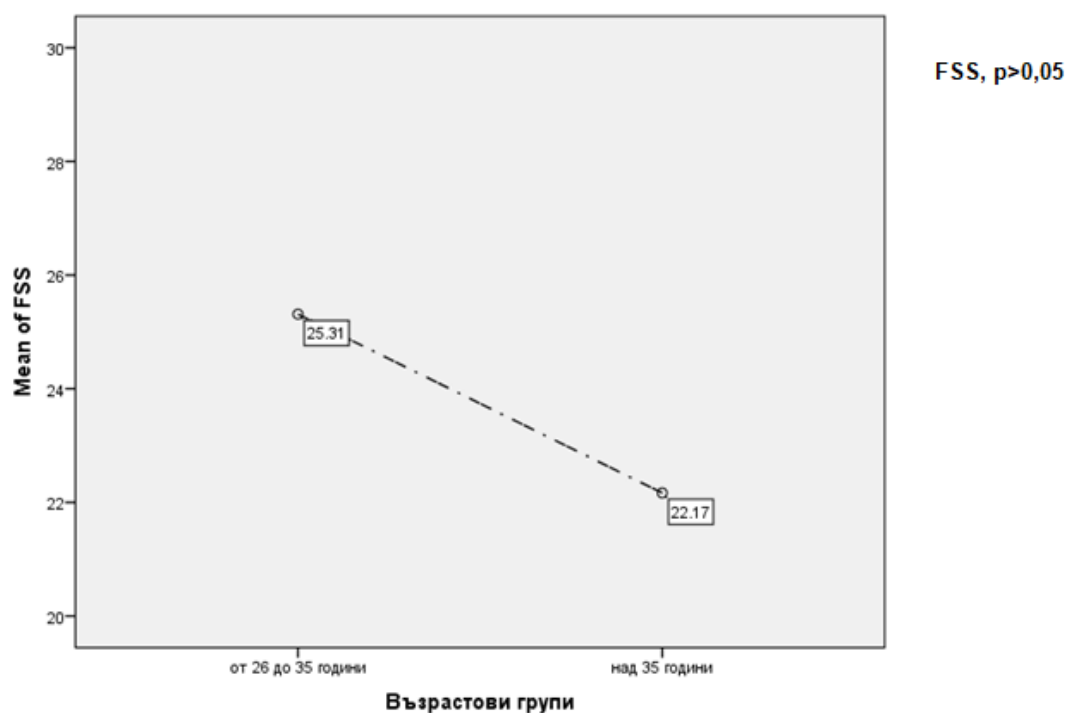
С Post Hoc анализ проверихме²⁴ коя група е изиграла решаваща роля за обособяване на статистически значима разлика между групите. Оказва се, че това са МС пациентите над 35 годишна възраст. Техните средни се различават статистически значимо спрямо останалите възрастови групи.

²³ Приложение 22

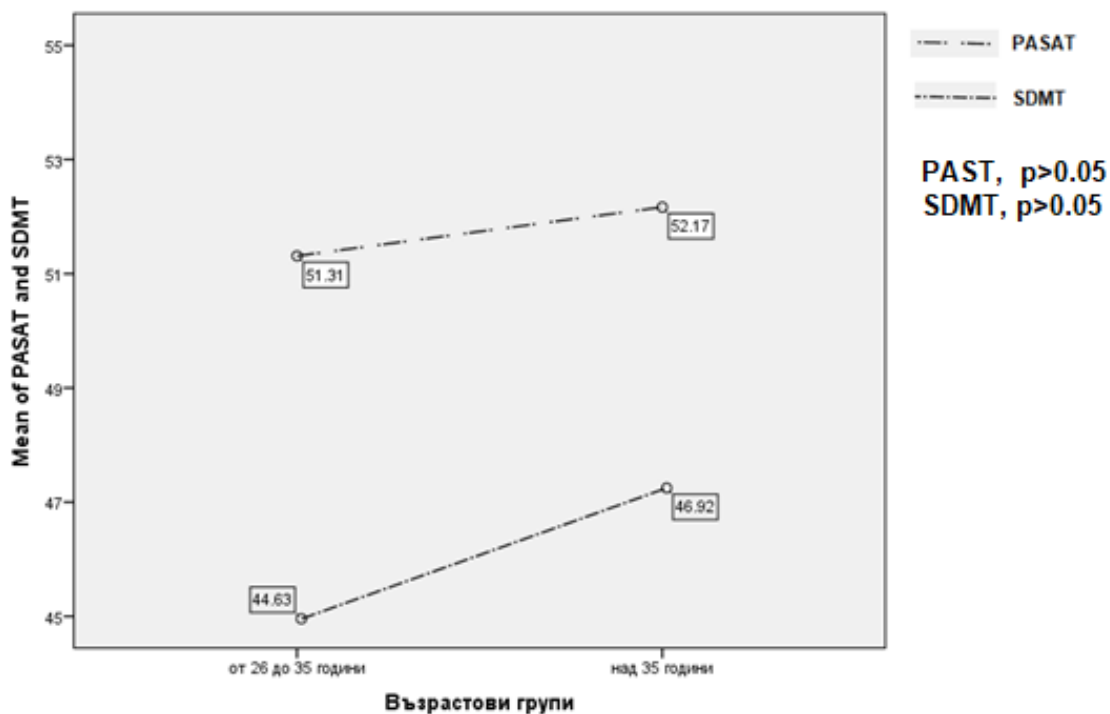
²⁴ Приложение 23

1.16.2. ЗДРАВИ КОНТРОЛИ

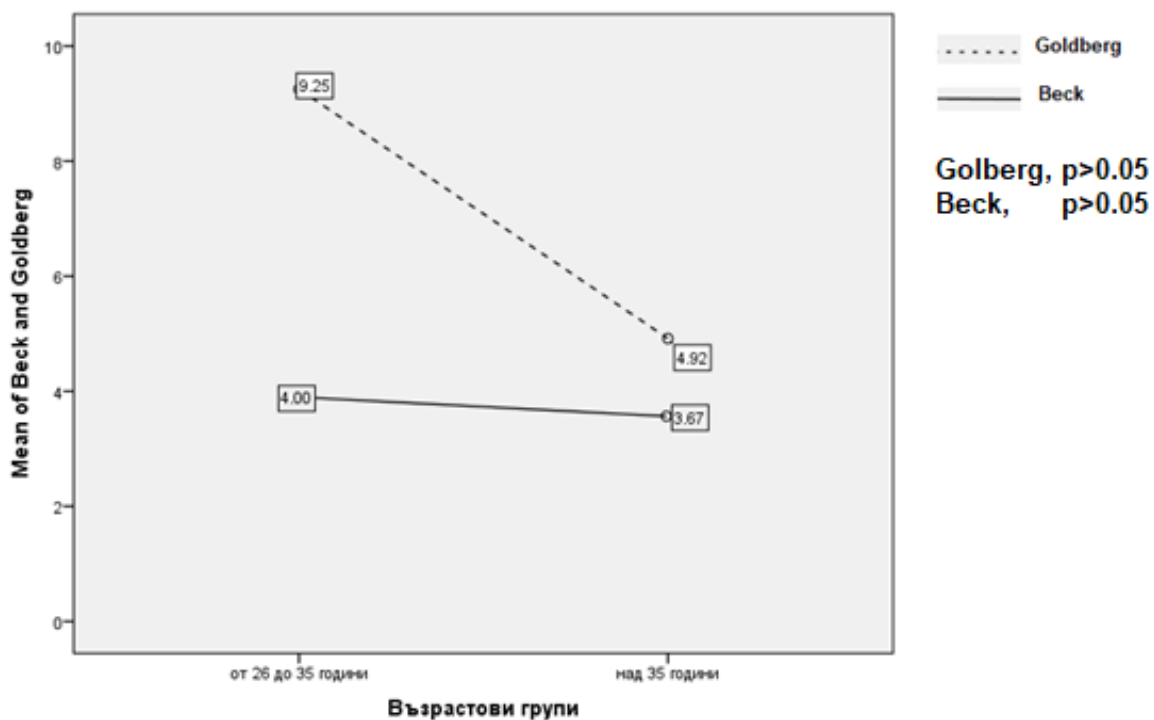
На фигурите по – долу са представени средните стойности при всяка от изследваните променливи според възрастовите групи на изследваните здрави контроли. Обособяват се само две групи, тъй като при здравите пациенти липсва лице, попадащо в първата възрастова група до 25 години.



Фигура 63. Графично представяне на промените във FSS оценката според фактора възраст.



Фигура 64. Графично изобразяване на промените в когнитивното представяне оценено чрез PASAT и SDMT според фактора възраст.



Фигура 65. Графично изобразяване на промените в Goldberg DI и BDI самооценъчни скали според фактора възраст.

Проверката за разпределението на променливите определя какъв тест да се използва²⁵. Резултатите са представени в таблица 30.

Таблица 30. Резултати от сравненията между групите за разликите в средния брой точки между жени болни с МС и жени здрави контроли.

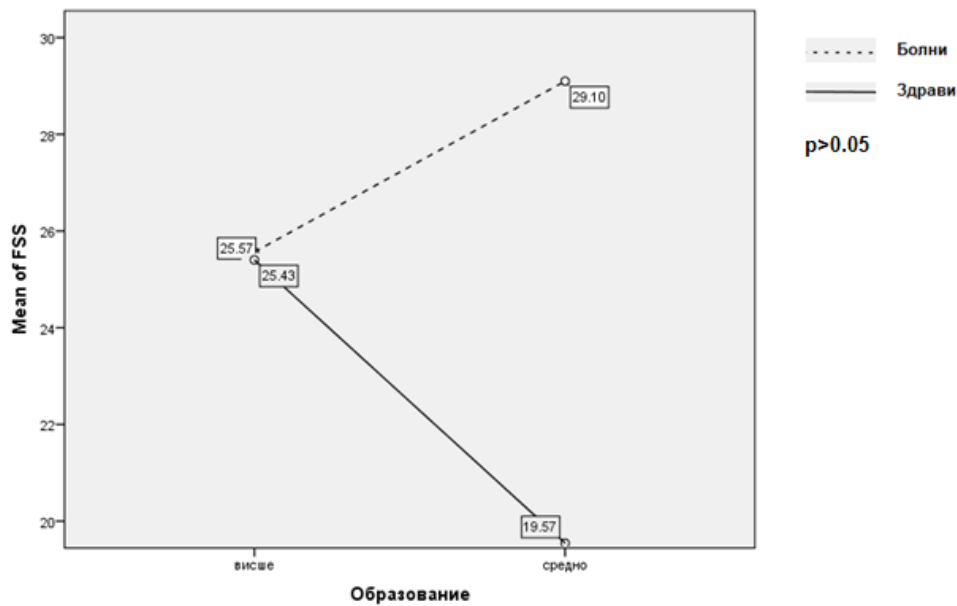
Тест	Статус	Брой	Средна	Стандартно отклонение	Равнище на значимост	Статистически значима разлика
PASAT	от 26 до 35 години	16	51.31	7.282	0.889	Не
	над 35 години	12	52.17	5.781		
SDMT	от 26 до 35 години	16	44.63	4.978	0.235	Не
	над 35 години	12	46.92	9.774		
FSS	от 26 до 35 години	16	25.31	11.223	0.461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

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

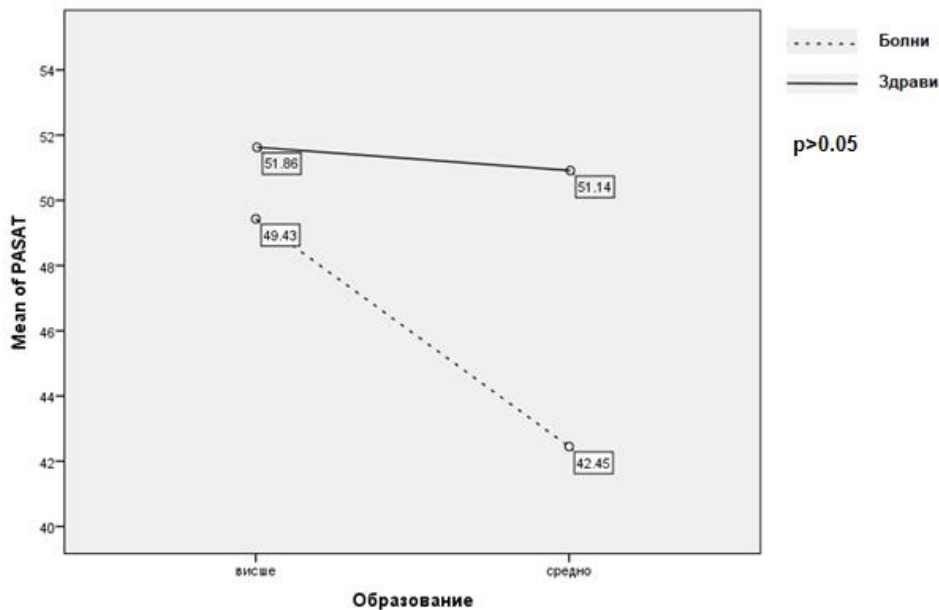
1.17. НИВО НА ОБРАЗОВАНИЕ И НЕВРОПСИХОЛОГИЧНО ФУНКЦИОНИРАНЕ

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

²⁵ Приложение 24

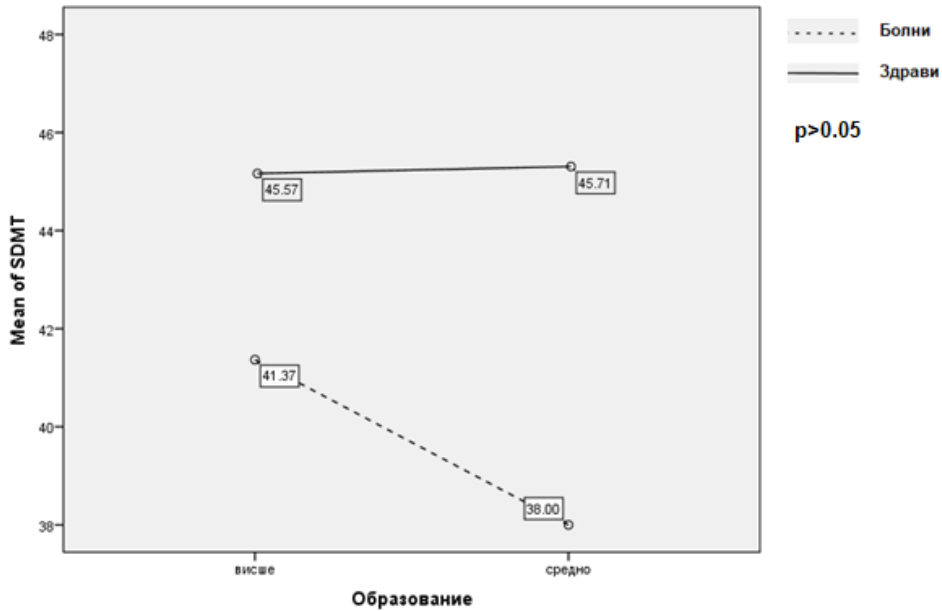


Фигура 66. Графично представяне на FSS според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли. Отчита се тенденция за наличие на умора при МС болните със завършено средно образование. Противоположен резултат се докладва от здравите контроли.

