

Modificirani zbroj evociranih potencijala u praćenju progresije bolesti u klinički izoliranom sindromu

Crnošija, Luka

Doctoral thesis / Disertacija

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:604982>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Luka Crnošija

**Modificirani zbroj evociranih potencijala
u praćenju progresije bolesti u klinički
izoliranom sindromu**

DISERTACIJA



Zagreb, 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Luka Crnošija

**Modificirani zbroj evociranih potencijala
u praćenju progresije bolesti u klinički
izoliranom sindromu**

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

Doktorski rad izrađen je u Klinici za neurologiju, KBC-a Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te u Laboratoriju za kognitivnu i eksperimentalnu neurofiziologiju i Laboratoriju za evocirane potencijale KBC-a Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Voditelj rada: prof.dr.sc. Mario Habek, dr. med.

Zahvaljujem se svom mentoru prof.dr.sc. Mariju Habeku na stručnom vodstvu i podršci te doc.dr.sc. Magdaleni Krbot Skorić na pomoći prilikom prikupljanja i statističke obrade podataka te interpretaciji rezultata.

Zahvaljujem se voditeljici Laboratorija za evocirane potencijale dr.sc. Terezi Gabelić i ostalim djelatnicama Laboratorija na trudu i vremenu utrošenom tijekom višesatnih snimanja evociranih potencijala.

Zahvaljujem se i kolegicama dr.sc. Barbari Barun i doc.dr.sc. Ivani Zadro te dr.sc. Ivanu Adamecu bez kojih nebi bilo moguće prikupiti dovoljan broj ispitanika.

Posebno hvala mojoj supruzi i kćeri na velikoj podršci i razumijevanju tijekom izrade ovog rada.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Epidemiologija i socioekonomski utjecaj	1
1.2. Klinički fenotipovi multiple skleroze i klinički izolirani sindromi	3
1.3. Važnost ranog liječenja i individualizirani terapijski pristup	7
1.4. Prognoza kliničkog tijeka bolesti kod osoba s MS-om.....	9
1.4.1. Magnetska rezonancija mozga.....	10
1.4.2. Evocirani potencijali	11
1.4.2.1 Elektrofiziologija demijeliniziranih vlakana središnjeg živčanog sustava.....	12
1.4.2.3. Evocirani potencijali u praćenju i predviđanju tijeka bolesti	13
1.4.2.4. Nedostatnost slušnih evociranih potencijala moždanog debla u evaluaciji funkcije moždanog debla.....	20
1.4.2.5. Vestibularni evocirani potencijali moždanog debla	22
1.4.2.6. Somatosenzorni evocirani potencijali trigeminalnog živca.....	25
2. HIPOTEZA.....	28
3. CILJEVI RADA.....	29
3.1. Opći cilj.....	29
3.2. Specifični ciljevi	29
4. MATERIJALI I METODE	30
4.1. Ispitanici	30
4.2. Metode.....	31
4.2.1. Period uključivanja u istraživanje.....	31
4.2.1.1. Kurtzkeova proširena skala stupnja onesposobljenosti, EDSS	32
4.2.1.2. Multiple Sclerosis Functional Composite, MSFC	32
4.2.1.3. Magnetska rezonancija mozga i vratne kralježnice.....	34
4.2.1.4. Analiza cerebrospinalnog likvora	34
4.2.1.5. Vidni evocirani potencijali, VEP	35
4.2.1.6. Somatosenzorni evocirani potencijali medijanog i tibijalnog živca, SSEPt i SSEPm	36
4.2.1.7. Slušni evocirani potencijali moždanog debla, BAEP	39
4.2.1.8. Vestibularni evocirano miogeni potencijali, VEMP	39

4.2.1.9. Somatosenzorni evocirani potencijali jezika, SSEPj.....	41
4.2.1.10. Zbroj evociranih potencijala, EP zbroj.....	43
4.2.2. Period praćenja	46
4.2.3. Statistička analiza	48
5. REZULTATI.....	50
6. RASPRAVA.....	62
7. ZAKLJUČAK.....	70
8. SAŽETAK.....	72
9. SUMMARY.....	74
10. LITERATURA	76
11. BIOGRAFIJA.....	84

KRATICE

9-HPT – 9-Hole Peg Test

BAEP – slušni evocirani potencijali moždanog debla (eng. *brainstem auditory evoked potentials*)

BFSS – dio EDSS-a koji ocjenjuje funkciju moždanog debla (eng. *brainstem functional system score*)

CDMS – klinički definitivna multipla skleroza

CI – interval pouzdanosti

CIS – klinički izolirani sindrom

cSAD – kompozitna mjera nakupljanja onesposobljenosti

cVEMP – cervikalni VEMP

dB – decibel

DE – donjih ekstremiteta

DMT – lijekovi koji modificiraju tijek bolesti (eng. *disease modifying treatments*)

EDSS – Kurtzkeova proširena skala stupnja onesposobljenosti (eng. *Expanded Disability Severity Score*)

EP – evocirani potencijali

EP zbroj – zbroj evociranih potencijala (uključuje VEP, BAEP, SSEPt, SSEPm, SSEPj, cVEMP, oVEMP)

FLAIR – eng. *fluid-attenuated inversion recovery* (vrsta MR sekvence)

GE – gornjih ekstremiteta

HR – omjer rizika

MEP – motorički evocirani potencijali

MR – magnetska rezonancija

MS – multipla skleroza

MSFC – eng. *Multiple Sclerosis Functional Composite*

OR – omjer izgleda

oVEMP – okularni VEMP

PASAT – eng. *Paced Auditory Serial Addition Test* (test kognitivnih funkcija)

PPMS – primarno progresivni oblik multiple skleroze

PRO – prospektivno istraživanje

RETRO – retrospektivno istraživanje

RRMS – relapsno-remitirajući oblik multiple skleroze

SAD – održano nakupljanje onesposobljenosti (od eng. *sustained accumulation of disability*)

SCM – sternokleidomastoidni mišić

sEP zbroj – zbroj standardnih evociranih potencijala (uključuje VEP, BAEP, SSEPt, SSEPm)

SPMS – sekundarno progresivni oblik multiple skleroze

SSEP – somatosenzorni evocirani potencijali

SSEPj – somatosenzorni evocirani potencijali jezika

SSEPm – somatosenzorni evocirani potencijali živca medianusa

SSEPt – somatosenzorni evocirani potencijali živca tibialisa

SŽS – središnji živčani sustav

T25FT – Timed 25-foot Walk Test

TSSEP – somatosenzorni evocirani potencijali trigeminalnog živca

VEMP – vestibularni evocirani miogeni potencijali

VEP – vidni evocirani potencijali

1. UVOD

Multipla skleroza (MS) je kronična autoimunosna upalna, demijelinizacijska i neurodegenerativna bolest središnjeg živčanog sustava (SŽS). MS prvi put kao jedinstvenu bolest središnjeg živčanog sustava prepoznaje Jean Martin Charcot 1868. godine te ju tada naziva Sclérose en Plaques (1). Od tada, tijekom posljednjih 150 godina, provedena su brojna istraživanja te je postignut veliki napredak u poznavanju etiopatogeneze, patofiziologije, dijagnostike, a u posljednjih nekoliko desetljeća i u liječenju multiple skleroze. No pouzdano predviđanje tijeka bolesti kod pojedinog bolesnika s MS-om i dalje ostaje predmet istraživanja te za sada ne postoje adekvatni prediktori tijeka bolesti.

1.1. Epidemiologija i socioekonomski utjecaj

Procjenjuje se da je u 2013. godini oko 2,3 milijuna ljudi u svijetu bolovalo od MS-a (2), a prema podacima iz 2010. godine u Europi je bilo oko 540 000 osoba s multiplom sklerozom (3). Iako je MS prisutna u svim dijelovima svijeta prevalencija MS-a vrlo je varijabilna o čemu svjedoči podatak da je prevalencija MS u Sjevernoj Americi i Europi preko 100 oboljelih na 100 000 stanovnika, dok u Subsaharskoj Africi i Istočnoj Aziji prevalencija pada na oko 2 oboljela na 100 000 stanovnika. Prema rezultatima nedavno objavljenog istraživanja u Hrvatskoj je prema podacima iz 2015. godine prevalencija MS-a iznosila 143.8 na 100 000 stanovnika, što Hrvatsku smješta u skupinu zemalja s vrlo visokom

prevalencijom poput SAD-a, Kanade i skandinavskih zemalja (4). Klinički nastup bolesti najčešći je u mladim, radno i reproduktivno sposobnim, odraslim osobama u dobi između 20. i 40. godine života (5). Od ranije je poznato da je MS oko dva puta češća u žena nego u muškaraca, no novija istraživanja ukazuju na trend porasta incidencije MS-a u žena tijekom druge polovice 20. stoljeća te se smatra da je sada odnos oboljelih žena u odnosu na muškarce oko 3:1 (5–7). Uzmemo li navedeno u obzir, jasno je da se radi o bolesti koja nosi i veliki socioekonomski teret, o čemu svjedoči i podatak iz priopćenja Nacionalnog instituta za istraživanja u području onesposobljenja i rehabilitacije Sjedinjenih Američkih Država za 2000. godinu, gdje se navodi da je MS vodeći uzrok korištenja invalidskih kolica u dobnoj skupini od 18 do 64 godine (8). Podaci istraživanja provedenog tijekom 2015. godine na uzorku od preko 16 500 ispitanika iz 16 europskih zemalja godine jasno pokazuju da godišnji troškovi po osobi s MS-om ovise o težini bolesti, odnosno stupnju onesposobljenosti izraženu kroz *Expanded Disability Severity Score* (EDSS) te variraju u prosjeku između 22 800 i 57 500 € (9). Isto istraživanje pokazalo je da u skupini bolesnika s blažim stupnjem onesposobljenosti (tj. EDSS 0-3) najveći udio troškova čine lijekovi koji modificiraju tijek bolesti (DMT), dok u skupini bolesnika s većim stupnjem onesposobljenosti najveći udio u troškovima ima radna onesposobljenost tj. izostajanje s posla i nezaposlenost uzorkovana bolešću. O posljednjem svjedoči i podatak da je gotovo 50% osoba s EDSS-om 3.0 nezaposleno uz jasan trend daljnjeg pada zaposlenosti s rastom EDSS-a (9).

1.2. Klinički fenotipovi multiple skleroze i klinički izolirani sindromi

Ovisno o početnom kliničkom tijeku bolesti razlikujemo dva osnovna oblika MS-a – relapsno-remitirajući (RRMS) te progresivni. Najveći dio bolesnika, njih oko 85%, ima relapsno-remitirajući oblik bolesti koji je obilježen epizodama pogoršanja (tj. relapsa - naglo nastalog neurološkog deficita), a nakon čega može doći do potpunog oporavka ili djelomičnog zaostajanja deficita te bolest ulazi u fazu remisije (10). Osim karakterističnih izmjena epizoda relapsa i remisije, (diseminacija u vremenu), MS može zahvatiti bilo koji dio SŽS-a (diseminacija u prostoru) te su stoga zadovoljavanje kriterija diseminacije u vremenu i prostoru temeljem kliničkog i neuroradiološkog nalaza (tj. magnetska rezonancija SŽS-a) osnova postavljanja dijagnoze multiple skleroze prema McDonaldovim kriterijima. Kriteriji diseminacije u vremenu i prostoru zadovoljeni su ako je osoba imala dva ili više relapsa uz objektivan klinički nalaz koji upućuje na postojanje najmanje dvije lezije SŽS-a ili klinički nalaz koji odgovara jednoj leziji uz dokumentirani prethodni relaps. Osim temeljem kliničkog nalaza i anamneze, kriteriji diseminacije u vremenu i prostoru mogu se utvrditi i temeljem nalaza MR-a mozga i kralježničke moždine, pri čemu prisutnost lezija u najmanje dva od četiri tipična područja – periventrikularno, jukstakortikalno i/ili kortikalno, infratentorijski, kralježnička moždina – zadovoljava kriterije za diseminaciju u prostoru, dok je kriterij diseminacije u vremenu zadovoljen istovremenom prisutnošću kontrastom imbibirajućih i ne-imbibirajućih lezija na jednom MR-u mozga (i kralježničke moždine) ili pojavom novih T2 hiperintenzivnih lezija u kontrolnom intervalu, odnosno na kontrolnom MR-u (11). McDonaldovi dijagnostički kriteriji za MS kroz povijest su se više

puta mijenjali, a prema posljednjoj reviziji iz 2017. godine kriterij diseminacije u vremenu može biti zadovoljen i nalazom oligoklonskih vrpca u cerebrospinalnom likvoru (11).

S druge strane, u oko 15% bolesnika bolest je primarno progresivnog tijeka (PPMS) koji je obilježen postepenim, objektivnim pogoršanjem neurološke onesposobljenosti bez jasnog oporavka uz mogućnost fluktuacije i epizoda stabilnosti neurološkog statusa (10,12). Oko 65% osoba s RRMS-om (13) nakon određenog vremena pređe u sekundarno-progresivni (SPMS) oblik, a dosadašnja istraživanja ukazuju da je median vremena konverzije u SPMS oko 19 godina (10). SPMS je obilježen postepenom progresijom pogoršanja neurološke onesposobljenosti uz mogućnost istovremene pojave relapsa. Osim po kliničkom tijeku, RRMS i SPMS razlikuju se i u nalazima na MR-u, pa je tako kod RRMS-u dokaz aktivnosti bolesti pojava novih T2 hiperintenzivnih ili T1 kontrastom obojenih lezija, dok je u SPMS-u dominantni nalaz progresija atrofije mozga uz moguću pojavu novih T2 hiperintenzivnih ili T1 kontrastom obojenih lezija (12).

Klinički izolirani sindrom (CIS) predstavlja prvi relaps relapsno-remitirajućeg oblika MS-a (14). Ovaj izraz tipično se primjenjuje kod mlađe populacije bolesnika (20-45 godina), koji imaju simptome ili znakove koji upućuju na upalni demijelinizacijski poremećaj SŽS-a. Pritom je klinička slika obilježena akutnim ili subakutnim nastupom, s brzim razvojem deficita koji postiže svoj maksimum unutar 2-3 tjedna, a ne traje kraće od 24h. Osim toga, da bi nešto nazvali CIS-om, novonastali simptomi moraju se razviti u odsutnosti febriliteta ili infekcije te kliničkih znakova encefalopatije (14). CIS je po definiciji izoliran u vremenu, a obinom na kliničku prezentaciju može biti monofokalan (tj. prisutni su simptomi i/ili znakovi oštećenja jednog neurološkog sustava) ili multifokalan (tj. prisutni su simptomi i/ili znakovi

oštećenja više neuroloških sustava) (14). Ovisno o kliničkoj prezentaciji razlikujemo četiri tipa CIS-a - optički neuritis, sindromi moždanog debla/malog mozga, transverzni mijelitis te cerebralni. U Tablici 1 prikazani su tipovi CIS-a, njihova zastupljenost u populaciji bolesnika s CIS-om i klinička prezentacija svakog od sindroma. Rezultati studija koje su ispitale udio bolesnika koji će tijekom perioda praćenja razviti klinički definitivnu multiplu sklerozu (CDMS) ovisno o početnoj prezentaciji, odnosno tipu CIS-a, su podjednaki za tri najčešće klinike prezentacije; optički neuritis 50-65% (15,16), trasverzni mijelitis 41-61% (16–18), sindrom moždanog debla/malog mozga 53-60% (16,17).