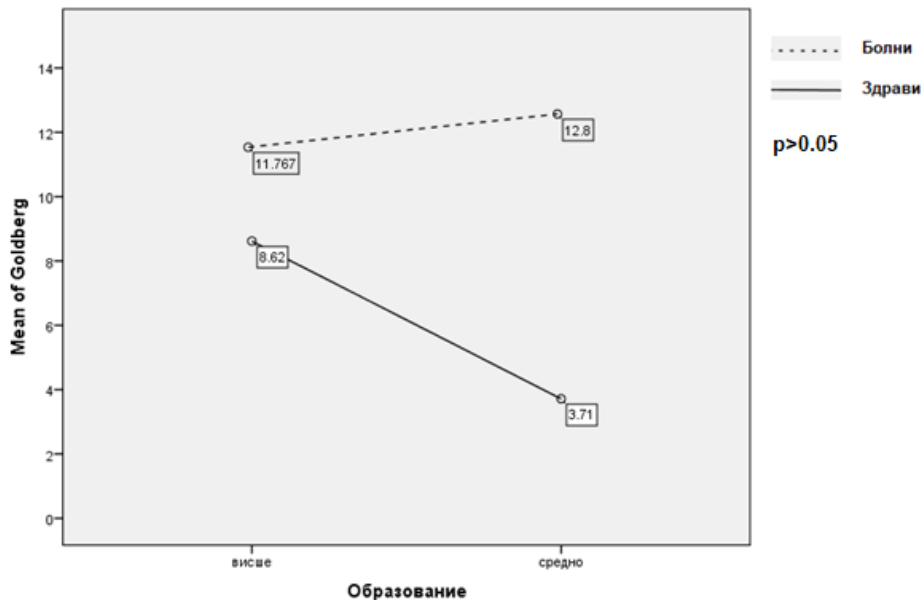


Фигура 67. Графично представяне на данните от PASAT – 3s според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли. МС болните постигат по – малък резултат в сравнение със здравите контроли и в двете групи (висше и средно завършено образование). МС болните със средно образование се представят с по – лош резултат при изпълнението на тест PASAT – 3s.

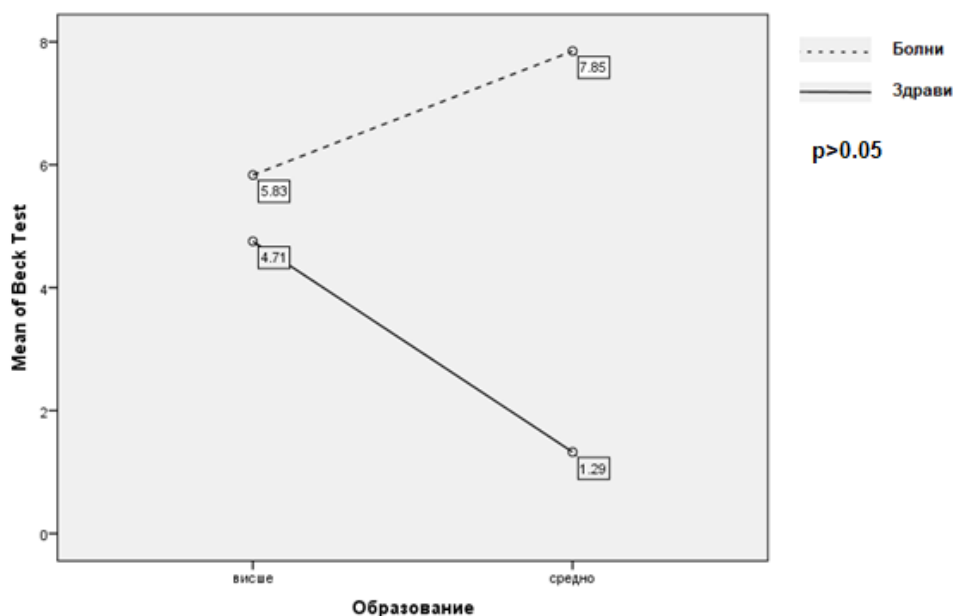
Данните показват, че изпълнението на теста зависи от нивото на образование и аритметичните способности. Същата тенденция, но в по – слаба степен се наблюдава и в групата на здравите контроли.



Фигура 68. Графично представяне на данните от SDMT според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли. В групата на МС болните отново се отчита по – лошо представяне спрямо групата на здравите контроли. Пациентите с висше образование постигат по – добър резултат спрямо тези със средно образование.



Фигура 69. Графично представяне на данните от Goldberg DI според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли.



Фигура 70. Графично представяне на данните от BDI според нивото на образование при болните с МС и здравите контроли.

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

Таблица 31. Резултати от сравненията между нивата на образование за изследваните тестове при здрави пациенти.

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

Проверката за разпределението на променливите определя какъв тест да се използва²⁶. Установяваме, че няма разлика между различните нива на образование при тестовете. Това означава, че образованието не оказва влияние върху средния брой точки за изследваните тестове. Този извод може да се твърди с вероятност за сигурност от 95%.

Таблица 32. Резултати от сравненията между нивата на образование за изследваните тестове при МС пациенти.

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

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

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

²⁶ Приложение 25

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

1.18. КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ ОБЕМ НА ХИПОКАМП И EDSS

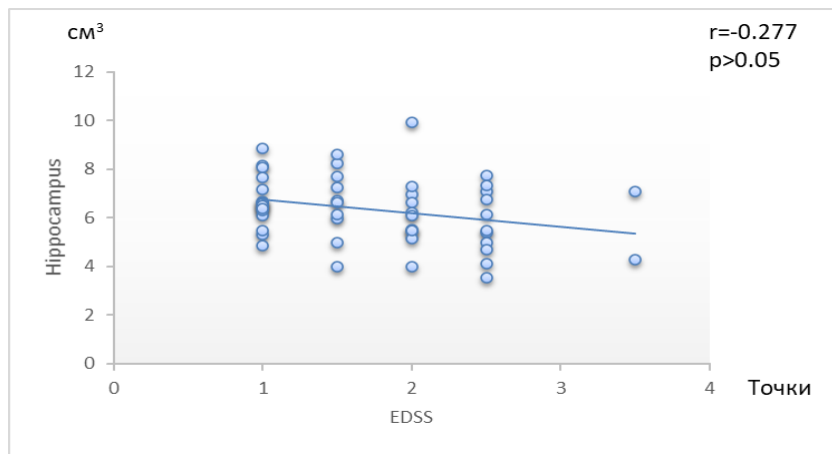
Таблица 33. Корелации между обем на хипокамп и степента на инвалидност, оценена по скалата EDSS при болните с МС:

		Корелации	
		хипокамп cm ³	EDSS
хипокамп cm ³	Корелация на Пирсън	1	-.277
	Равнище на значимост		.052
	Брой	50	50
EDSS	Корелация на Пирсън	-.277	1
	Равнище на значимост	.052	
	Брой	50	50

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

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

* . Корелацията е значима при равнище от 5 %.



Фигура 71. Графично представяне на корелация между среден обем на хипокампа и степента на инвалидност оценена с EDSS-скала.

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

ОБСЪЖДАНЕ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ИЗВОДИ

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

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

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

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

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

Установява се статистически значима разлика при сравнение на съотношенията NAA/Cr и Cr/NAA при МС пациентите от женски пол.

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

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

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

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

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

ПРИНОСИ

НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧНИ

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

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

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

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

НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ

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

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

ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА

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

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

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

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ КОНГРЕСИ, КОНФЕРЕНЦИИ И СИМПОЗИУМИ

ПУБЛИКАЦИИ В ПЕРИОДИЧНИ И ПРОДЪЛЖАВАЩИ ИЗДАНИЯ

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

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

Библиография:

1. Генев, К., Фактори, влияещи на когнитивното влошаване при болни с множествена склероза (клинико-психологично проучване), София, 2015
2. Генев, К. Множествена склероза. С., „АС“. 2002; 9-127.
3. Генев, К. Начин на живот и психологически проблеми при болни от множествена склероза. С., „ХК“, 2015.
4. Генев, К. Промени на когнитивните функции при болни с множествена склероза (клинико-психологично проучване). Дисертационен труд, Ц., 2003.
5. Гоев, В., Статистическа обработка и анализ на информацията от социологически, маркетингови и политически изследвания със SPSS, Стопанство, 1996 г.
6. Жекова, В., С. Поцков, Прилагане метода на случайни наблюдения за измерване степента на екстензивното използване на основното оборудване в машиностроителните предприятия в НРБ, Сп. Статистика, кн.4, 1970, с.44
7. Йорданов, Б. Множествена склероза. Ц., Медицина и физкултура. 1989; 60-130.
8. Калоянов, Т., В. Петров, Статистика, УНСС, 2014
9. Калоянов, Т., В. Петров, Статистика, Издателски комплекс-УНСС, 2014 г., стр. 289
10. Кунчев, Т., Райчева, М., Петрова, М., Трайков, Л. Когнитивни нарушения при МС и тяхната връзка с лечението. С., Неврология и Психиатрия. 2015; 5, 3-8.
11. Мавлов, Л. Невропсихологични аспекти на паметовите функции. В: Програма за изследване на човека и неговия мозък, Научно-информ. Обзори, С., 2, 1987, 32- 35.
12. Миланов, И. Множествена склероза. Ц., Медицина и физкултура. 2010.
13. Миланов, И., Множествена склероза и автоимунни демиелинизиращи заболявания на централната нервна система, София, 2014, Медицина и физкултура
14. Мишев, Г., В. Гоев. Статистически анализ на времеви редове, Авангард Прима, 2010, стр. 301
15. Национален консенсус за диагноза и лечение на множествена склероза, София, 2018.
16. Николова, Г., Трайков, Л., Янчева, С., Георгиев, Д., Кметска, К., Петрова, Т., Добрева, Д., Лечение с 4-Аminopiridine и Galantamine при болни с множествена склероза и когнитивни нарушения. С., мозъчносъдови заболявания, 2001, 9 (1), 34-38.
17. Павлова, В., С. Чипева, Статистика, Нова Звезда, 2012 г., стр. 201

18. Райчева, М., Нарушения в работната памет и екзекутивните функции в алгоритъма на невропсихологичната диагностика, София
19. Сепетлиев, Д., Медицинска статистика, София, 1976
20. Трайков, Л., Райчева, М., Мехрабян, Ш. Висши корови функции. В: Неврология. Миланов, И. Ред, С., Медицина и физкултура, 2012, 202-217.
21. Чипева, С., В. Бошнаков, Въведение в иконометрията, Издателски комплекс-УНСС, 2015, стр. 80
22. Amato, M., Ponziani, G., 2001, Cognitive dysfunction in early-onset multiple sclerosis: a reappraisal after 10 years. *Arch. Neurol.* 58, 1602-1606.
23. Amber N.V. Ruigrok et al. A meta-analysis of sex differences in human brain structures, neuroscience, and behavioral reviews 2013
24. Amtmann D, Cook KF, Jensen MP, et al. Development of a PROMIS item bank to measure pain interference. *Pain.* 2010;150(1):173-182
25. Anagnostaras SG, Gale GD, Fanselow MS. Hippocampus, and contextual fear conditioning: Recent controversies and advances. *Hippocampus.* 2001; 11:8–17.
26. Arnold, D. L., Matthews, P.M. MRI in the diagnosis and management of multiple sclerosis. *Neurology*, 2002; 58 (8): 23-31.
27. Aron, Smith, 1982. Symbol Digit Modalities Test: Manual. Western Psychological Services, Los Angeles
28. Banks WA, Kastin AJ, Broadwell RD. Passage of cytokines across the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation.* 1995; 2 (4):241–248.
29. Bai Lu, Guhan Nagappan, Xiaoming Guan, Pradeep J. Nathan, Paul Wren. BDNF- Based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience* 14, 401- 416 (2013)
30. Barker-Collo, S.L., Quality of life in multiple sclerosis: Does information-processing speed have an independent effect? *Arch Clin Neuropsych* 21 (2006); 167- 174.
31. Beat Knusel, John W. Winslow, Arnon Rosenthal, Louis E Burton, Derice P. Seid, Karoly Nikolics, Franz Hefti. Promotion of central cholinergic and dopaminergic neuron differentiation by brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin 3. *Proc Natl Acad Sci. USA Neurobiology* 1991 Feb; Vol. 88: 961-965
32. Benedict, R.H.B., Amato, M.P., Boringa, J., Brochet, B., Foley, F., Fredrikson, S., Hamalainen, P., Hartung, H., Krupp, L., Penner, I., Reder, A.T., Langdon, D. Brief International Cognitive Assessment for MS (BICAMS): International standards for validation. *BMC Neurol.* 2012; 12: 55.