Sindrom	Zastupljenost*	Klinička prezentacija	
		Tipična	Atipična
Optički neuritis	21-41%	unilateralan blaga bolnost na pomicanje smanjena vidna oštrina i smanjen kolorni vid uredan do blaže edematozan optički disk poboljšanje započinje unutar tri tjedna od početka tegoba relativni aferentni pupilarni defekt	bilateralan bezbolan ili izrazito bolan odsutnost percepcije svijetla velika krvarenja i eksudati vitritis i neuroretinitis prolongirana progresija vidnog deficita fotofobija
Moždano deblo ili cerebelum	10-24%	internuklearna oftalmoplegija ataksija i smjerno-pogledni nistagmus pareza n. abducensa (u dobi od 20-40 godina) paroksizmalni fenomeni (u trajanju od najmanje 24h) znakovi multifokalnog oštećenja (npr. vertigo i smanjen osjet lica)	potpuna eksterna oftalmoplegija izolirana trigeminalna neuralgija znakovi opskrbnog područja progresivna trigeminalna senzorna neuropatija poremećaji pokreta
Transverzni mijelitis	28-46%	inkompletni transverzni mijelitis Lhermitteov znak simptomi oštećene kontrole sfinktera asimetrična slabost udova deaferentirana šaka progresija do nadira između 4h i 21 dan	kompletni transverzni mijelitis kompletni Brown-Séquad sindrom sindrom kaude ekvine lezija u opskrnom području a. spinalis anterior lokalizirana ili radikularna spinalna bol progresivna simetrična spastička parapareza ili senzorna ataksija arefleksija oštar osjetni nivo za sve osjetne modalitete
Cerebralni	<8-<10%	hemipareza hemisenzorni poremećaji	encefalopatija epilepsija kortikalna sljepoća
Multifokalni	<8-23%	istovremeno prisutni znakovi više od jednog gore navedenih sindroma	

Tablica 1. Zastupljenost i klinička prezentacija svakog od pet tipova klinički izoliranog sindroma. Modificirano prema Miller i sur. (2012.). * prema referencama (10,17,19)

1.3. Važnost ranog liječenja i individualizirani terapijski pristup

Tijekom posljednjih 20-ak godina razvijen je veći broj, više ili manje učinkovitih DMT-a. Ovi lijekovi na različite načine djeluju na imunološki sustav s ciljem sprječavanja upalnog autoimunog procesa te su, izuzev okrelizumaba koji je registriran i za liječenje PPMS-a te siponimoda koji je registriran za liječenje SPMS-a, indicirani isključivo za liječenje RRMS oblika bolesti. Navedeno ukazuje na nedostatak terapija koje će nedvojbeno djelovati na neurodegenerativne procese MS-a.

Ne postoji internacionalni konsenzus oko kategorizacije navedenih lijekova te se oni u praksi najčešće dijele u dvije „linije“ ovisno o omjeru učinkovitosti i rizika koji nose (20). Ovdje valja istaknuti da učinkovitiji lijekovi u pravilu nose i veće rizike liječenja poput npr. progresivne multifokalne leukoencefalopatije ili autoimunog tireoiditisa. Podaci studija koje ukazuju na to da je učinkovitost lijekova prve linije veća u osoba s prvom kliničkom prezentacijom MS-a (tj. CIS) te da započinjanje terapije u stadiju CIS-a odgađa konverziju u CDMS, ističu važnost ranog započinjanja liječenja (21). Osim toga, istraživanja su pokazala da ranije započeto liječenje bilo kojim od DMT-a, a posebno ranije započeto liječenje lijekovima druge linije smanjuje rizik za prelazak bolesti u sekundarno progresivnu, odnosno neurodegenerativnu fazu (22). Navedeno je vjerojatno i jedan od razloga i niti vodilja prilikom osmišljavanja i primjeni novih McDonaldovih kriterija za postavljanje dijagnoze MS-a u 2017. godini (11), a o čemu jasno svjedoče i podaci naše skupine. Naime, u istraživanju provedenom na uzorku od 113 ispitanika s prvom kliničkom prezentacijom multiple skleroze s periodom praćenja od dvije godine usporedili smo osjetljivost i

specifičnost McDonaldovih kriterija iz 2010. godine i revizije iz 2017. godine u odnosu na Poserove kriterije za CDMS te je osjetljivost kriterija iz 2017. bila veća (85 vs. 30%), a specifičnost manja (33 vs. 63%) nego koristeći kriterije iz 2010. godine (23).

DMT-ove možemo podijeliti na terapiju održavanja i pulsnu imunorekonstitucijsku terapiju (24). Za terapiju održavanja karakteristično je da se lijekovi uzimaju kontinuirano, a postoje dva pristupa liječenju ovisno o aktivnosti bolesti: 1) ukoliko smatramo da će pojedini bolesnik imati blaži oblik bolesti, odnosno da nema veliki rizik od lošeg (aktivnijeg i agresivnijeg) tijeka bolesti odabiremo neki od lijekova I. linije koji su umjereno učinkoviti, ali imaju dobar sigurnosni profil – interferon beta 1a i 1b, glatiramer acetat, dimetilfumarat i teriflunomid. Ukoliko se takvim pristupom bolest ne uspije kontrolirati, terapiju možemo promijeniti u neki od lijekova II. linije koji su učinkovitiji, ali imaju lošiji sigurnosni profil (fingolimod, natalizumab, okrelizumab) - ovakav pristup nazivamo eksalacijskim pristupom; ili 2) ukoliko postoje indicije da će određeni bolesnik imati lošiji tijek bolesti odmah započinjemo s terapijom II. linije (ponekad čak i u fazi CIS-a) – ovakav se pristup ponekad naziva indukcijskim pristupom (25). U pulsnu imunorekonstitucijsku terapiju ubrajamo alemtuzumab (anti CD-52 protutijelo) i kladribin (sintetski analog purina) (26). U ovom pristupu liječenja nekontinuiranom, odnosno pulsnom primjenom navedenih lijekova dovodimo do više ili manje selektivne ablacije imunološkog sustava s ciljem uništavanja autoreaktivnih limfocita te resetiranja imunološkog sustava. Za ove lijekove odlučujemo se kada prethodne terapije zakažu u kontroliranju bolesti ili kada sam početak bolesti jasno upućuje da se radi o vrlo aktivnoj i agresivnoj bolesti (25). Primjena imunorekonstitucijske terapije kao prve opcije liječenja predstavlja indukcijski pristup u pravom smislu (21,25).

Najsnažnija imunorekonstitucijska terapija je transplantacija autolognih hematopoetskih matičnih stanica, koja se za sada u MS-u još uvijek primjenjuje eksperimentalno, obično kod osoba kod kojih su iscrpljene sve ostale terapijske mogućnosti, odnosno kao terapija spasa (eng. *rescue therapy*) (27). Imunorekonstitucijska terapija teoretski ima potencijal trajne remisije (26).

Odabir terapijske strategije trebao bi ovisiti o predviđenom tijeku, odnosno riziku aktivnosti bolesti za svakog bolesnika, no za sada predviđanje tijeka bolesti i dalje ostaje jedan od najvećih izazova u skrbi za osobe s MS-om.

1.4. Prognoza kliničkog tijeka bolesti kod osoba s MS-om

Neka od obilježja koje predviđaju lošiji tijek bolesti su muški spol, veća dob prilikom prve kliničke prezentacije, multifokalni početak ili početak bolesti simptomima oštećenja motoričkog, cerebelarnog ili mokraćnog sustava, prisutnost dvije ili više gadolinijum-imbibirajućih lezija ili devet ili više T2 hiperintenzivnih lezija, smanjeni peripapilarni sloj retinalnih živčanih vlakana, kao i veći broj abnormalnih odgovora evociranih potencijala (21).