33. Benedict, R.H.B., DeLuca, J., Phillips, G., LaRocca, N., Hudson, L.D., Rudick, R. Validity of the Symbol Digit Modalities Test as a cognition performance outcome measure for multiple sclerosis. *Mult Scler* 2017 Apr; 23(5): 721-733.
34. Benedict, R.H.B., Fisher, J.S., Archibald, C.J., Arnett, P.A., Beaty, W.W., Bobholz, J., et al., 2002. Minimal neuropsychological assessment of MS patients: a consensus approach. *Clin. Neuropsychol.* 16 (3), 381-397.
35. Benedict, R.H.B., Smerbeck, A., Parikh, R., Rodgers, J., Cadavid, D., Erlanger, D., 2012. Reliability and equivalence of alternative forms for the Symbol Digit Modalities Test: implications for multiple sclerosis clinical trials. *Mult. Scler.* 18 (9), 1320-1325.
36. Benedict, R.H.B., Weinstock-Guttman, B., Fishman, I., 2004. Prediction of neuropsychological impairment in multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 61, 226-230.
37. Berger T, Rubner P, Schautzer F, et al. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *N Engl J Med.* 2003;349 (2):139–145.
38. Bermel R.A., Bakshi, R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2006; 5: 158-170
39. Bielak, A.A., Anstey, K.J., Christensen, H., Winsdor, T.D. (2012). Activity engagement is related to level, but not change in cognitive ability across adulthood. *Psychology and aging*, 27(1), 219-228.
40. Bjelland I, Tell GS, Vollset SE, Konstantinova S, Ueland PM. Choline in anxiety and depression: the Hordaland health study. *The Am J Clin Nutr.* 90: 1056- 60
41. Bocher V, Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Role of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPARS) in the regulation of lipids and inflammation control. *J Soc Biol.* 2002; 196 (1):47–52. French.
42. Brex, P.A., Jenkins, R., Fox, N.C., et al. Detection of ventricular enlargement in patients at the earliest clinical stage of MS. *Neurology* 2000; 54: 1689-1691.
43. Byrne, J. Introduction to neurons and neuronal networks. Neuroscience online. [Http://neuroscience.uth.tmc.edu](http://neuroscience.uth.tmc.edu)
44. Burger et al. 2010 ; LaChapelle&Finlayson 1998
45. Butler, A. B.; Reiner, A.; Karten, H. J. (April 2011). "Evolution of the amniote pallium and the origins of mammalian neocortex". *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1225 (1): 14–27
46. Buzsaki, G., Chen, L.S., Gage, F.H. (1990). Spatial organization of physiological activity in the hippocampal region: relevance to memory formation. *Progress in Brain Research.* 83: 257-68.

47. Campbell, S., Macqueen, G. (2004). The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 29 (6): 417- 26.
48. Caramanos, Z., Santos, A.C., Arnold, D.L Magnetic resonance imaging and spectroscopy: insights into the pathology and pathophysiology of multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis 2*, Eds.: McDonald, W.I., Hoese worthy, J.H., Elsevier Science, Philadelphia, 2003, 139-168.
49. Catani, M., Mesulam, M. (2008-09-01) “What is a disconnection syndrome?” *Cortex*. Special issue on “Brain Hodology- Revisiting disconnection approaches to disorders of cognitive function”. 44(8): 911-913.
50. Chard, D.T., Griffin, C.M., McLean, M.A., Kapeller, P., Kapoor, R., Thompson, A.J., Miller, D.H. Brain metabolite changes in cortical gray and normal appearing white matter in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain*, Vol. 125, Issue 10, 1 October 2002, p 2342- 2352
51. Chard, D.T., Griffin, C.M.B., Parker, G.J.M., Kapoor, R., Thompson, A.J., Miller, D.H. Brain atrophy in clinically early relapsing- remitting multiple sclerosis. *Brain* 2002; 125: 327- 37.
52. Chen SC, Chung HW, Liou M (2003) Measurement of volumetric lesion load in multiple sclerosis: moving from normal- to dirty-appearing white matter. *AJNR Am J Neuroradiol* 24: 1929–1930.
53. Chiaravalloti, N.D., DeLuca, J. (2008). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurology*, 7(12), 1139- 1151.
54. Chiu, Y.C., Algase, D., Wall, A., Liang, J., Liu, H.C., Lin, K.N., Wang, P.N. (2004). Getting lost: direct attention and executive functions in early Alzheimer’s disease patients. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 17(3): 174-80.
55. Colasanti, A., Guo, Qi., Giannetti, P., Wall, M.B., Newbould, R.D. et al. Hippocampal neuroinflammation, functional connectivity and depressive symptoms in multiple sclerosis. *Biological Psychiatry*, July 1, 2016; 80: 62-72.
56. Coreyann Poly, Joseph M Massaro, Sudha Seshadri, Philip A Wolf, Eunyoung Cho, Elizabeth Krall, Paul F Jacques, Rhoda Au. The relation of dietary choline to cognitive performance and white matter hyperintensity in the Framingham Offspring Cohort. *Am J Clin Nutr*. 2011; 94: 1584-1591
57. Correia, S., Figueroa, C. (2016) Paced Auditory Serial Attention Test. In: Kreutzer J., DeLuca J., Caplan B. (eds) *Encyclopedia of Clinical Neuropsychology*. Springer, Cham.
58. Corthals AP. Multiple sclerosis is not a disease of the immune system. *Q Rev Biol*. 2011;86(4):287–321

59. Craciunescu CN, Albright CD, Mar MH, Song J, Zeisel SH. Choline availability during embryonic development alters progenitor cell mitosis in developing mouse hippocampus. *J Nutr.* 2003; 133: 36-48.
60. Craner MJ, Newcombe J, Black JA, Hartle C, Cuzner ML, Waxman SG. Molecular changes in neurons in multiple sclerosis: altered axonal expression of Nav1.2 and Nav1.6 sodium channels and Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101 (21):8168–8173.
61. Conrad, C.D. (2008). Chronic stress-induced hippocampal vulnerability: the glucocorticoid vulnerability hypothesis. *Reviews in the Neurosciences.* 19 (6): 395- 411.
62. Cristine Kennard (2017). The differences between cortical and subcortical dementia.
63. Cutter, G.R., Baier, M.I., Rudick, R.A, Cookfair, D.I., Fisher, J.S., Petkau, J., et al. 1999. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain: J. Neuro.* 122 (Pt 5), 871-882.
64. DaCosta KA, Niculescu MD, Craciunescu CN, Fischer LM, Zeisel SH. Choline deficiency increases lymphocyte apoptosis and DNA damage in humans. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84: 88-94.
65. Dager, S.R., Oskin, N.M., Richards, T.L., Posse, S. Research Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) to Investigate Psychiatric Disorders. *Top Magn Reson Imaging.* 2008 Apr; 19(2): 81-96.
66. Davie, C.A., Hawkins, C.P., Barker, G.J., Brennan, A., Tofts, P.S., Miller, D.H., McDonald, W.I. Serial proton magnetic resonance spectroscopy in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* (1994), 117, 49- 58.
67. Deffer, G., Branger, P. (2015) Dementia in Multiple Sclerosis. In Brochet B. (eds) *Neuropsychiatric Symptoms of Inflammatory Demyelinating Diseases. Neuropsychiatric Symptoms of Neurological Disease*, Springer Cham 257-69.
68. Deloire, M.S.A., Bonnet, M.C., Salort, E., Arimone, Y., Boudineau, M., Petry, K.G., et al., 2006. How to detect cognitive dysfunction at early stages of multiple sclerosis? *Mult. Scler.* 12 (4), 445-452.
69. De Stefano, N., Matthews, P.M., Filippi, M., Agosta, F., De Luca, M., Bartolozzi, M.I., et al. Evidence of early cortical atrophy in MS: relevance to white matter changes and disability. *Neurology*, 2003, 60, 1157-1162
70. D'Esposito, M., Onishi, K., Thompson, H., Robinson, K., Armstrong, C., Grossman, M. (1999). Working memory impairments in multiple sclerosis. Evidence from a dual-task paradigm. *Neuropsychology*, 10, 51-56.
71. Detopoulou P, Panagiotakos DB, Antonopoulou S, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary choline, and betaine intakes in relation to concentrations of

- inflammatory markers in healthy adults: the ATTICA study. *The Am J Clin Nutr.* 87: 424-30
72. Diana, R.A., Yonelinas, A.P., Ranganath, C. (2007). Imaging recollection and familiarity in the medial temporal lobe: a three-component model. *Trends in Cognitive Sciences.* 11 (9): 379-86.
 73. Diaz-Olavarrieta, C., Cummings, J.L., Velazquez, J., Garcig de la Cadena, C. Neuropsychiatric manifestations in multiple sclerosis. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci,* 1999 Winter, 11 (1): 51-7.
 74. Di Gennaro, G., Grammaldo, L.G., Quarato, P.P., Esposito, V., Mascia, A., Sparano, A., Meldolesi, G.N., Picardi, A. (2006). Severe amnesia following bilateral medial temporal lobe damage occurring on two distinct occasions. *Neurological Sciences.* 27 (2): 129-33.
 75. Dineen, R.A., Vilisaar, J., Hlinka, J., Bradshaw, C.M., Morgan, P.S., Constantinescu, C.S., Auer, D.P. Disconnection as a mechanism for cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Brain* 2009: 132; 239- 249.
 76. Driscoll, I., Hamilton, D.A., Petropoulos, H., Yeo, R.A., Brooks, W.M., Baumgartner, R.N., Sutherland, R.J. The Aging Hippocampus: Cognitive, Biochemical and Structural Findings. *Cerebral Cortex* December 2003; 13: 1344- 1351.
 77. Duvernoy, H.M. (2005) "Introduction". *The Human Hippocampus* (3rd ed.). Berlin: Springer-Verlag. P. 1.
 78. Dwyer, M.G., Zivadinov, R., Tao, Yazhong, Zhang, X., Kennedy, Ch., Bergsland, N., Ramasamy, D.P., Durfee, J., Hojnacki, D., Weinstock-Guttman, B., Hayward, B., Dangond, F., Markovic- Plese, S. Immunological and short-term brain volume changes in relapsing forms of multiple sclerosis treated with interferon beta-1a subcutaneously three times weekly: an open-label two-arm trial. *BMC Neurology* (2015) 15- 232.
 79. Eichenbaum, H., Cohen, N.J. (1993). *Memory, Amnesia, and the Hippocampal System.* MIT Press.
 80. Eichenbaum, H., Otto, T.A., Wible, C.G., Piper, J.M. (1991) "Building a model of the hippocampus in olfaction and memory". In Davis J.L. Eichenbaum, H. *Olfaction.* MIT Press.
 81. Eichebaum, H., Yonelinas, A.P., Ranganath, C. (2007) "The medial temporal lobe and recognition memory". *Annual Review of Neuroscience.* 30: 123-52.
 82. Eiji Shimizu, Kenji Hashimoto, Naoe Okamura, Kaori Koike, Naoya Komatsu, Chikara Kumakiri, Miciko Nakazato, Hiroyuki Watanabe, Maoyuki Shinoda, Sin-Ichi Okada, Masaomi Iyo. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or

- without antidepressants. *Biological Psychiatry*, Volume 54, Issue 1, 1 July 2003, 70-75
83. Eilam, R.; Bar-Lev, D.D.; Levin-Zaidman, S.; Tsoory, M.; LoPresti, P.; Sela, M.; Arnon, R.; Aharoni, R. "Oligodendrogenesis and myelinogenesis during postnatal development effect of glatiramer acetate". *Glia*. 62: 649–665. doi:10.1002/glia.22632.
 84. Evangelou N, Esiri MM, Smith S, Palace J, Matthews PM (2000) Quantitative pathological evidence for axonal loss in normal appearing white matter in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 47: 391–395.
 85. Evangelou N, Konz D, Esiri MM, Smith S, Palace J, et al. (2000) Regional axonal loss in the corpus callosum correlates with cerebral white matter lesion volume and distribution in multiple sclerosis. *Brain* 123 (Pt 9): 1845–1849.
 86. Even, C., Goeb, J.L., Taussig, D., Dardennes, R., Haguenu, M., Hakim-Kreis, C.M., Depression and multiple sclerosis. *Eur Psychiatry* 1997; 12: 425-6.
 87. Eylers, V.V., Maudsley, A.A., Bronzlik, P., Dellani, P.R., Lanfermann, H., Ding, X.-Q. Detection of Normal Aging Effects on Human Brain Metabolite Concentrations and Microstructure with Whole- Brain Spectroscopic Imaging and Quantitative MR Imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 37: 447-54.
 88. Fagone, P., Jackowski, S. Phosphatidylcholine and the CDP- Choline Cycle. *Biochim Biophys Acta*. 2013 March; 1831 (3): 523-532.
 89. Fanselow, M.S., Dong, H.W. (2010). Are the dorsal end ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*. 65 (1): 7- 19.
 90. Fatranska, M., Budai, D., Oprsalova, Z. and Kyetnansky, R., Acetylcholine, and its enzymes in some brain areas of the rat under stress. *Brain Res*. 1987 Oct 20; 424(1): 109-14
 91. Ferguson, B., Matyszak, M.K., Esiri, M.M., Perry, V.H Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1997; 120: 393-9.
 92. Fisher, E., Rudick, R.A., Cutter, G., Baier, M., Miller, D., Weinstock-Guttman, B, et al. Relationship between brain atrophy and disability: an 8-year follow-up study of multiple sclerosis patients. *Mult Scler* 2000b; 6: 373-7.
 93. Fischer, L.M., daCosta, K., Kwock, L., Stewart, P., Lu, T-S, Stabler, S., Allen, R., Zeisel, S. Sex, and menopausal status influence human dietary requirements for the nutrient choline. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85: 1275-85
 94. Fisher, R., Xie, Yuan-Yun. (4 October 2010) Growth Defects in the Dorsal Pallium after Genetically Targeted Ablation of Principal Preplate Neurons