1.4.1. Magnetska rezonancija mozga

Među navedenim prognostičkim čimbenicima posebno treba istaknuti ulogu MR-a mozga za koji se smatra da je najpouzdaniji alat za procjenu rizika konverzije CIS-a u CDMS, kao i za predviđanje buduće onesposobljenosti ovih bolesnika (28). Više longitudinalnih istraživanja pokazalo je povezanost između broja T2 hiperintenzivnih lezija na prvoj MR mozga i rizika za konverziju u CDMS (16,17,28), pa tako primjerice prisutnost ≥ 10 T2 lezija na inicijalnom MR-u mozga nosi 12.7 puta veći rizik za konverziju u CDMS (28). Veći broj T2 hiperintenzivnih lezija povezuje se i s lošijom prognozom, odnosno većim stupnjem onesposobljenosti izraženu u obliku EDSS-a. Jedno od najpoznatijih istraživanja u koje je bilo uključeno 1015 ispitanika s CIS-om (28) pokazala je da bolesnici koji imaju ≥ 10 T2 lezija na inicijalnom MR-u mozga imaju lošiju prognozu u postizanju značajne onesposobljenosti izražene s EDSS-om 3.0 tijekom srednjeg perioda praćenja od 81 mjeseca (± 57 mjeseci) (HR 4.3; 95% CI 2.4–8.0). No postavlja se i pitanje jesu li sve lezije jednako važne u predviđanju tijeka bolesti? Rezultati jednog istraživanja na velikom broju osoba s CIS-om (N=1165) ukazuju na važnost lezija projekcijskih, asocijativnih i komisuralnih živčanih puteva poput korpusa kalozuma, korone radijate ili cinguluma koje su češće prisutne kod osoba koje zadovolje kriterije za CDMS (29). Isto istraživanje pokazalo je i veću učestalost lezija navedenih puteva u osoba kod kojih se CIS prezentirao simptomima oštećenja moždanog debla/malog mozga ili kralježničke moždine. Nadalje, više je istraživanja ukazalo na važnost infratentorijskih lezija u predviđanju tijeka bolesti (17,30,31). Primjerice istraživanje Tintore i sur. (17), koje je uključivalo gotovo 250 bolesnika s CIS-om praćenih tijekom medijana od

7.7 godina, jasno je pokazala da prisutnost barem jedne infratentorijske lezije značajno povećava rizik za konverziju u CDMS (HR 3.3; 95% CI 2.2–4.8; $p < 0.001$), kao i rizik za onesposobljenost izraženu kao EDSS 3.0 (HR 2.4; 95% CI 1.3–4.3; $p < 0.003$), te da nosi i značajan dodatan rizik u skupini bolesnika s ≥ 9 T2 lezija.

Iako se MR mozga danas smatra najvažnijim alatom za praćenje i predviđanje tijeka bolesti postoje i određeni nedostaci ove metode, posebno u evaluaciji moždanog debla. Smatra se da zbog kompleksne anatomije moždanog debla postoji nepodudarnost radiološkog i kliničkog nalaza, tzv. kliničko-radiološki paradoks (32). O tome svjedoče i rezultati dviju studija kod kojih je u samo 54-60% bolesnika sa simptomima oštećenja moždanog debla nađena i odgovarajuća lezija na MR-u mozga (33,34). Uzevši u obzir ranije navedenu važnost lezija moždanog debla u predviđanju tijeka bolesti, postoji potreba za dodatnim alatima kojima bi se bolje ispitao integritet moždanog debla. Kao jedan od mogućih alata nameću se neurofiziološke metode.

1.4.2. Evocirani potencijali

U posljednjih dvadesetak godina objavljeno je preko 15 radova (vidi Tablicu 2) koji su ispitivali ulogu evociranih potencijala (EP) u prognoziranju tijeka bolesti kod osoba s MS-om. Osnovna ideja ovakvog pristupa je da, za razliku od MR-a koji predstavlja morfološku metodu, neurofiziološke pretrage mogu dati uvid u funkcionalno stanje različitih živčanih puteva te se primjenom više modaliteta EP-ova kod istog bolesnika može steći dobar uvid

u stanje različitih živčanih sustava. Jedni od prvih autora na ovu temu, O'Connor i sur., vrlo slikovito opisuju kombinaciju EP-ova kao električki surogat EDSS-a (35).

1.4.2.1 Elektrofiziologija demijeliniziranih vlakana središnjeg živčanog sustava

Većina za MS tipičnih simptoma usko je povezano s promijenjenim stvaranjem i provođenjem impulsa u središnjem živčanom sustavu (36). U normalno mijeliniziranih živčanih vlakana impuls je saltatorno propagiran između Ranvierovih čvorića, koji su obilježeni velikom gustoćom ionskih kanala, preskačući mijelinizirane internodalne segmente, a što omogućava brzo provođenje impulsa koje je potrebno za normalno funkcioniranje. S druge strane, živčana vlakna koja su nedavno segmentalno demijelinizirana nemaju dovoljnu gustoću natrijskih kanala na ogoljenoj aksolemi da bi uspješno propagirale impuls te uobičajeno nastupa kondukcijski blok (37), što se može povezati s negativnim simptomima MS-a (npr. pareza, hipoestezija). Kondukcijski blok na razini živčnih puteva nastaje zbog neadekvatne prostorne i vremenske sumacije na razini postsinaptičkih neurona. Naime, da bi određeni podražaj s periferije došao do moždanog korteksa impuls se provodi preko nekoliko redova neurona (npr. osjetni put ima tri reda neurona prije nego impuls stigne do korteksa). Aktivacija centralnog neurona često zahtjeva prostornu i vremensku sumaciju impulsa i do nekoliko stotina neurona nižeg reda, a što ovisi o karakteristikama samog postsinaptičkog centralnog neurona (npr. prostorna i vremenska konstanta) (38). Tijekom određenog perioda demijelinizirana vlakna mogu se prilagoditi novom stanju te početi ponovno provoditi impulse. Mehanizmi oporavka

funkcije nisu u potpunosti poznati, no smatra se da je za navedeno barem djelomično zaslužno povećanje gustoće ionskih kanala na ogoljeloj aksolemi, kao i stvaranje kontakata između aksona i glijalnih stanica (37). Ponovno uspostavljanje provodljivosti kroz demijelinizirana vlakna vjerojatno je i važan uzrok remisije simptoma kao i prisutnosti „klinički tihih“ lezija (37). No, iako i demijelinizirana vlakna mogu provoditi impulse, ono je, obzirom na nemogućnost saltatornog provođenja, usporeno. Samo usporenje provođenja impulsa obično izaziva relativno suptilne kliničke ispade poput Pulfrichevog fenomena (39), no obzirom da usporenje provođenja dovodi i do produženja refrakternog perioda transmisije impulsa, klinički ispadi mogu se manifestirati i prilikom izvođenja određenih funkcija koje zahtijevaju provođenje impulsa velikom frekvencijom. Primjer potonjeg je progresivno slabljenje i zamaranje miškulature prilikom održane mišićne kontrakcije koje se može opservirati kod određenih osoba s MS-om (37). Istraživanja su pokazala i da u centralno demijeliniziranih vlakana može doći do razvoja ektopične aktivnosti, koja je osjetljiva na mehaničku manipulaciju, a navedeno se može povezati s pozitivnim simptomima MS-a poput parestezija ili Lhermitteovog znaka (37).

1.4.2.3. Evocirani potencijali u praćenju i predviđanju tijeka bolesti

Prije pojave MR-a neurofiziološke metode, odnosno EP-ovi, rutinski su korišteni u evaluaciji osoba s MS-om. O važnosti vidnih evociranih potencijala (VEP) svjedoči uključenost nalaza ove pretrage u McDonalddove dijagnostičke kriterije iz 2001. i 2005.

godine (40,41), no niti jedan od modaliteta EP-ova nije bio uključen u daljnje revizije dijagnostičkih kriterija.

Za razliku od MR-a koja je morfološka metoda, EP-ovi daju informaciju o funkcionalnom stanju ispitanog živčanog puta, a dodatne prednosti su i niska cijena pretrage, kao i velika dostupnost. Osim toga EP-ovima se mogu ispitati i neki dijelovi živčanog sustava koji se rutinski ne ispituju MR-om, primjerice spinalni putevi i vidni živac. Prednost evociranih potencijala je i u detekciji „klinički tihih“ lezija. Jedno istraživanje pokazalo je da EP-ovi mogu otkriti ove lezije i u preko 50% ispitanika (42). U istom istraživanju prethodno „tihe“ lezije klinički su se manifestirale u oko 33% bolesnika tijekom perioda praćenja od dvije godine. Studije na životinjskim i kompjuterskim modelima ukazuju da kondukcijski blok nastupa ukoliko postoji demijelinizirani segment živčanog vlakna veličine 4-5mm, dok manji demijelinizirani segmenti mogu provoditi signal, međutim usporeno (32). S druge strane, istraživanja su pokazala i da se standardnim MR uređajima jakosti od 1.5 Tesla često previde lezije koje se vide korištenjem uređaja veće jakosti, primjerice 4 Tesla, te da se radi upravo o lezijama veličine 1-5mm (43), što također govori u prilog korištenja i neurofizioloških metoda u praćenju bolesnika s MS-om.