- and Neuroblasts: A Morphometric Analysis. *ASN Neuro.* 2 (5): AN20100022
95. Filippi, M., Rocca, M.A., Benedict, R.H.B., De Luca, J., Geurts, J.J., Rombouts, S.A., et al. The contribution of MRI in assessing cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology*, 2010, 75 (23), 2121-2128.
 96. Flechsig, P. (1901-10-19) Developmental (myelogenetic) localization of the cerebral cortex in the human subject. *The Lancet*: 1028. doi:10.1016/s0140-6736(01)01429-5.
 97. Forn, C., Belloch, V., Bustamante, J.C., Garbin, G., Parcet-Ibars, M.A., Sanjuan, A., Ventura, N., Avila, C. A Symbol Digit Modalities Test version suitable for functional MRI studies. *Neuroscience letters* 456 (2009) 11-14.
 98. Frequin, S.T., Wevers, R.A., Braam M., Barkhof, F., Hommes, O.R. Decreased vitamin B12 and folate levels in cerebrospinal fluid and serum of multiple sclerosis patients after high-dose intravenous methylprednisolone. *J Neurol.* 1993; 240 (5):305–308.
 99. Friedrich, V.L., Hardy, R.J., (1996). Progressive Remodeling of the Oligodendrocyte Process Arbor during Myelinogenesis. 243-54.
 100. Frischer, J.M., Bramow, S., Dal-Bianco, A., et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain.* 2009; 132 (Pt 5): 1175-1189
 101. Fu, L., Mattheus, P.M., De Stefano, N., Worsley, K.J., Narayanan, S., Francis, G.S., Antel, J.P., Wolfson, C., Arnold, D.L. Imaging axonal damage of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Brain* (1998), 121, 103-113.
 102. Garcia- Segura, L.M. (2009). *Hormones and Brain Plasticity.* Oxford University Press US.
 103. Ge Y, Grossman RI, Babb JS, He J, Mannon LJ (2003) Dirty-appearing white matter in multiple sclerosis: volumetric MR imaging and magnetization transfer ratio histogram analysis. *AJNR Am J Neuroradiol* 24: 1935–1940.
 104. Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy. *J Neurol.* 2004; 251 (3):261–268.
 105. Giorgio, A., de Stefano, N. Clinical Use of Brain Volumetry. *J Magnetic Resonance Imaging* 2013; 37: 1-14.
 106. Giubilei F, Antonini G, Di Legge S, et al. Blood cholesterol and MRI activity in first clinical episode suggestive of multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 2002; 106 (2):109–112.
 107. Giovannoni, G. Multiple sclerosis related fatigue. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006 ; 77 (1) : 2-3.

108. Glenn T. Stebbins, Textbook of Clinical Neurology (Third Edition), 2007
109. Goeb, J.-L., Even, C., Nicolas, G., Gohier, B., Dubas, F., Garre, J.B. Psychiatric side effects of interferon- β in multiple sclerosis. Eur Psychiatry 2005; www.sciencedirect.com
110. Gorbach, T., Pudas, S., Lundquist, A., Oradd, G., Josefsson, M., Salami, A., deLuna, X., Nyberg, L. Longitudinal association between hippocampus atrophy and episodic-memory decline. Neurobiology of aging 51 (2016) 167- 176.
111. Goretti, B., Portaccio, E., zipoli, V., Hakiki, B., Siracusa, G., Sorbi, S., Amato, M.P. (2010). Impact of cognitive impairment on coping strategies in multiple sclerosis. Clinical Neurology and Neurosurgery, 112 (2), 127-130.
112. Gottschalk, M., Kumpfel, T., Flachenecker, P. et al. Fatigue and regulation of the hypothalamo-pituitary- adrenal axis in multiple sclerosis. Arch Neurol 2005; 62 (2): 277-80.
113. Grazioli, E., Yeh, A.E., Benedict, R.H.B., Parrish, J., Weinstock-Guttman, B. Cognitive Dysfunction in MS: Bringing the Gap Between Neurocognitive Deficits, Neuropsychological Batteries and MRI. Future Neurology, 2008; 3 (1): 49- 59.
114. Green R, Miller JW. Vitamin B12 deficiency is the dominant nutritional cause of hyperhomocysteinemia in a folic acid-fortified population. Clin Chem Lab Med. 2005; 43(10):1048–1051
115. Gur, R.C., Mozley, P.D., Resnick, S.M., Gottlieb, G.L., Kohn, M., Zimmerman, R, et al. Gender differences in age effect on brain atrophy measured by magnetic resonance imaging. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 2845- 9.
116. Gustafsson, M.C., Dahlqvist, O., Jaworski, J., Lundberg, P. and Landtblom, A.-M.E., Low Choline Concentrations in Normal- Appearing White Matter of patients with Multiple Sclerosis and Normal Imaging Brain Scans. AJNR August 2007 28: 1306- 1312
117. Hebner, E., Strittmatter, S. Axon Regeneration in the Peripheral and Central Nervous Systems. Results Probl Cell Differ. 2009; 48: 339- 351.
118. Hesselnik, J.R. Fundamentals of MR Spectroscopy. <http://spinwarp.ucsd.edu/neuroweb/Text/mrs-TXT.htm>.
119. Hessen, C., Nawrath, L., Reich, C., et al. Fatigue in multiple sclerosis: an example of cytokine mediated sickness behavior? J Neurol Neurosurg Psychiatry 2006; 77 (1): 34-9.

120. Himmelheber, AM; Sarter, M; Bruno, JP. Increases in cortical acetylcholine release during sustained attention performance in rats. *Brain research. Cognitive brain research.* (200). 9 (3): 313- 25
121. Huerta, P.T., Lisman, J.E. (1993). Heightened synaptic plasticity of hippocampal C1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature.* 364 (6439): 723-5.
122. IBM SPSS Statistics 23 Brief Guide, 2014
123. Joels, M. (2008). Functional actions of corticosteroids in the hippocampus. *European journal of Pharmacology.* 583 (2-3): 312- 321.
124. Jorm, A.F., Anstey, K.J., Christensen, H., Rodgers, B. (2004). Gender differences in cognitive abilities: The mediating role of health state and health habits. *Intelligence,* 32, 7-23.
125. Jougleux-Vie, C., Duhin, E., Deken, V., Outteryck, O., Vermersch, P., Zephir, H. Does Fatigue Complaint Reflect Memory Impairment in Multiple Sclerosis. *Mult Scler Int.* 2014; 2014: 692468.
126. Jung, M.W., Wiener, S.I., McNaughton, B.L. (1994). Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat. *The Journal of neuroscience.* 14 (12): 7347-7356.
127. Kantarci, K., Petersen, R.C., Boeve, B.F., Knopman, D.S., Tang-Wai, D.F., O'Brien, P.C., et al. ¹H MR Spectroscopy in Common Dementias. *Neurology,* 2004; 63(8): 1393- 1398.
128. Kawachi, I., Lassmann, H. Neurodegeneration in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2017; 88: 137-145
129. Kern, K.C., Gold, S.M., Lee, B., Montag, M., Horsfall, J., O'Connor, M-Fr., Sicotte, N.L. Thalamic- hippocampal- prefrontal disruption in relapsing- remitting multiple sclerosis. *NeuroImage: Clinical* 8 (2015) 440-447.
130. Kiely, K.M., Butterworth, P., Watson, N., Wooden, M. The Symbol Digit Modalities Test: Normative Data from a Large Nationally Representative Sample of Australians. *Arch Clin Neurops* 29.8 (2014): 767-775.
131. Kifle L, Ortiz D, Shea TB. Deprivation of folate and B12 increases neurodegeneration beyond that accompanying deprivation of either vitamin alone. *J Alzheimers Dis.* 2009;16 (3):533–540
132. Kirk I Erickson, Ruchika Shauray, Michelle W. Voss, Laura Chaddock, Susie Heo, Molly McLaren, Brandt D. Pence, Stephen A. Martin, Victoria J. Vieira, Jeffrey A Woods, Edward McAuley, and Arthur Kramer. Brain-derived neurotrophic factor is associated with age- related decline in hippocampal volume. *The Journal of Neuroscience,* 14 April 2010, 30(15): 5368- 5375

133. Koenig, K.A., Sakaie, K.E., Kowe, M.J., Lin, J., Stone, L., Bermel, R.A., Beall, E.B., Rao, S.M., Trapp, B.D., Phillips, M.D. Hippocampal volume is related to cognitive decline and fornical diffusion measures in multiple sclerosis. *Magn. Reson. Imaging*, 2014, 32, 4, 354-358
134. Kooi EJ, Pris M, Bajic N, Belien JAM, and al. Cholinergic imbalance in the multiple sclerosis hippocampus. *Acta Neuropathol.* 2011; 122: 313-322
135. Kresser, Cr. (2010). 5 Ways that Stress Causes Hypothyroid Symptoms. www.chrskresser.com
136. Krupp, L.B., Alvarez, L.A., LaRocca, N.G. Fatigue in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1998; 45 (4): 435-7.
137. Kurtzke, J.F., Rating neurology impairment in multiple sclerosis: an expanded disability scale (EDSS). *Neurology (Cleveland)* 1983; 33: 1444-1452.
138. Kutzelnigg, A., Lucchinetti, C. F., Stadelmann, C., Bruck, W., Rauschka, H., Bergmann, M., et al., 2005. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain: J. Neurol.* 128 (Pt 11), 2705-2712.
139. LaChapelle&Finlayson 1998. Rose, A. Fatigue Assessment
140. Langdon, D., Amato, M., Boringa, J., Brochet, B., Foley, F., Fredrikson, S., et al., 2011. Recommendations for a Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS). *Mult. Scler. J.*
141. Lassmann, H., van Horsen, J. The molecular basis of neurodegeneration in multiple sclerosis, *FEBS Lett.* 2011; 585 (23): 3715-37-23
142. Leary, S.M., Davie, C.A., Parker, G.J.M., Stevenson, V.L., Wang, L., Barker, G.J., Miller, D.H., Thompson, A.J. ¹H Magnetic resonance spectroscopy of normal appearing white matter in primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol* (1999) 246: 1023- 1026.
143. Lengenfelder, J., Bryant, D., Diamond, B.J., Kalmar, J.H., Moore, N.B., DeLuca, J. Processing speed interacts with working memory efficiency in multiple sclerosis. *Archives of Clinical neuropsychology* 21 (2006) 229- 238.
144. Levin, M.C., Douglas, J.N., Meyers, L., Lee, S., Shin, Y., Gardner, L.A. Neurodegeneration in multiple sclerosis involves multiple pathogenic mechanisms. *J Deg Neurol and Neuromusc Diseases*, vol 2014: 4, 49-63
145. Lepore, N., Shi, Y., Lepore, F., Fortin, M., Voss, P., Chou, Y.Y., Lord, C., Lassonde, M., Dinov, I.D., Toga, A.W., Thompson, P.M. (2009) Pattern of hippocampal shape and volume differences in blind subjects. *Neuroimage.* 46 (4): 949-57.

146. Lezak, M.D. (2004) *Neuropsychological Assessment* (4-th ed.). New York, USA: Oxford University Press.
147. Lopez-Gongora, M., Querol, L., Escartin, A. A one-year follow-up study of the Symbol Digit Modalities Test (SDMT) and the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) in relapsing-remitting multiple sclerosis: an appraisal of comparative longitudinal sensitivity. *BMC Neurology* (2015); 15: 40
148. Lotrich, F.E., El-Gabalawy, H., Guenther, L.C., Ware, C.F. (2011). The role of inflammation in the pathophysiology of depression: Different treatments and their effects. *Journal of Rheumatology. Supplement*, 88, 48-54.
149. MacDonald, S.W.S., Hultsch, D.F., Strauss, E., Dixon, R.A. (2003). Age-Related Slowing of Digit Symbol Substitution Revisited: What Do Longitudinal Age Changes Reflect? *Journals of Gerontology B Psychological Sciences*. 58(3), P187-194
150. Magistretti, P.J., Allaman, I. A Cellular Perspective on Brain Energy Metabolism and Functional Imaging. *Neuron* 86, May 20, 2015, Elsevier Inc; 883- 901.
151. Maguire, E.A., Gadian, D.G., Johnsrude, I.S., Good, C.D., Ashburner, J., Frackowiak, R.S., Frith, C.D., (2000). Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 97 (8): 4398- 403.
152. Marziali, L.N., Garcia, C.I., Pasquini, J.M. (2015). Transferrin and thyroid hormone converge in the control of myelinogenesis. *Experimental Neurology*. Vol 265. 129–141.
153. Mathiowetz, V. Test-retest reliability and convergent validity of the Fatigue Impact Scale for persons with multiple sclerosis. *Am J Occup Ther* 2003; 18 (2): 125-33.
154. McEwen B. Estrogen actions throughout the brain. *Recent Prog Horm Res*. 2002;57:357-84. doi: 10.1210/rp.57.1.357. PMID: 12017552.
155. Meck WH, Williams CL. Metabolic imprinting of choline by its availability during gestation: implications for memory and attentional processing across the lifespan. *Neurosci biobehav rev*. 2003; 27: 385-99.
156. Mehta, AK., Singh, BP., Arora, N. and Gaur, SN. Choline attenuates immune inflammation and suppresses oxidative stress in patients with asthma. *Immunobiology*. 2010 Jul; 215(7): 527-34
157. Meksa, L., Karelis, G., Vainsteine, L. Svilpe, S., Gulbe, G., Gudreniece, A., Kalnina, J. Brief cognitive monitoring in multiple sclerosis patients in Latvia. *Proc Latvian Acad Sci, Section B*, Vol. 69 (2015), No. % (698), pp 228-231.