Najčešće korišteni modaliteti evociranih potencijala su somatosenzorni evocirani potencijali (SSEP) gornjih i donjih ekstremiteta, odnosno SSEP živca medianusa (SSEPM) i živca tibialisa (SSEPT), vidni evocirani potencijali (VEP), slušni evocirani potencijali moždanog debla (BAEP) te motorički evocirani potencijali (MEP) gornjih i donjih ekstremiteta. Dok se za ispitivanje osjetnih puteva (SSEP-ovi, VEP i BAEP) potencijali evociraju stimulacijom periferije primjenom električnog (SSEP), vidnog (VEP) ili slušnog

(BAEP) podražaja te se krajnji odgovor bilježi kortikalno, prilikom ispitivanja motoričkih puteva (MEP) podražaj se izaziva stimulacijom motoričke kore primjenom transkranijске magnetske stimulacije te se krajnji odgovor bilježi na periferiji. Propagacija impulsa u određenom živčanom putu može se pratiti postavljanjem elektroda duž ispitivanog puta te se tako među ostalim može posebno ispitati periferni i centralni dio puta. Prilikom evaluacije snimljenih odgovora od interesa su: a) latencije dobivenih odgovora, koje govore o provodljivosti, odnosno brzini provođenja ispitivanog puta; b) amplitude, koje daju podatak o količini funkcionalnih vlakana uključenih u ispitivani put. Drugim riječima, produžene latencije upućuju na usporenje provođenja impulsa, najčešće uzrokovano demijelinizacijskom lezijom, dok smanjene amplitude upućuju na manji broj generatora snimljenog odgovora, odnosno smanjeni broj funkcionalnih živčanih vlakana.

Prije nešto više od 20 godina O'Connor i sur. prvi puta koriste kombinaciju EP-ova različitih modaliteta vodeći se osnovnom idejom da je kombinacija EP-ova elektrofiziološki surogat EDSS-a (35). U tom istraživanju, svjesno koristeći jednostavnu metodologiju zbrajanja abnormalnih odgovora (*eng. Evoked Potential Abnormality Score, EPAS*) na učinjenim EP-ovima (SSEPm, SSEPt, BAEP i VEP; raspon EPAS-a od 0-8), pokazali su veću korelaciju EDSS-a i EPAS-a učinjenih na početku studije te nakon jedne i dvije godine praćenja ($r=0.68, 0.66, 0.72$; za sve vrijednosti $p=0.0001$) u odnosu na EDSS i nalaz MR-a za ista razdoblja ($r=0.27, 0.34, 0.31$; za sve vrijednosti $p\leq 0.002$), no nije utvrđena prediktivna vrijednost ove metode. Od tada je učinjen veći broj istraživanja, koja su dokazala i prediktivnu vrijednost kombinacije različitih modaliteta EP-ova te različitih načina interpretacije njihovih rezultata (vidi Tablicu 2). 2006. godine objavljena su dva istraživanja

koja po prvi puta boduju specifični odgovor svakog od korištenih modaliteta EP-ova. Kallman i sur. (44) opisuju sljedeću metodu ocjenjivanja nalaza EP-ova: 0 - uredan nalaz, 1 bod – smanjena amplituda, 1 bod – produžena latencija. S druge strane, Leocani i sur. (45) prvi puta koriste ordinalnu skalu sa sljedećim načinom bodovanja: 0 uredan nalaz, 1 – produžene latencije, 2 – produžene latencije uz promjenu morfologije odgovora, 3 – odsutnost odgovora. Obje su metode pokazale umjerenu korelaciju s EDSS-om, no posljednja je metoda značajna po tome što po prvi put odgovore boduje na temelju pretpostavljenog patomorfološkog uzroka (tj. produženje latencije je uzrokovano manjim oštećenjem/demijelinizacijom nego blok provođenja, odnosno odsutnost odgovora). Koristeći navedenu metodu analize rezultata primjenjenih modaliteta EP-ova (VEP, SSEPm, SSEPt, MEP gornjih i donjih ekstremiteta) Leocani i sur. našli su graničnu vrijednost zbroja od 13 ili više koja je bila povezana s 72.5%-im rizikom za progresiju EDSS-a za 1.0 na sljedećoj kontroli. Slično, Jung i sur. (42) bodovali su rezultate multimodalnih EP-ova na skali od 0 – 5, naglasak stavljajući na nekoliko razina produženja latencije. Rezultati ove metode, u vidu korelacije s EDSS-om, nisu se pokazali boljima u usporedbi s rezultatima metodologije primjenjene u istraživanju Leocani i sur. (45). Sljedeće značajnije istraživanje je ono Invernizzija i sur. (46), u kojoj autori modificiraju metodologiju iz rada Leocani i sur. te mijenjaju samo jednu bodovnu kategoriju (tj. 2 – snižena amplituda ili promijenjena morfologija odgovora), dok ostale kategorije ostaju nepromijenjene. Na ovaj način predstavljene su sve mogućnosti abnormalnih odgovora te su isti na bodovnoj skali pravilno rangirani u odnosu na pretpostavljenu razinu oštećenja. Rezultati ovog istraživanja (46) pokazali su značajnu snažnu korelaciju EP zbroja s EDSS-om tijekom perioda praćenja

(najznačajniji rezultat je bio nakon 5 godina praćenja; $r=0.82$, $p<0.001$). Također, pokazali su da ispitanici sa zbrojem >8 tijekom perioda praćenja značajno brže dosežu EDSS 4.0 u usporedbi s ispitanicima kojima je zbroj bio manji od 8 (za 3.8 naprema 13.5 godina). Još jedan način stvaranja kombiniranog zbroja više različitih modaliteta EP-ova je korištenjem zbroja z-vrijednosti latencija svih korištenih EP-ova (47–49). Z-vrijednost predstavlja broj standardnih devijacija za koje je određena vrijednost, u ovom slučaju latencija, udaljena od srednje vrijednosti određene skupine te se i na ovaj način također hipotetski ostvaruje povezanost između dobivene latencije EP-a i razine oštećenja (tj. veća latencija = demijelinizacija većeg segmenta ispitivanog puta), međutim na ovaj način nisu adekvatno opisani slučajevi kada se ne registrira odgovor (tj. blok provođenja), a postavlja se i pitanje o važnosti smanjenih amplituda koje također daju informaciji o integritetu ispitivanog živčanog puta, a ovom metodom nisu uzeti u obzir. Odgovor na posljednje pitanje dalo je istraživanje Giffroya i sur. (50) koje je pokazala da iako je zbroj z-vrijednosti latencija EP-ova bolji prediktor kliničkog stanja bolesnika s MS-om nego zbroj z-vrijednosti amplituda, kombinirani zbroj z-vrijednosti amplituda i latencija imao je najbolju prediktivnu vrijednost.

Iz podataka prikazanih u Tablici 2 može se vidjeti da se kombinacija EP-ova pokazuje uglavnom umjerenu do snažnu pozitivnu korelaciju s EDSS-om, no isto tako jasno je da su prikazani rezultati vrlo raznoliki. Razlog tome vjerojatno je djelomično u različitostima u obilježjima ispitanika, različitim periodima praćenja, razlikama u korištenim modalitetima EP-ova, ali i u različitim metodama izračuna zbroja evociranih potencijala. U većini istraživanja korištena je ordinalna skala gdje se bodovi dodjeljuju temeljem različitih abnormalnosti odgovora (npr. produžena latencija = 1 bod, snižena amplituda = 2, odsutan odgovor = 3), dok manji broj istraživanja koristi kvantitativnu skalu u obliku zbroja z-vrijednosti latencija i amplituda snimljenih odgovora. Giffroy i sur. u dva rada (50,51) za istu skupinu ispitanika koriste obje navedene metode te rezultati ukazuju da nema značajne razlike među navedenim načinima izračuna u odnosu na korelaciju s EDSS-om.

Manji je broj istraživanja koja uspoređuju povezanost nalaza EP-ova i MR-a s EDSS-om u istoj skupini ispitanika. Nekoliko istraživanja je pokazalo kako kombinacija nekoliko modaliteta EP-ova (VEP, BAEP, SSEPm, SSEPt) bolje korelira s EDSS-om nego broj ili volumen T2 hiperintenzivnih lezija na MR-u mozga (35,52). Rezultati istraživanja Ramanathana i sur. (52) pokazali su da kombinacija različitih modaliteta EP-ova ima pokazuje veću povezanost s budućim EDSS-om ($r=0.57$, $p<0.001$) u odnosu na broj T2 lezija na MR-u mozga i/ili kralježničke moždine ($r=0.42$, $p<0.01$). Ispitujući ulogu EP-ova u dugoročnom praćenju osoba s MS-om, rezultati prospektivne studije Schlaeger i sur. (48) koja je ispitanike pratila tijekom 14 godina, pokazala je da kombinacija EP-ova korelira s EDSS-om i nakon 14 godina ($r=0.68$, $p<0.0001$), dok broj T2 lezija na MR-u mozga nije pokazao povezanost s dugoročnom vrijednošću EDSS-a ($p>0.05$).

Iako je kritiziran zbog brojnih nedostataka, poput kombiniranja oštećenja i onesposobljenosti u istoj skali, umjerene međuispitivačke pouzdanosti u donjem dijelu skale, nelinearnosti te velikog utjecaja pokretljivosti na rezultat EDSS-a u gornjem dijelu skale (54), EDSS je i dalje najčešće primjenjivana metoda u kliničkoj praksi i studijama. Međutim, postoje i druge metode poput *Multiple Sclerosis Functional Composite* (MSFC), koja se u zadnje vrijeme sve više koristi u kliničkim ispitivanjima. MSFC se sastoji od testa funkcije gornjih (eng. *9-Hole Peg test*, 9HPT) i donjih ekstremiteta (eng. *Timed 25-Foot Walk Test*, T25FT) te procjene kognitivne funkcije (eng. *Paced Auditory Serial Addition test*, PASAT). Tek manji broj istraživanja (42,50) koja su procjenjivala ulogu kombinacije različitih modaliteta EP-ova u praćenju osoba s MS-om je ispitalo i njihovu povezanost s MSFC-om te je utvrđena umjerena povezanost, kao i prediktivna vrijednost kombinacije EP-ova i za ovu metodu praćenja kliničkog stanja bolesnika.

1.4.2.4. Nedostatnost slušnih evociranih potencijala moždanog debla u evaluaciji funkcije moždanog debla

Kao što je ranije prikazano, lezije moždanog debla važne su za predviđanje kliničkog tijeka u osoba s MS-om, jer su se pokazale kao značajan i neovisan prediktor povećanog rizika za lošiji tijek bolesti (17). BAEP su jedna od neurofizioloških metoda koja ispituje funkciju neuroanatomskog puta od slušnog živca do slušnog korteksa, a time i funkciju dijela puta koji prolazi kroz moždano deblo. Metoda spada u skupinu slušnih evociranih potencijala male latencije, odnosno odgovora generiranih unutar prvih 10 milisekundi (ms)

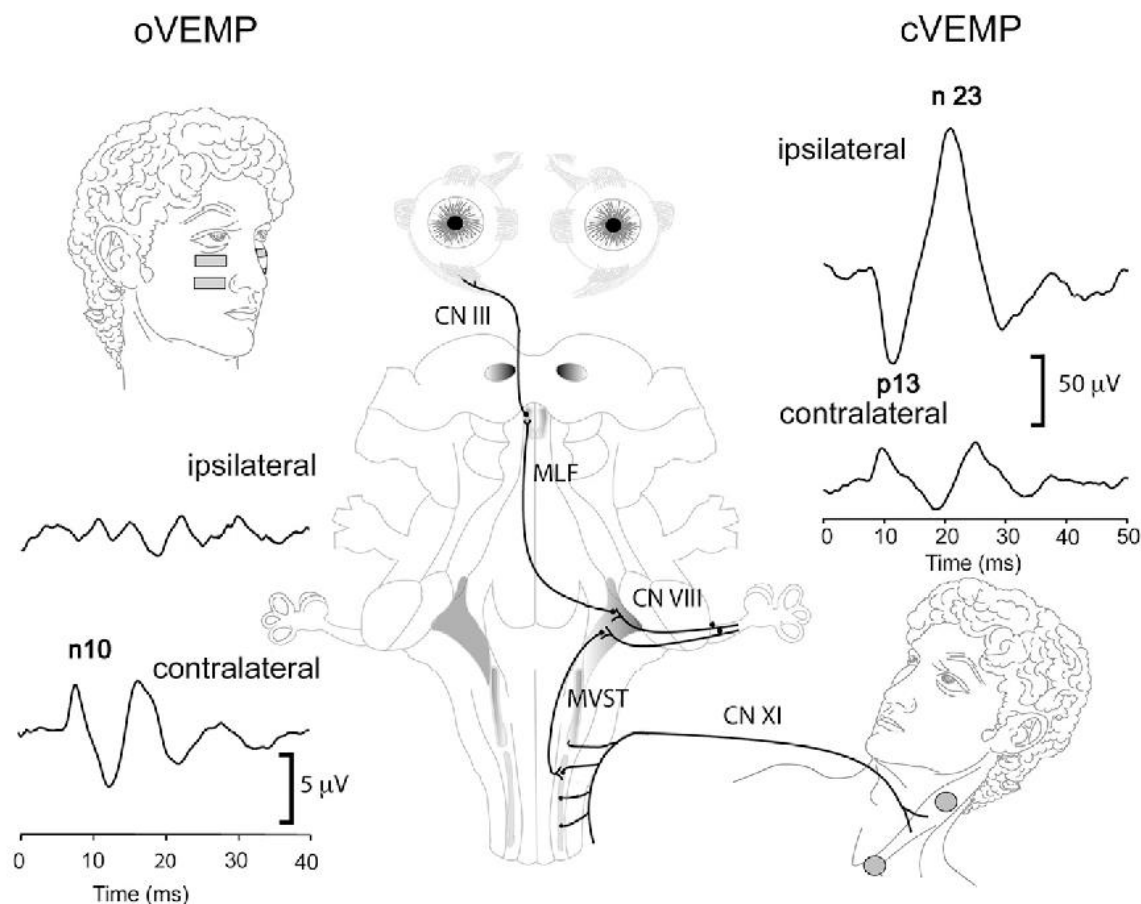
od pojave podražaja (55). BAEP se sastoji od sedam valova (označavaju se rimskim brojevima, I-VII) te se smatra da su oni generirani sukcesivnom aktivacijom struktura samog slušnog puta (tj. kohlearni živac, jezgra kohlearnog živca, gornje olivarne jezgre, medijalni lemniskus, donji kolikuli, medijalno koljenasto tijelo, slušna radijacija) (55). Analizom latencija pojedinih valova te njihovih interlatencija može se zaključiti nalazi li se lezija u gornjem ili donjem dijelu moždanog debla (56). S druge strane, pregledom dosadašnjih istraživanja (Tablica 2) može se uočiti da je tek polovica autora, koji su ispitivali vrijednost kombiniranih modaliteta EP-ova u praćenju bolesnika s MS-om, koristilo BAEP kao modalitet EP-a kojim se ispituje funkcija moždanog debla, izostavljajući tako jedan od glavnih faktora rizika lošijeg tijeka bolesti iz analize. Međutim, druge studije su pokazale da je i sam BAEP relativno neosjetljiva metoda za evaluaciju moždanog debla, pa tako nalaz BAEP-a može biti uredan u oko 50-60% osoba s MS-om kod kojih su prisutni klinički znaci oštećenja moždanog debla (57,58). Studija Ramanathana i sur. (52), u kojoj su autori koristili VEP, SSEPt, SSEPm, MEP gornjih i donjih ekstremiteta te BAEP, pokazala je da jedino BAEP ne pokazuje statistički značajnu korelaciju s EDSS-om. Nekoliko je istraživanja pokazalo da BAEP ne korelira (42,45) niti s dijelom EDSS-a koji ocjenjuje funkciju moždanog debla (eng. *brainstem functional system score*, BFSS) te da se BAEP može isključiti iz ukupnog EP zbroja bez utjecaja na korelaciju EP zbroja s budućim EDSS-om tijekom perioda praćenja (42). Navedeni nedostaci BAEP-a kao metode procjene funkcije moždanog debla vjerojatno proizlazi iz činjenice da moždanim deblom prolaze brojni putevi te ispitivanjem samo jednog od njih ne možemo dobiti potpunu sliku funkcije ove strukture. Obzirom na značaj oštećenja moždanog debla za raspoznavanje bolesnika s povećanim rizikom za lošiji

tijek bolesti te relativno slabu osjetljivost BAEP-a, potrebne su dodatne metode za procjenjivanje funkcije moždanog debla.