158. Messinis, L., Kosmodis, M.H., Lyros, E., Papathanasopoulos, P. (2010). Assessment and rehabilitation of cognitive impairment in multiple sclerosis. *International review of psychiatry*, 22(1), 22-34.
159. Miller A, Korem M, Almog R, Galboiz Y. Vitamin B12, demyelination, remyelination and repair in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2005; 233 (1-2):93-97.
160. Miller, D.H., Barkhof, F., Frank, J.A., Parker, G.J., Thompson, A.J. (2002). Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects, and clinical relevance. *Brain*, 125, 1676- 1695.
161. Miller, J.C., *Magnetic Resonance Spectroscopy in the Brain*. Radiology Rounds, 2012 Jul- Vol. 10, Issue 7
162. Mills, R.J., Young, C.A. A medical definition of fatigue in multiple sclerosis. *QJM* 2008; 101 (1): 49-60.
163. Minati, L., Aquino, D., Bruzzone, M.G., Erbetta, A. Quantitation of normal metabolite concentrations in six brain regions by in vivo ¹H- MR spectroscopy. *J Med Phys* 2010; 35: 154- 63.
164. Moller JR, Johnson D, Brady RO, Tourtellotte WW, Quarles RH. Antibodies to myelin-associated glycoprotein (MAG) in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol*. 1989; 22 (1):55-61.
165. Molko, N., Cohen, L., Mangin, J.F., Lehericy, S., LeBihan, Dehaene, S. (2002-05-15). "Visualizing the neural bases of a disconnection syndrome with diffusion tensor imaging". *J Cogn Neurosc*. 14 (4): 629-636.
166. Molyneux, P.D., Kappos, L., Polman, C., Pozzilli, C., Barkhof, F., Filippi, M. et al. The effect of interferon beta-1 b treatment on MRI measures of cerebral atrophy in secondary progressive multiple sclerosis. *Brain* 2000; 123: 2256- 63.
167. Moon J, Chen M, Gandhi SU, et al. Perinatal choline supplementation improves cognitive functioning and emotion regulation in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Behav Neurosci*. 2010; 124: 346-61
168. Moore GR, Laule C, Mackay A, Leung E, Li DK, et al. (2008) Dirty-appearing white matter in multiple sclerosis: preliminary observations of myelin phospholipid and axonal loss. *J Neurol* 255: 1802-1811, discussion 1812
169. Morris, M.E., Cantwell, C., Vowels, L. et al. Changes in gate and fatigue from morning to afternoon in people with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 72 (3): 361-5.
170. Morris, R.G., Garrud, P., Rawlins, J.N., O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with a hippocampal lesion. *Nature*. 297 (5868): 681-83.

171. Moser, E.I., Kropff, E., Moser, M.B. (2008). Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annual Review of Neuroscience*. 31: 69- 89.
172. Neurberger, G.B. Measures of Fatigue. The Fatigue Questionnaire, Fatigue Severity Scale, Multidimensional Assessment of Fatigue Scale and Short Form- 36 Vitality (Energy/ Fatigue) Subscale of the Short Form Health Survey. *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)*, Vol. 49, No. 55, October 15, 2003, pp S175-S183.
173. Niculescu MD, daCosta KA, Fischer LM, Zeisel SH. Lymphocyte gene expression in subjects fed a low-choline diet differs between those who develop organ dysfunction and those who do not. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86: 230-9.
174. Nygaard, G.O., de Rodez Benavent, A., harbor, H.F., Laeng, B., Sowa, P., Damangir, S., Nilsen, K.B., Etholm, L., Tonnesen, S., Kerty, E., Drolsum, L., Landro, N.I., Celius, E. Eye and hand motor interactions with the Symbol Digit Modalities Test in early multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related disorders* 4 (2015) 585- 589.
175. Nygaard, G.O., Walhovd, K.B., Sowa, P., Chepkoech, J.L., Bjornerud, A., Due Tonnessen, P., et al., 2014, Cortical thickness and surface area relate to specific symptoms in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult. Scler. J*.
176. O'Keefe, J., Nadel, L. (1978). *The Hippocampus as a cognitive map*. Oxford University Press.
177. Ortiz, J.B., McLaughlin, K.J., Hamilton, G.F., Baran, S.E., Campbell, A.N., Conrad, C.D. (2013). Cholesterol and perhaps estradiol protect against corticosterone- induced hippocampal CA3 dendritic retraction in gonadectomized female and male rats. *Neuroscience*. 246: 409- 21.
178. O'Shea, A., Cohen, R.A., Porges, E.C., Nissim, N.R., Woods, A.J. (2016) Cognitive Aging and the Hippocampus in Older Adults. *Front Aging Neurosci*. 8: 298.
179. Pagani, E., Rocca, M.A., Gallo, A., Rovaris, M., Martinelli, V., Comi, G., Filippi, M. Regional Brain Atrophy Evolves Differently in Patients with Multiple Sclerosis According to Clinical Phenotype. *AJNR*, 2005, February 26: 341- 346.
180. Parmenter, B.A., Weinstock- Guttman, B., Garg, N., Munschauer, F., benedict, R.H.B. Screening for cognitive impairment in multiple sclerosis using the Symbol Digit Modalities Test. *Mult. Scler*. 2007; 13; 52-7.
181. Patti, F., Amato, M.P., Trojano, M., Bastianello, S., Tola, M.R., Goretti, B., et al., Cognitive impairment and its relation with disease measures in mildly disabled patients with relapsing-remitting multiple

- sclerosis: baseline results from the Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis (COGIMUS) study. *Mult. Scler.* 2009, 15; 779-88.
182. Paus, T., Zijdenbos, A., Worsley, K., Collins, D. L., Blumenthal, J., Giedd, J. N., ... & Evans, A. C. (1999). Structural maturation of neural pathways in children and adolescents: in vivo study. *Science*, 283(5409), 1908-1911.
 183. Politis, MJ, N. Sternberger, Kathy Ederle, and Peter S. Spencer. "Studies on the Control of Myelinogenesis." *The Journal of Neuroscience* 2.9 (1982): 1252-266.
 184. Polman, C.H., Reingold, S.C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J.A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, M., Kappos, L., et al., Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology*, 2011, 69, 2, 292-302.
 185. Poon, K.W.C., Brideau, C., Klaver, R., Schenk, G.J., Geurts, J.J., Stys, P.K. Lipid biochemical changes in normal appearing white matter of chronic multiple sclerosis by spectral coherent Raman imaging. *Chem. Sci.*, 2018, 9, 1586
 186. Quan, N., Banks, W.A. Brain- immune communication pathways. *Brain, Behavior, and Immunity* 21 (2007) 727- 735.
 187. Rahimian, N., Rad, H.S., Firouznia, K., Ebrahimzadeh, S.A., Meysamie, A., Vafaiean, H., Harirchian, M.H. Magnetic resonance spectroscopic findings of chronic lesions in two subtypes of multiple sclerosis: primary progressive versus relapsing remitting. *Iranian Journal of Radiology*. 2013 September; 10 (3): 128- 32.
 188. Rahn, K., Slusher, B., Kaplin, A. Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis: A Forgotten Disability Remembered. *Cerebrum*, 2012 Nov 2012:14.
 189. Rao, S.M., Leo, G.J., Bernardin, I., Unverzagt, F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis I. Frequency, pattern, and prediction. *Neurology*. 1991; 41; 685-91.
 190. Rao, S.M., Martin, A.L., Huelin, R., Wissinger, E., Khanckhel, Z., Kim, E., Fahrbach, K. Correlations between MRI and Information Processing Speed in MS: A Meta- Analysis. *Mult Scler Int*, Vol. 2014, Article ID 975803.
 191. Resseguie m, Song J, Niculescu MD, daCosta KA, Randall TA, Zeisel SH. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) gene expression is induced by estrogen in human and mouse primary hepatocytes. *FASEB J.* 2007; 21: 2622- 32.
 192. Reynolds EH. Multiple sclerosis and vitamin B12 metabolism. *J Neuroimmunol.* 1992;40(2-3):225-230

193. Rolls, E.T., Xiang, J.Z. (2006) Spatial view cells in the primate hippocampus and memory recall. *Reviews in the neuroscience*. 17 (1-2): 175-200.
194. Roxo, M.R., Franceschini, P.R., Zubaran, C., Kleber, F.D., Sander, J.W. (2011). The limbic system conception and its hystorical evolution. *The Scientific World Journal*. 11: 2428-41.
195. Ruigrok AN, Salimi-Khorshidi G, Lai MC, Baron-Cohen S, Lombardo MV, Tait RJ, Suckling J. A meta-analysis of sex differences in human brain structure. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014 Feb;39(100):34-50. doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.12.004.
196. Sacco, R., Bisecco, A., Della Corte, C., d'Ambrosio, A., Docimo, R., Gallo, A., Esposito, F., Cirillo, M., Lavorgna, L., Tedeschi, G., Bonavita, S. Cognitive impairment and memory disorders in relapsing-remitting multiple sclerosis: the role of white matter, grey matter, and hippocampus. *J Neurol*, 2015, 262,7, 1691- 1697
197. Sahin S, Aksungar FB, Topkaya AE, et al. Increased plasma homocysteine levels in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2007; 13 (7):945–946
198. Sailer, M., Fischi, B., Salat, D., Tempelmann, C., Schonfeld, M.A., Busa, E., et al., 2003. Focal thinning of the cerebral cortex in multiple sclerosis. *Brain: J. Neurol*. 126 (Pt 8), 1734-1744.
199. Salthouse, T.A. (1996). The processing-speed theory of adult age differences in cognition. *Psychological Review*, 103(3), 403-428.
200. Sanchez, M.P., Nieto, A., Barroso, J., Martin, V., Hernandez, M.A. Brain atrophy as a marker of cognitive impairment in mildly disabling relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol.*, 2008, 15, 10, 1091-1099
201. Sanfilipo, M.P., Benedict, R.H., Weinstock-Guttman, B., Bakshi, R. Gray and white matter brain atrophy and neuropsychological impairment in multiple sclerosis, *Neurology*, 2006, 66, 5, 685-692
202. Savettieri, G., messina, D., Andreoli, V., Bonavita, S., Caltagirone, C., Cittadella, R....Quattarone, A. (2004). Gender-related effect of clinical and genetic variables on the cognitive impairment in multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, 251 (10), 1208- 1214.
203. Schnekenburger Epigenetic cancer therapy 2015
204. Seewann A, Vrenken H, van der Valk P, Blezer EL, Knol DL, et al. (2009) Diffusely abnormal white matter in chronic multiple sclerosis: imaging and histopathologic analysis. *Arch Neurol* 66: 601–609
205. Sepulcre, J., Masdeu, J.C., Goni, J., Arrondo, G., Velez de Mendizabal, N., Bejarano, B., et al., 2009. Fatigue in multiple sclerosis is

- associated with the disruption of frontal and parietal pathways. *Mult. Scler.* 15 (3), 337-344.
206. Siegert, R.J., Abernethy, D. Depression in multiple sclerosis: a review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2005 Apr; 76(4): 469–475
 207. Signore C, Ueland PM, Troendle J, Mills JL. Choline concentrations in human maternal and cord blood and intelligence at 5 y of age. *The Am J Clin Nutr.* 2008; 87: 896-902
 208. Sijens, P.E., Heijer, T., Origgi, D., Vermeer, S.E., Breteler, M.M.B., Hofman, A., Oudkerk, M. Brain Changes with Aging: MR Spectroscopy at Supraventricular Plane Shows Differences between Women and Men. *Radiology* 2003; 226: 889- 896.
 209. Shah, A. Fatigue in Multiple Sclerosis. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2009, 20 (2): 363-372.
 210. Sharma P, Senthilkumar RD, Brahmachari V, et al. Mining literature for a comprehensive pathway analysis: a case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids Health Dis.* 2006; 5:1.
 211. Shaw GM, Carmichael SL, Yang W, Selvin S, Schaffer DM. Periconceptional dietary intake of choline and betaine and neural tube defects in offspring. *Am J Epidemiol.* 2004; 160: 102-9.
 212. Shaw GM, Finnell RH, Blom HJ, et al. Choline and risk of neural tube defects in a folate-fortified population. *Epidemiology.* 2009; 20:714-9.
 213. Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93:3908–3913.
 214. Sheridan, L.K., Fitzgerald, H.E., Adams, K.M., Nigg, J.T., Martel, M.M., Puttler, L.I., Wong, M.M., Zucker, R.A. Normative Symbol Digit Modalities Test performance in a community- based sample. *Arch Clin Neurops* 21 (2006) 23- 28.
 215. Sliwinski, M., Buschke, H. (1999). Cross-sectional and longitudinal relationships among age, cognition, and processing speed. *Psychology and Aging*, 14(1), 18-33.
 216. Starkman, M.N., Giordani, B., Gebarski, S.S., berent, S., Schork, M.A., Schteingart, D.E. (1999). Decrease in cortisol reverses human hippocampal atrophy following treatment of Cushing’s disease. *Biological Psychiatry.* 46 (12): 1595- 602.
 217. Squire, L.R., Schacter, D.L. (2002). *The Neuropsychology of Memory.* Guilford Press.