1.4.2.5. Vestibularni evocirani potencijali moždanog debla

Vestibularni evocirani potencijali moždanog debla (VEMP) su miogeni odgovori kratke latencije evocirani aktivacijom vestibularnih receptora koristeći zvuk ili vibraciju (59). Radi se o nešto novijoj neurofiziološkoj metodi procjene funkcije moždanog debla koja u kliničku praksu ulazi sredinom 90-ih godina prošlog stoljeća. Osnovna razlika između VEMP-a i ostalih evociranih potencijala je u tome da se odgovor bilježi elektromiografski s odgovarajućeg mišića. Ukratko, metoda se zasniva na stimulaciji otolitičkih organa, sakulusa i utrikulusa, kao početnih točaka vestibulokoličnog i vestibulo-okularnog refleksa. Stimulacija se najčešće izvodi primjenom zrakom provođenog zvučnog podražaja velikog intenziteta od 105-140dB (59). Impuls se od sakulusa prenosi donjom granom vestibularnog živca do vestibularne jezgre, a zatim medijalnim vestibulospinalnim putem do ipsilateralne jezgre akcesornog živca, koji inervira sternokleidomastoidni mišić (SCM) tvoreći tako vestibulokolični refleks (vidi Sliku 1) (59). Elektromiografijom SCM-a dobivamo cervikalne VEMP-ove (cVEMP). S druge strane, smatra se da vestibulo-okularni refleks počinje stimulacijom utrikulusa te aktivacijom aferentnih vlakana u sklopu gornje grane vestibularnog živca, koje nakon prespajanja u vestibularnoj jezgri projiciraju kontralateralno u sklopu medijalnog longitudinalnog fascikulusa do jezgre okulomotornog živca. Elektromiografijom očnih mišića tako dobivamo okularne VEMP-ove (oVEMP) (vidi

Sliku 1) (59). Prema navedenom, oVEMP ispituje funkciju gornjeg dijela moždanog debla, dok cVEMP ispituje funkciju donjeg dijela.



Slika 1. Prikaz živčanih struktura uključenih u vestibulo-okularni refleks čija se funkcionalnost može ispitati oVEMP-om te vestibulokolični refleksni put koji ispituje cVEMP-om. Preuzeto iz Colebatch i sur. (59) uz dozvolu Elsevier B.V., Amsterdam, Nizozemska.

U posljednje vrijeme više je istraživanja ispitalo potencijalnu vrijednost ove metode u praćenju bolesnika s MS-om. U dosadašnjim istraživanjima autori su uglavnom koristili

cVEMP, a tek manji broj autora koristio je i oVEMP. Provedena istraživanja pokazala su da postotak patoloških odgovora cVEMP-a u skupini bolesnika s MS-om varira između 18-70%, što naravno u velikoj mjeri ovisi o obilježjima bolesnika uključenih u istraživanje, odnosno zastupljenosti bolesnika s poznatim kliničkim ili radiološkim dokazima oštećenja moždanog debla (60–65). Podaci nedavno objavljene sustavne analize koja je ispitala ulogu cVEMP-a u vrtoglavici kod bolesnika s MS-om, ukazuju da se u čak oko 35% slučajeva bolesnika s MS-om, vrtoglavicom i patološkim nalazom cVEMP-a ne evidentiraju odgovarajuće lezije središnjih vestibularnih puteva na MR-u mozga (66). Kao jedan od mogućih razloga ove nepodudarnosti autori navode relativnu neosjetljivost MR uređaja jakosti 1.5T za lezije manje od 5mm, a kod kojih možemo očekivati kondukcijski blok ili produženje latencija koristeći neurofiziološke metode.

Naša je skupina, koristeći metodologiju opisanu u radu Invernizzia i sur., po prvi puta kreirala VEMP zbroj, koji se sastojao od cVEMP i oVEMP zbroja (67). U toj studiji, u kojoj su ispitanici bili podijeljeni u skupinu zdravih kontrola (n=50), skupinu bolesnika s MS-om bez kliničkih znakova oštećenja moždanog debla (n=50) te bolesnika s MS-om i kliničkim znakovima oštećenja moždanog debla (n=50), VEMP zbroj pokazao je statistički značajnu korelaciju s EDSS-om ($r=0.255$, $p=0.011$) i dužinom trajanja bolesti ($r=0.215$, $p=0.032$) te je pozitivni VEMP zbroj bio povezan s MR-om dokazanom lezijom u području ponsa ($p=0.016$). Također, nađena je i korelacija između EDSS-a i latencije P13 vala cVEMP-a ($r=0.336$, $p=0.017$) i amplitude cVEMP-a ($r=-0.405$, $p=0.005$). U drugoj studiji (68), u koju je bio uključen 121 bolesnik s prvim simptomom MS-a (odnosno klinički izoliranim sindromom, CIS), naša je skupina našla značajnu povezanost produženih latencija i/ili odsutnih odgovora

VEMP-a s lezijama u području ponsa i produžene moždine. Također, rezultati su pokazali i da je VEMP zbroj značajno veći u bolesnika s kliničkim znakovima oštećenja moždanog debla te kod bolesnika s MR-om dokazanim lezijama u području moždanog debla.

Uspoređujući ulogu BAEP-a i VEMP-a u procjeni funkcije moždanog debla više je autora pokazalo veću osjetljivost VEMP-a (62,64,65). Naša je skupina pokazala da je kombinacija cVEMP-a i oVEMP-a statistički značajno bolja od BFSS-a i BAEP-a u detekciji oštećenja moždanog debla (64). U toj studiji, u 43.8% ispitanika dokazane su lezije moždanog debla na MR-u, dok je samo 21.9% imalo patološki nalaz BAEP-a. S druge strane, oVEMP i cVEMP bili su promijenjeni u 37.5% i 31% ispitanika, dok je kombinacija cVEMP-a i oVEMP-a upućivala da 56.3% bolesnika ima oštećenje moždanog debla. Može se zaključiti da postojeća literatura govori u prilog VEMP-u kao korisnoj metodi za procjenu funkcije moždanog debla u bolesnika s MS-om s većom osjetljivošću od BAEP-a.