218. Sun JB, Olsson T, Wang WZ, et al. Autoreactive T and B cells responding to myelin proteolipid protein in multiple sclerosis and controls. *Eur J Immunol*. 1991; 21(6):1461–1468
219. Sun, Jubao BS; Song, Hao MS; Yang, Yong PhD; Zhang, Kun PhD; Gao, Xiuju BS; Li, XiaoPan BS; Ni, Li BS; Lin, Pan PhD; Niu, Chen MD. Metabolic changes in normal appearing white matter in multiple sclerosis patients using magnetic resonance spectroscopy imaging. *Medicine*: April 2017, 96 (14): pe6534
220. Tartaglia, M.C., Narayanan, S., De Stefano, N., Arnaoutelis, R., Antel, S.B., Francis, S.J., Santos, A.C., Lapierre, Y., Arnold, D.L. Choline is increased in pre-lesional normal appearing white matter in multiple sclerosis. *J Neurol* (2002) 249: 1382- 1390.
221. Teixeira AL, Barbosa, IG., Diniz, BS., Kummer, A. Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor: correlation with mood, cognition, and motor function. *Biomark Med*. 2010 Dec; 4(6): 871-87
222. Teunissen CE, Killestein J, Kragt JJ, Polman CH, Dijkstra CD, Blom HJ. Serum homocysteine levels in relation to clinical progression in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 79 (12):1349–1353.
223. Tennekoon, GI., Cohen, SR., Price, DL., McKhann, GM. (1977). Myelinogenesis in optic nerve. A morphological, autoradiographic, and biochemical analysis. *Journal of Cell Biology*, 72(3), 604-616.
224. Toni, N., et al, Learning, memory, and long-term potentiation. *Nature*, 25 Nov 99.
225. Trapp, B.D., Nave, K.A. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annu Rev Neurosci*. 2008; 32: 247-269
226. Triantafyllou N, Evangelopoulos ME, Kimiskidis VK, et al. Increased plasma homocysteine levels in patients with multiple sclerosis and depression. *Ann Gen Psychiatry*. 2008; 7:17.
227. Tubridy N, Ader HJ, Barkhof F, Thompson AJ, Miller DH. Exploratory treatment trials in multiple sclerosis using MRI: sample size calculations for relapsing–remitting and secondary progressive subgroups using placebo controlled parallel groups. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 50–5
228. Ueland PM. Choline and betaine in health and disease. *J Inherited Metabolic Disease*. 2010; 34: 3-15
229. Ukkonen M, Wu K, Reipert B, Dastidar P, Elovaara I. Cell surface adhesion molecules and cytokine profiles in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2007; 13 (6):701–707.

230. Vanderwolf, C.H. (2001). The hippocampus as an olfacto- motor mechanism: were the classical anatomists right after all? *Behavioural Brain Research*. 127 (1- 2): 25-47.
231. VanElzaker, M., Fevurly, R.D., Breindel, T., Spencer, R.L. (2008). Enviromental novelty is associated with a selective increase in Fos expression in the output elements of the hippocampal formation and the perirhinal cortex. *Learning and memory*. 15 (12): 899- 908.
232. Van Schependom, J., D’Hooghe, M.B., Cleynhens, K., D’Hooghe, M., Haelewyck, M.C., De Keyser, J., et al., 2014. The Symbol Digit Modalities Test as sentinel test for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Eur. J. Neuro*. 21 (9), 1219-1225
233. Varga T, Czimmerer Z, Nagy L. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1812 (8):1007–1022
234. Vrenken, H., Geurts, J.J.G., Knol, D.L., Polman, C.H., Castelijns, J.A., Pouwels, P.J.W., Barkhof, F. Normal-Appearing White Matter Changes Vary with Distance to Lesions in Multiple Sclerosis. *AJNR* 27: 2005-11.
235. Vrenken H, Seewann A, Knol DL, Polman CH, Barkhof F, et al. (2010) Diffusely abnormal white matter in progressive multiple sclerosis: in vivo quantitative MR imaging characterization and comparison between disease types. *AJNR Am J Neuroradiol* 31: 541–548
236. Wahba ZZ, Soliman KF., Effect of stress on choline acetyltransferase activity of the brain and the adrenal of the rat. *Experientia*, 1992 Mar 15; 48(3): 265-8
237. Wallin, M.T., Wilken, J.A., Kane, R. (2006). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: Assessment, imaging, and risk factors. *Journal of rehabilitation research and Development*, 43(1), 63-72.
238. Watkins, T., Mulinyawe, S., Emery, B., Barres, B. (2008). Distinct Stages of Myelination Regulated by Y-Secretase and Astrocytes in a Rapidly Myelinating CNS Coculture System. 555-569
239. Wechsler, R.T., Morss, A.M., Wustoff, C.J., Caughey, A.B. (20014) *Blueprints notes and cases*. Oxford. Blackwell Publishing. P. 37.
240. Weinberg, E., & Spencer, P. (1979). Studies on the control of myelinogenesis. 3. Signaling of oligodendrocyte myelination by regenerating peripheral axons. *Brain Research*, 162(2), 273-279. doi:10.1016/0006-8993(79)90289-0
241. Weinstock-Guttman B, Zivadinov R, Horakova D, et al. Lipid profiles are associated with lesion formation over 24 months in interferon-β treated

- patients following the first demyelinating event. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013; 84 (11):1186–1191.
242. Weinstock-Guttman B, Zivadinov R, Mahfooz N, et al. Serum lipid profiles are associated with disability and MRI outcomes in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2011; 8: 127.
243. West, J., Aalto, A., Tisell, A., Leinhard, O.D., Landtblom, A.M., et al. (2014) Normal Appearing and Diffusely Abnormal White Matter in Patients with Multiple Sclerosis Assessed with Quantitative MR. *Plos ONE* 9(4): e95161
244. Winson, J. Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat. *Science*. 201 (4351): 160-63
245. Woolf NJ, Butcher LL. Cholinergic system in the rat brain: III Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain. *Brain Research Bulletin* 1986; 16: 603-37
246. Woolf NJ, Butcher LL. Cholinergic system in the rat brain: IV. Descending projections of the Ponto mesencephalic tegmentum. *Brain Research Bulletin*. 1989; 23: 519-40
247. Xin, M. (2005). Myelinogenesis and Axonal Recognition by Oligodendrocytes in Brain Are Uncoupled in Olig1-Null Mice. *Journal of Neuroscience*, 25(6), 1354-1365. doi:10.1523/jneurosci.3034-04.2005
248. Zeisel SH. Choline: critical role during fetal development and dietary requirements in adults. *Ann Rev Nutr*. 2006; 26:229-50.
249. Zeisel, St. and Caudill, M., Choline. American Society for Nutrition. *Adv. Nutr.* 1: 46-48,
250. Zhu Y, He ZY, Liu HN. Meta-analysis of the relationship between homocysteine, vitamin B12, folate, and multiple sclerosis. *J Clin Neurosci*. 2011; 18 (7):933–938
251. Ziehn, M.O., Avedisian, A.A., Tiwari- Woodruff, S., Voskuhl, R.R. (2010). Hippocampal CA1 atrophy and synaptic loss during experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE. *Laboratory Investigation*, 90 (5), 774-786.
252. Ziemssen, T. Multiple sclerosis beyond EDSS: depression and fatigue. *Journal of the Neurological Sciences* 277, S1 (2009) S37- S41.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Таблица 1. Резултати от проверката за нормално разпределение на хипокамп. Резултатите показват, че разпределението е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

		Обем хипоамп
Брой		78
Нормално разп.	Средна	6.65783
Параметри ^{a,b}	Стандартно откл.	1.573638
Най-екстремни разлики	Абсолютна ст-ст.	.089
	Позитивна	.089
	Негативна	-.055
Теоретична стойност		.089
Равнище на значимост		.200 ^{c,d}

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Таблица 2. Резултати от проверка на разлика между здрави и болни пациенти при хипокампа им (параметричен t-тест за две независими извадки).

		Тест за равенство на дисперсиите		t-test за равенство на средните		
		Теоретична F х-ка	Равнище на значимост	Теоретична t х-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
Хипокамп	Равни дисперсии	2.398	.126	2.555	76	.013
	Неравни дисперсии			2.365	44.606	.022

Таблица 3. Резултати от проверка на разлика между здрави и болни мъже пациенти при хипокампа им (параметричен t-тест за две независими извадки).

	Тест за равенство на дисперсиите		t-test за равенство на средните		
	Теоретич на F x-ка	Равнище на значимост	Теоретична t x-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
хипокампа Равни дисперсии	.607	.441	1.755	33	.088
cm3 Неравни дисперсии			1.695	24.621	.103

Таблица 4. Резултати от проверка на разлика между здрави и болни жени пациенти при хипокампа им (параметричен t-тест за две независими извадки).

	Тест за равенство на дисперсиите		t-test за равенство на средните		
	Теоретич на F x-ка	Равнище на значимост	Теоретич на t x-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
хипокампа Равни дисперсии	3.731	.060	2.252	41	.030
cm3 Неравни дисперсии			1.994	20.773	.059

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Таблица 5. Резултати от проверката за нормално разпределение на хипокампа при МС пациенти с продължителност на заболяването между 1 и 5 години. Резултатите показват, че разпределението е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	Обем хипокамп cm ³
Брой	55
Средна	6.973
Стандартно отклонение	1.502
Теоретична характеристика	.108
Равнище на значимост	.158 ^c

Таблица 6. Резултати от проверката за нормално разпределение на хипокампа при МС пациенти с продължителност на заболяването над 5 години. Резултатите показват, че разпределението е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	Обем Хипокамп cm ³
Брой	49
Средна	6.610
Стандартно отклонение	1.737
Теоретична характеристика	.106
Равнище на значимост	.200 ^{c,d}

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 7. Резултати от проверката за нормално разпределение на хипокампа при МС пациенти с продължителност на заболяването над 1 година. Резултатите показват, че разпределението е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	Обем хипокамп cm ³
Брой	48
Средна	6.285
Стандартно отклонение	1.257
Теоретична характеристика	.087
Равнище на значимост	.200 ^{c,d}

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Таблица 8. Резултати от проверка на разлика между здрави и МС пациенти с продължителност на заболяването между 1 и 5 години при хипокамп им (параметричен t-тест за две независими извадки).

		Тест за равенство на дисперсиите		t-test за равенство на средните		
		Теоретична F x-ка	Равнище на значимост	Теоретична t x-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
Хипокамп	Равни дисперсии	5.428	.024	1.382	53	.173
	Неравни дисперсии			1.393	45.257	.170

Таблица 9. Резултати от проверка на разлика между здрави и МС пациенти с продължителност на заболяването между 1 и 5 години при хипокампа им (параметричен t-тест за две независими извадки).

		Тест за равенство на дисперсиите		t-test за равенство на средните		
		Теоретична F х-ка	Равнище на значимост	Теоретична t х-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
Хипокамп	Равни дисперсии	1.810	.185	3.234	47	.002
	Неравни дисперсии			3.391	46.918	.001

Таблица 10. Резултати от проверка на разлика между МС пациенти с продължителност на заболяването между 1 и 5 години и МС пациенти с продължителност на заболяването над 5 години при хипокампа им (параметричен t-тест за две независими извадки).

		Тест за равенство на дисперсиите		t-test за равенство на средните		
		Теоретична F х-ка	Равнище на значимост	Теоретична t х-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
Hippocampus	Равни дисперсии	1.038	.314	2.699	46	.010
	Неравни дисперсии			2.650	39.716	.012

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

Таблица 11. Резултати от проверката за нормално разпределение на изследваните тестове. Резултатите показват, че при всички тестове разпределението не е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

		PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	Beck Test
Брой		78	78	78	78	78
Нормално разп.	Средна	48.45	42.03	25.90	10.46	5.64
Параметри ^{a,b}	Стандартно откл.	11.230	11.427	14.203	11.225	6.404
Най-екстремни разлики	Абсолютна ст.	.199	.131	.117	.224	.189
	Позитивна	.152	.079	.108	.224	.173
	Негативна	-.199	-.131	-.117	-.176	-.189
Теоретична стойност		.199	.131	.117	.224	.189
Равнище на значимост		.000 ^c	.002 ^c	.010 ^c	.000 ^c	.000 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

ПРИЛОЖЕНИЕ 6

Таблица 12. Резултати от проверка на разлика между здрави и болни пациенти при изследваните тестове (непараметричен тест на Mann-Whitney за две независими извадки).

	PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	Beck
Тест на Mann-Whitney	578.000	482.500	663.000	528.500	580.500
Тест на Wilcoxon	1853.000	1757.500	1069.000	934.500	986.500
Z коефициент	-1.273	-2.268	-.386	-1.793	-1.255
Равнище на значимост	.203	.023	.700	.073	.210

ПРИЛОЖЕНИЕ 7

Таблица 13. Резултати от проверката за нормално разпределение на изследваните метаболити. Резултатите показват, че при всички метаболити разпределението не е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

		Ch	Cr	NAA
Брой		78	78	78
Нормално разп. Параметри ^{a,b}	Средна	82995.46	66935.82	158137.92
	Стандартно откл.	18857.155	16813.524	26835.505
Най-екстремни разлики	Абсолютна ст-ст.	.110	.104	.104
	Позитивна	.110	.104	.075
	Негативна	-.085	-.053	-.104
Теоретична стойност		.110	.104	.104
Равнище на значимост		.022 ^c	.036 ^c	.037 ^c

ПРИЛОЖЕНИЕ 8

Таблица 14. Резултати от проверка на разлика между здрави и болни пациенти при изследваните метаболити (непараметричен тест на Mann-Whitney за две независими извадки).

	Ch	Cr	NAA
Mann-Whitney U	551.500	484.500	562.000
Wilcoxon W	957.500	890.500	968.000
Z	-1.547	-2.245	-1.437
Asymp. Sig. (2-tailed)	.122	.025	.151

a. Grouping Variable: Статус

ПРИЛОЖЕНИЕ 9

Таблица 15. Резултати от проверката за нормално разпределение на изследваните съотношения на метаболитите. Резултатите показват, че при NAA/Cr разпределението не е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	Ch/Cr	Ch/NAA	NAA/Ch	NAA/Cr	Cr/NAA
Брой	78	78	78	78	78
Средна	1.299	.533	1.996	2.445	.424
Стандартно отклонение	.403	.138	.541	.466	.082
Теоретична характеристика	.163	.109	.118	.070	.118
Равнище на значимост	.000 ^c	.024 ^c	.009 ^c	.200 ^{c,d}	.009 ^c

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 10

Таблица 16. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави пациенти при изследваното отношение (параметричен t-тест за две независими извадки).

	Тест за равенство на дисперсиите		t-test за равенство на средните		
	Теоретична F х-ка	Равнище на значимост	Теоретична t х-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
NAA/Cr Равни дисперсии	.401	.529	2.144	76	.035
Неравни дисперсии			2.139	55.580	.037

Таблица 17. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави пациенти при изследваното отношение (непараметричен тест на Mann-Whitney за две независими извадки).

	Ch/Cr	Ch/NAA	NAA/Ch	Cr/NAA
Тест на Mann-Whitney U	645.000	639.000	639.000	504.000
Равнище на значимост	.567	.525	.525	.041

а. Групираща променлива: Статус на пациента

ПРИЛОЖЕНИЕ 11

Таблица 18. Резултати от проверката за нормално разпределение на изследваните съотношения на метаболити при здрави и болни мъже пациенти. Резултатите показват, че само при Ch/Cr разпределението е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	Ch/Cr	Ch/NAA	NAA/Ch	NAA/Cr	Cr/NAA
Брой	35	35	35	35	35
Средна	1.280	.537	1.963	2.384	.435
Стандартно отклонение	.409	.134	.435	.472	.084
Теоретична характеристика	.218	.122	.075	.087	.105
Равнище на значимост	.000 ^c	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 12

Таблица 19. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави мъже пациенти при изследваните метаболитни отношения (параметричен t-тест за две независими извадки).

	Тест за равенство на дисперсиите	t-test за равенство на средните				
		Теоретична F х-ка	Равнище на значимост	Теоретична t х-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
Ch/NAA	Равни дисперсии	.185	.670	-.788	33	.436
	Неравни дисперсии			-.827	31.962	.414
NAA/Ch	Равни дисперсии	.003	.954	.759	33	.453
	Неравни дисперсии			.758	27.977	.455
NAA/Cr	Равни дисперсии	.645	.428	.635	33	.530
	Неравни дисперсии			.629	27.061	.535
Cr/NAA	Равни дисперсии	1.794	.190	-.674	33	.505
	Неравни дисперсии			-.680	28.757	.502

Таблица 20. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави мъже пациенти при изследваното метаболитно отношение (непараметричен тест на *Mann-Whitney* за две независими извадки).

	Ch/Cr
Тест на <i>Mann-Whitney U</i>	130.000
Равнище на значимост	.567

ПРИЛОЖЕНИЕ 13

Таблица 21. Резултати от проверката за нормално разпределение на изследваните съотношения на метаболити при здрави и болни жени пациенти. Резултатите показват, че при *Ch/Cr* и *NAA/Cr* разпределението е нормално (с тест на *Колмогоров-Смирнов*).

	Ch/Cr	Ch/NAA	NAA/Ch	NAA/Cr	Cr/NAA
Брой	43	43	43	43	43
Средна	1.314	.530	2.023	2.494	.415
Стандартно отклонение	.403	.143	.618	.460	.081
Теоретична характеристика	.127	.136	.151	.096	.151
Равнище на значимост	.081 ^c	.043 ^c	.015 ^c	.200 ^{c,d}	.015 ^c

c. Корекция на *Lilliefors*.

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 14

Таблица 22. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави жени пациенти при изследваните метаболитни отношения (параметричен *t*-тест за две независими извадки).

	Тест за равенство на дисперсиите	t-test за равенство на средните				
		Теоретична F х-ка	Равнище на значимост	Теоретична t х-ка	Степени на свобода	Равнище на значимост
Ch/Cr	Равни дисперсии	.119	.732	.971	41	.337
	Неравни дисперсии			1.068	33.007	.293
NAA/Cr	Равни дисперсии	1.627	.209	2.572	41	.014
	Неравни дисперсии			2.716	29.718	.011

Таблица 23. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави жени пациенти при изследваните метаболитни отношения (непараметричен тест на Mann-Whitney за две независими извадки).

	Ch/NAA	NAA/Ch	Cr/NAA
Тест на Mann-Whitney U	199.000	199.000	94.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.917	.917	.005

а. Групираща променлива: Статус на пациента

ПРИЛОЖЕНИЕ 15

Таблица 24. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави мъже пациенти при изследваните тестове (непараметричен тест на Mann-Whitney за две независими извадки).

	PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	Beck
Тест на Mann-Whitney U	133.500	79.500	137.000	119.000	125.500
Равнище на значимост	.648	.023	.735	.342	.458

ПРИЛОЖЕНИЕ 16

Таблица 25. Резултати от проверка на разлика между болни и здрави жени пациенти при изследваните тестове (непараметричен тест на Mann-Whitney за две независими извадки).

	PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	Beck
Тест на Mann-Whitney U	158.500	142.500	178.000	147.000	168.500
Равнище на значимост	.248	.116	.517	.145	.370

а. Групираща променлива: Статус на пациента

ПРИЛОЖЕНИЕ 17

Таблица 26. Резултати от проверката за нормално разпределение на EDSS в различните групи. Резултатите показват, че разпределението при нито една група не е нормално (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	EDSS=1	EDSS=1.5	EDSS=2	EDSS=2.5	EDSS=3.5
Брой	16	10	11	11	
Средна	2.250	2.300	2.455	2.455	
Стандартно отклонение	.577	.483	.688	.522	
Теоретична характеристика	.355	.433	.332	.353	
Равнище на значимост	.000 ^c	.000 ^c	.001 ^c	.000 ^c	

с. Корекция на Lilliefors.

ПРИЛОЖЕНИЕ 18

Таблица 27. Резултати от проверка на разлика между FSS, PASAT – 3s, SDMT, Godlberg и Beck при различна продължителност на заболяването (непараметричен тест на Kruskal-Wallis за повече от две независими извадки).

	PASAT	SDMT	FSS	Goldberg	Beck
Хи-квадрат	1.452	3.203	.802	4.388	.463
Равнище на значимост	.484	.202	.670	.111	.793

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Продължителност на заболяването

ПРИЛОЖЕНИЕ 19

Таблица 28. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при EDSS=1 (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	16	16	16	16	16
Средна	21.560	53.500	45.060	7.000	3.560
Стандартно отклонение	14.227	6.229	11.168	8.000	5.416
Теоретична характеристика	.189	.158	.142	.300	.255
Равнище на значимост	.131 ^c	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}	.000 ^c	.006 ^c

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 29. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при EDSS=1,5 (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	10	10	10	10	10
Средна	25.70	46.200	41.000	14.600	9.600
Стандартно отклонение	15.993	14.289	9.510	12.313	7.427
Теоретична характеристика	.148	.278	.200	.131	.186
Равнище на значимост	.200 ^{c,d}	.028 ^c	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 30. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при EDSS=2 (с тест на Колмогоров-Смирнов).

Тест на Колмогоров-Смирнов						
		FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Те	Брой	11	11	11	11	11
	Средна	27.550	46.180	37.640	10.820	4.270
	Стандартно отклонение					
		14.222	11.488	12.714	13.761	4.982
с.						
d.						
	Теоретична характеристика	.159	.269	.218	.280	.237
	Равнище на значимост	.200 ^{c,d}	.025 ^c	.148 ^c	.016 ^c	.084 ^c

с. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

За EDSS 2, 3 и 3,5 не може да се изчисли нормалност на разпределението.

ПРИЛОЖЕНИЕ 20

Таблица 31. Резултати от проверка на разлика между различни групи FSS, PASAT – 3s, SDMT, Goldberg и Beck при различна стойност на EDSS (непараметричен тест на Kruskal-Wallis за повече от две независими извадки).

Тествани статистики ^{a,b}					
	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Хи-квадрат	3.549	8.734	7.713	2.323	2.040
Равнище на значимост	.170	.013	.021	.313	.361

a. Тест на Kruskal Wallis

b. Групираща променлива: EDSS

ПРИЛОЖЕНИЕ 21

Таблица 32. Резултати от проверка на разлика между нивата на инвалидност за установяване коя разлика е допринесла за наличие на статистически значима разлика (Post-Hoc LSD test).

	(I)	(J)	Разлика между	Равнище на		(I)	(J)	Разлика между	Равнище на
	EDSS	EDSS	средните (I-J)	значимост		EDSS	EDSS	средните (I-J)	значимост
PASAT	1.0	1.5	7.300	.097	SDMT	1.0	1.5	4.063	.389
		2.0	7.318	.087			2.0	7.426	.109
		2.5	10.136*	.020			2.5	5.881	.201
		3.5	39.000*	.000			3.5	32.563*	.001
	1.5	1.0	-7.300	.097		1.5	1.0	-4.063	.389
		2.0	.018	.997			2.0	3.364	.510
		2.5	2.836	.547			2.5	1.818	.721
		3.5	31.700*	.000			3.5	28.500*	.003
	2.0	1.0	-7.318	.087		2.0	1.0	-7.426	.109
		1.5	-.018	.997			1.5	-3.364	.510
		2.5	2.818	.540			2.5	-1.545	.756
		3.5	31.682*	.000			3.5	25.136*	.007
	2.5	1.0	-10.136*	.020		2.5	1.0	-5.881	.201
		1.5	-2.836	.547			1.5	-1.818	.721
		2.0	-2.818	.540			2.0	1.545	.756
		3.5	28.864*	.001			3.5	26.682*	.004
	3.5	1.0	-39.000*	.000		3.5	1.0	-32.563*	.001
		1.5	-31.700*	.000			1.5	-28.500*	.003
		2.0	-31.682*	.000			2.0	-25.136*	.007
		2.5	-28.864*	.001			2.5	-26.682*	.004

ПРИЛОЖЕНИЕ 22

Таблица 33. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при възрастова група до 25 години при болни пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	10	10	10	10	10
Средна	23.700	52.300	46.800	10.300	8.000
Стандартно отклонение	15.166	4.762	9.875	11.795	7.226
Теоретична характеристика	.280	.215	.173	.244	.209
Равнище на значимост	.026 ^c	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}	.094 ^c	.200 ^{c,d}

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 34. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при възрастова група до 26-35 години при болни пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	17	17	17	17	17
Средна	22.060	50.060	43.120	8.060	4.060
Стандартно отклонение	13.339	9.079	13.596	10.911	5.448
Теоретична характеристика	.164	.232	.105	.303	.242
Равнище на значимост	.200 ^{c,d}	.016 ^c	.200 ^{c,d}	.000 ^c	.009 ^c

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 35. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при възрастова група над 35 години при болни пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	23	23	23	23	23
Средна	32.040	41.650	34.780	16.040	7.960
Стандартно отклонение	16.683	15.773	11.572	12.769	8.249
Теоретична характеристика	.181	.179	.183	.152	.167
Равнище на значимост	.049 ^c	.054 ^c	.045 ^c	.182 ^c	.094 ^c

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 23

Таблица 36. Резултати от проверка на разлика между повече възрастовите групи за установяване коя разлика е допринесла за наличие на статистически значима разлика (Post-Hoc LSD test).

Зависима променлива	(I) Възрастови групи	(J) Възрастови групи	Разлика между средните (I-J)	Равнище на значимост
SDMT	до 25 години	от 26 до 35 години	3.682	.446
		над 35 години	12.017*	.011
	от 26 до 35 години	до 25 години	-3.682	.446
		над 35 години	8.335*	.035
	над 35 години	до 25 години	-12.017*	.011
		от 26 до 35 години	-8.335*	.035

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ПРИЛОЖЕНИЕ 24

Таблица 37. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при възрастова група от 26 до 35 години при здрави пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	16	16	16	16	16
Средна	25.310	51.310	44.630	9.250	4.000
Стандартно отклонение	11.223	7.282	4.978	9.518	4.099
Теоретична характеристика	.128	.217	.111	.218	.205
Равнище на значимост	.200 ^{c,d}	.043 ^c	.200 ^{c,d}	.040 ^c	.070 ^c

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 38. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при възрастова група над 35 години при здрави пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

Тест на Колмогоров-Смирнов

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	12	12	12	12	12
Средна	22.17	52.17	46.92	4.92	3.67
Стандартно отклонение	10.718	5.781	9.774	5.961	3.725
Теоретична характеристика	.217	.170	.245	.261	.238
Равнище на значимост	.122 ^c	.200 ^{c,d}	.045 ^c	.023 ^c	.060 ^c

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 25

Таблица 39. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при висше образование при здрави пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	30	30	30	30	30
Средна	25.570	49.430	41.370	11.770	5.830
Стандартно отклонение	13.331	12.034	11.186	12.339	6.639
Теоретична характеристика	.170	.219	.118	.189	.190
Равнище на значимост	.027 ^c	.001 ^c	.200 ^{c,d}	.008 ^c	.007 ^c

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 40. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при средно образование при здрави пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	20	20	20	20	20
Средна	29.100	42.450	38.000	12.800	7.850
Стандартно отклонение	18.982	13.185	14.991	12.530	8.229
Теоретична характеристика	.216	.163	.107	.228	.239
Равнище на значимост	.015 ^c	.171 ^c	.200 ^{c,d}	.008 ^c	.004 ^c

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 26

Таблица 41. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при висше образование при болни пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	21	21	21	21	21
Средна	25.430	51.860	45.570	8.620	4.710
Стандартно отклонение	11.098	6.952	6.712	9.271	4.076
Теоретична характеристика	.133	.145	.131	.230	.176
Равнище на значимост	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}	.200 ^{c,d}	.005 ^c	.089 ^c

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

Таблица 42. Резултати от проверката за нормално разпределение на различните тестове при средно образование при болни пациенти (с тест на Колмогоров-Смирнов).

	FSS	PASAT	SDMT	Goldberg	Beck
Брой	7	7	7	7	7
Средна	19.570	51.140	45.710	3.710	1.290
Стандартно отклонение	9.813	5.757	9.639	2.360	1.380
Теоретична характеристика	.213	.278	.328	.166	.253
Равнище на значимост	.200 ^{c,d}	.108 ^c	.022 ^c	.200 ^{c,d}	.197 ^c

c. Корекция на Lilliefors.

d. Долна граница на равнището на значимост.

ПРИЛОЖЕНИЕ 27

PACED AUDITORY SERIAL ADDITION TEST

PASAT - Form A

Name _____ Date _____

PRACTICE	9+1	3	5	2	6	4	9	7	1	4
	10__	4__	8__	7__	8__	10__	13__	16__	8__	5__

RATE #1 (3")	1+4	8	1	5	1	3	7	2	6	9
	5__	12__	9__	6__	6__	4__	10__	9__	8__	15__
	4	7	3	5	3	6	8	2	5	1
	13__	11__	10__	8__	8__	9__	14__	10__	7__	6__
	5	4	6	3	8	1	7	4	9	3
	6__	9__	10__	9__	11__	9__	8__	11__	13__	12__
	7	2	6	9	5	2	4	8	3	1
10__	9__	8__	15__	14__	7__	6__	12__	11__	4__	
8	5	7	1	8	2	4	9	7	9	
9__	13__	12__	8__	9__	10__	6__	13__	16__	16__	
3	1	5	7	4	8	1	3	8	2	
12__	4__	6__	12__	11__	12__	9__	4__	11__	10__	

Total Correct (raw) = _____ Percent Correct = _____

PRACTICE	3+8	2	7	9	1	8	5	2	6	4
	11__	10__	9__	16__	10__	9__	13__	7__	8__	10__

RATE #2 (2")	4+3	7	2	5	1	8	6	9	1	7
	7__	10__	9__	7__	6__	9__	14__	15__	10__	8__
	9	4	6	3	5	8	1	6	2	7
	16__	13__	10__	9__	8__	13__	9__	7__	8__	9__
	5	9	4	5	2	6	4	8	3	5
	12__	14__	13__	9__	7__	8__	10__	12__	11__	8__
	9	7	4	2	8	5	2	1	6	4
14__	16__	11__	6__	10__	13__	7__	3__	7__	10__	
7	3	5	9	6	4	5	3	9	4	
11__	10__	8__	14__	15__	10__	9__	8__	12__	13__	
1	8	3	1	6	8	5	4	2	6	
5__	9__	11__	4__	7__	14__	13__	9__	6__	8__	

Total Correct (raw) = _____ Percent Correct = _____

ПРИЛОЖЕНИЕ 28

ТЕСТ СИМВОЛ-ЦИФРОВИ МОДАЛНОСТИ „SYMBOL DIGIT MODALITIES TEST“

□	∩	∇	∩	∠	<	÷	□	∩	√2
1	2	3	4	5	6	7	8	9	

□	∠	∩	□	∇	<	∩	∩	□	<	□	<	□	∩

∩	<	□	∩	∠	<	∇	∩	□	∩	<	∩	∇	□

∩	∠	÷	□	□	∇	÷	∩	∠	∩	∩	∇	∩	÷

∩	∩	∠	□	<	∩	□	∠	<	÷	∩	□	∇	<	∩

∩	∠	□	∇	<	÷	∩	∠	∩	∇	÷	∩	∩	□	□

<	∩	÷	∩	∇	<	∩	∩	□	÷	∩	∠	<	□	∩

∩	□	÷	∩	∇	÷	□	∠	□	∩	∩	□	∩	∇	<

∠	∩	□	<	∩	∩	□	<	∩	÷	∇	∠	∩	□	∩

SDMT; Smith, 1968, Smith 1982

ПРИЛОЖЕНИЕ 29

СКАЛА ЗА ОЦЕНКА ТЕЖЕСТТА НА УМОРА „FATIGUE SEVERITY SCALE“

Настоящият въпросник оценява влиянието на умората върху Вас. Представява кратък тест , който изисква от Вас да оцените нивото си на умора. Съдържа девет твърдения, които оценяват влиянието на умората в ежедневието Ви.

Прочетете всяко твърдение и оградете число от 1 до 7 като имате предвид състоянието си през последните седмици.

Ниската оценка (например 1) означава пълно несъгласие с твърдението, докато високата оценка (например 7) означава пълно съгласие с твърдението.

Необходимо е да заградите число от 1 до 7 за всяко твърдение.

През последните седмици забелязвам: Несъгласие ↔ Съгласие

Мотивацията ми е по-ниска, когато съм уморен.	1 2 3 4 5 6 7
Физическите натоварвания провокират умората ми.	1 2 3 4 5 6 7
Уморявам се лесно.	1 2 3 4 5 6 7
Умората пречи на физическата ми активност.	1 2 3 4 5 6 7
Умората често ми причинява проблеми.	1 2 3 4 5 6 7
Умората пречи на нормалното ми физическо функциониране.	1 2 3 4 5 6 7
Вследствие на умората не мога да се справя с обичайни дейности и отговорности.	1 2 3 4 5 6 7
Умората е сред трите симптома, които ми пречат най-много.	1 2 3 4 5 6 7
Умората нарушава работата, семейния и социалния живот.	1 2 3 4 5 6 7
Общ брой точки:	

Krupp et al, Arch Neurol 1989

ПРИЛОЖЕНИЕ 30

ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР БЕК BDI

1. Тъга

0. Не се чувствам тъжен

1. Често се чувствам тъжен

2. Винаги съм тъжен

3. Толкова съм тъжен и нещастен, че не мога да го понеса

2. Песимизъм

0. Не съм обезкуражен за бъдещето

1. По-обезкуражен съм за бъдещето, отколкото преди

2. Не очаквам нищо добро в бъдеще

3. Бъдещето е безнадеждно и нещата само ще се влошават

3. Минали провали

0. Не се чувствам провален

1. Провалял съм се повече, отколкото съм очаквал

2. Като си направя равносметка, съм имал твърде много провали

3. Аз съм пълен провал като човек

4. Загуба на удоволствия

0. Изпитвам удоволствия от нещата както преди

1. Не се радвам на нещата така, както преди

2. Вече не изпитвам истинско удоволствие от нищо

3. Не мога изобщо да се зарадвам на нищо

5. Вина

0. Не се чувствам особено виновен

1. Чувствам се виновен за много неща, които съм направил или съм пропуснал да направя

2. Чувствам се твърде виновен през по-голяма част от времето

3. Непрекъснато се чувствам виновен

6. Наказание

0. Не се чувствам като наказан

1. Чувствам, че могат да ме накажат

2. Очаквам да ме накажат
3. Чувствам се като наказан

7. Харесване на себе си

0. Харесвам се толкова, колкото и преди
1. Не се харесвам колкото и преди
2. Разочарован съм от себе си
3. Изобщо не се харесвам

8. Самокритичност

0. Не се критикувам или обвинявам повече, от обикновено
1. По-критичен съм към себе си от колко бях
2. Критикувам се за всичките си грешки и недостатъци
3. Обвинявам се за всичко лошо, което се случва

9. Желание за самоубийство

0. Нямам никакви мисли за самоубийство
1. Имам мисли за самоубийство, но няма да го направя
2. Искам да се самоубия
3. Бих се самоубил, ако имах възможност

10. Плач

0. Не плача повече от обикновено
1. Плача повече от обикновено
2. Плача и от най-малкото нещо
3. Плача ми се, но вече не мога и да се разплача

11. Неспоконствие, възбуда

0. Не съм по-неспоконен от преди
1. По-неспоконен съм от преди
2. Толкова неспоконен и възбуден съм, че не мога да стоя на едно място
3. Толкова съм неспоконен или възбуден, че трябва непрекъснато да се движа или да правя нещо

12. Загуба на интерес

0. Не съм загубил интерес към хората или към нещата
1. По-малко се интересувам от хората или нещата от преди
2. Изгубил съм голяма част от интереса си към хората или към нещата
3. Нищо не ме интересува

13. Нерешителност

- 0. Взимам решения, както преди
- 1. По-трудно взимам решения от преди
- 2. Много по-трудно ми е да взимам решения от преди
- 3. Вече въобще не мога да взимам решения

14. Малоценност

- 0. Не се чувствам малоценен
- 1. Не се чувствам толкова пълноценен, като преди
- 2. Чувствам се по-малоценен, сравнение с другите
- 3. Чувствам се напълно обезценен

15. Загуба на психична енергия

- 0. Чувствам се енергичен, както и преди
- 1. Имам по-малко енергия от преди
- 2. Нямам достатъчно енергия за повечето неща
- 3. Нямам достатъчно енергия за каквото и да било

16. Промени в съня

- 0. Няма никаква промяна в съня ми
- 1а. Спя повече от обикновено
- 1б Спя по-малко от обикновено
- 2а Спя много повече от обикновено
- 2б Спя много по-малко от обикновено
- 3а Спя през по-голямата част от времето
- 3б Будя се един два часа след заспиване и не мога да заспя отново

17. Раздразнителност

- 0. Не съм по-раздразнителен от преди
- 1. По-раздразнителен съм от преди
- 2. Много по-раздразнителен съм от преди
- 3. През цялото време се чувствам раздразнителен

18. Промени в апетита

- 0. Нямам никакви промени в апетита
- 1а Имам по-малък апетит от преди
- 1б Имам по-голяма апетит от преди
- 2а Имам много по-голям апетит от преди
- 2б Имам много по-малък апетит от преди
- 3а Нямам никакъв апетит
- 3б Вечно съм гладен

19. Проблеми с концентрацията

- 0. Мога да се концентрирам толкова добре колкото и преди
- 1. Не мога да се концентрирам толкова добре, колкото преди
- 2. Трудно ми е да се концентрирам върху каквото и да е за по- дълго време
- 3. Изобщо не мога да се концентрирам

20. Умора

- 0. Не се уморявам повече от преди
- 1. Уморявам се по-лесно от преди
- 2. Прекалено съм уморен, за да върша много от нещата, които съм правил
- 3. Прекалено съм уморен, за да върша повечето от нещата, които правех

21. Загуба на интерес към секс

- 0. Интерес ми към секса не се е променил
- 1. По-малко се интересувам от секса, сравнение с преди
- 2. Много по-малко се интересувам от секса
- 3. Напълно съм загубил интерес към секса

ОЦЕНКА

Сметнете общото количество точки.

КЛЮЧ

До 9 – Норма

10 – 13 Минимална депресия

14 – 19 Лека депресия

20 – 28 Умерена депресия

29- 63 Тежка депресия

Ревизирана версия BDI- II 1996 г. Source : <https://www.nctsn.org/measures/beck-depression-inventory-second-edition>

ПРИЛОЖЕНИЕ 31

ДЕПРЕСИОНЕН ИНВЕНТАР ГОЛДБЪРГ „GOLDBERG DEPRESSION INVENTORY QUESTIONNAIRE“

1. Върша всичко бавно.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

2. Бъдещето ми изглежда безнадеждно.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

3. Трудно се концентрирам при четене.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

4. Удоволствието и радостта изчезнаха от живота ми.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

5. Трудно вземам решения.

- въобще не
- само малко
- до известна степен

- умерено
- до голяма степен
- много

6. Загубих интерес към аспекти от живота, които бяха важни за мен.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

7. Чувствам се тъжен, депресиран и нещастен.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

8. Непокоеен съм и се движа непрестанно.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

9. Чувствам се изморен.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

10. Необходими са ми големи усилия да извърша прости неща.

- въобще не
- само малко
- до известна степен

- умерено
- до голяма степен
- много

11. Чувствам се виновен и заслужавам да бъда наказан.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

12. Чувствам се като провал.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

13. Чувствам се безжизнен- повече мъртъв, отколкото жив.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

14. Сънят ми е нарушен- спя твърде малко, твърде много или накъсано.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

15. Обмислям как мога да се самоубия.

- въобще не
- само малко
- до известна степен

- умерено
- до голяма степен
- много

16. Чувствам се в капан или заловен.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

17. Чувствам се депресиран, дори когато ми се случват хубави неща.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

18. Без да се подлагам на диета губя тегло или напълнявам.

- въобще не
- само малко
- до известна степен
- умерено
- до голяма степен
- много

Copyright 1993 Ivan Goldberg. All rights reserved. Adopted from the printed edition of the Goldberg Depression Inventory for electronic distribution.