1.4.2.6. Somatosenzorni evocirani potencijali trigeminalnog živca

Somatosenzorni evocirani potencijali trigeminalnog živca (TSSEP) koriste se za procjenu funkcije trigeminalnog puta od periferije do somatosenzornog korteksa, međutim ova metoda, iako prvi puta opisana 1970. godine (69), nije u širokoj kliničkoj upotrebi. Neuroanatomske strukture koje se ispituju ovom metodom su trigeminalni živac (V1, V2 ili V3 grane ovisno o mjestu stimulacije) koji provodi signal do trigeminalnih jezgara u moždanom deblu, a nakon prespajanja u jezgrama moždanog debla vlakna križaju strane u

sklopu trigeminalnog lemniskusa te pristupaju talamičkim jezgrama, od kojih nakon prespajanja projiciraju do ipsilateralnog cerebralnog korteksa (65). Centralno ili periferno oštećenje trigeminalnog puta dovodi do produženja latencija ili konduktivnog bloka (70). Postoje brojni protokoli s različitim modalitetima, mjestima i frekvencijama stimulacije te različitim pozicijama elektroda kojima se bilježi odgovor (65). Objavljen je tek manji broj istraživanja koja ispituju ulogu TSSEP-a u osoba s MS-om (57,71–75). Među prvim autorima koji su istraživali ulogu TSSEP-ova u bolesnika s MS-om su Bergamaschi i sur. koji su 1994. godine objavili istraživanje kojim su pokazali kako TSSEP ima veliku osjetljivost u dokazivanju oštećenja trigeminalnog puta kod bolesnika s odgovarajućim kliničkim znakovima (71). Osim toga TSSEP je ukazivao i na oštećenje trigeminalnih puteva kod bolesnika bez odgovarajućih kliničkih znakova te su se autori već tada zalagali za uključanje ove metode u multimodalne EP-ove za praćenje bolesnika s MS-om (71). U ranijem istraživanju ova je skupina autora pokazala kako su BAEP i TSSEP podjednako osjetljivi u otkrivanju lezija moždanog debla kod osoba s MS-a, no rezultati su pokazali i da se kombiniranom primjenom BAEP-a i TSSEP-a može otkriti oštećenje moždanog debla u većem postotku bolesnika nego primjenom samo jedne od navedenih metoda (72). Nadalje, autori su također analizirali i dio odgovora mSSEP-a koji se odnosi na moždano deblo te su ustanovili kako je kombinacija mSSEP-a i TSSEP-a bila patološki promijenjena u 44 od 53 (83%) bolesnika, dok je kombinacijom mSSEP-a, TSSEP-a i BAEP-a ustanovljeno oštećenje moždanog debla kod samo još jednog dodatnog bolesnika što ponovno upućuje na relativnu neosjetljivost BAEP-a (72). S druge strane, Soustiel i sur. pokazali su da je kombinacija BAEP-a i TSSEP-a osjetljivija od MR-a u otkrivanju oštećenja moždanog debla

(57). Međutim, i ovo istraživanje također upućuje na neosjetljivost BAEP-a kod osoba s MS-om i kliničkim znakovima oštećenja moždanog debla obzirom da je BAEP bio patološki promijenjen u tek 53% ovih bolesnika, za razliku od TSSEP-a koji je bio patološki promijenjen u 14 od 15 ovih bolesnika.

Obzirom na ranije navedenu različitosti u metodi izvođenja TSSEP-a postavlja se pitanje koja je od njih najbolja. Jedna od varijanti ove metode jesu i somatosenzorni evocirani potencijali jezika (SSEPj) koji su pokazali izvrsnu osjetljivost u ispitivanju aferentnog trigeminalnog puta, a bez miogene kontaminacije snimljenih odgovora koja je izraženija prilikom korištenja drugih TSSEP metoda (70). Naša je skupina pokazala da su latencije SSEPj-a značajno produžene kod osoba s MS-om u usporedbi sa zdravim kontrolama te da SSEPj može otkriti oštećenje aferentnog trigeminalnog puta u većem postotku ispitanika nego klinički pregled ili MR mozga (73). U nešto novijem istraživanju rađenom na relativno velikoj skupini ispitanika s CIS-om (n=121), naša je skupina pokazala da je SSEPj patološki promijenjen u 32% ispitanika (75). Osim toga, izostanak odgovora na SSEPj statistički značajno je korelirao s MR-om dokazanim lezijama u području moždanog debla ($p=0.001$), točnije u području ponsa ($p=0.002$) i međumozga ($p=0.005$). U istom istraživanju prvi puta je kreiran SSEPj zbroj te su rezultati pokazali da ispitanici s MR-om dokazanim lezijama u području međumozga i ponsa imaju značajno veći SSEPj zbroj ($p=0.004$ i $p=0.008$), dok je binarna logistička regresija pokazala da je SSEPj zbroj značajan prediktor lezija u području međumozga ($p=0.007$) (75).

2. HIPOTEZA

Kombinacija standardnih evociranih potencijala (VEP, BAEP, SSEPm i SSEPt) te evociranih potencijala koji procjenjuju funkciju moždanog debla (cVEMP, oVEMP i SSEPj) bolji su prediktori konverzije klinički izoliranog sindroma u klinički definitivnu multiplu sklerozu nego klinički pregled i MR.

3. CILJEVI RADA

3.1. Opći cilj

Utvrđiti ulogu zbroja evociranih potencijala moždanog debla i modificiranog zbroja evociranih potencijala u predviđanju konverzije CIS-a u MS i praćenju progresije bolesti u bolesnika s CIS-om.

3.2. Specifični ciljevi

Utvrđivanje povezanosti zbroja evociranih potencijala moždanog debla i modificiranog zbroja evociranih potencijala s:

- 1) progresijom neurološkog oštećenja tijekom dvije godine praćenja (EDSS, *Multiple Sclerosis Functional Composite*)
- 2) pojavom novog relapsa tijekom perioda praćenja
- 3) MRI pokazateljima aktivnosti bolesti

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ispitanici

U istraživanje su uključene osobe starije od 18 godina s postavljenom dijagnozom CIS-a. Sudjelovanje u studiji ponuđeno je svim novodijagnosticiranim bolesnicima s CIS-om u periodu od kolovoza 2014. godine do veljače 2016. godine, koji su pregledani u u Klinici za neurologiju KBC-a Zagreb. Istraživanje je odobreno od strane etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Zagrebu te su svi ispitanici prije uključnja u istraživanje potpisali odobreni informirani pristanak.

CIS je definiran kao prvi neurološki događaj akutnog ili subakutnog nastupa, tijekom kojeg bolesnik ima simptome i/ili znakove koji upućuju na upalni demijelinizacijski poremećaj središnjeg živčanog sustava i traje najmanje 24 sata, a u odsutnosti infektivne bolesti ili febriliteta (14). Klinička prezentacija upućuje na mjesto lezije te se CIS može manifestirati optičkim neuritisom, simptomima transverznog mijelitisa, simptomima moždanog debla ili cerebeluma te cerebralnim simptomima (14). CIS je obično monofokalan, ali u određenog broja bolesnika mogu biti prisutni simptomi ili znakovi koji upućuju na diseminaciju u prostoru te se u tom slučaju radi o multifokalnom CIS-u (14). U studiju su uključeni samo bolesnici s tipičnim oblikom optičkog neuritisa (zahvaćenosti jednog oka, blaga bol pri pokretanju bulbusa, ispad vidnog polja i akromatopsija zahvaćenog oka) koji su prethodno obrađeni u Klinici za neurooftalmologiju KBC-a Zagreb. Ostali bolesnici uključivali su se nakon kliničke i neuroradiološke evaluacije neurologa s najmanje pet godina iskustva rada u području upalnih bolesti središnjeg živčanog sustava.

4.2. Metode

4.2.1. Period uključivanja u istraživanje

U trenutku uključivanja u studiju svim uključenim ispitanicima napravljeni su sljedeći testovi i pretrage:

1. detaljan neurološki pregled kvantificiran u obliku EDSS-a
2. Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) – uključuje Timed 25-foot Walk Test (25FWT), 9-hole peg test (9HPT) i Paced Serial Addition Test (PASAT)
3. MR mozga i vratne kralježnice (T2 i T1 postkontrastne sekvencije) ukoliko nisu bili prethodno napravljeni
4. analiza cerebrospinalne tekućine uključujući broj stanica, razinu proteina i prisutnost oligoklonalnih IgG traka
5. vidni evocirani potencijali, VEP
6. slušni evocirani potencijali moždanog debla, BAEP
7. somatosenzorni evocirani potencijali tibijalnog i medijanog živca, SSEPt i SSEPm
8. somatosenzorni evocirani potencijali jezika, SSEPj
9. okularni i cervikalni vestibularni evocirani miogeni potencijali, oVEMP i cVEMP

4.2.1.1. Kurtzkeova proširena skala stupnja onesposobljenosti, EDSS

EDSS (eng. *Expanded Disability Status Scale*) je skala koja se primjenjuje kako bi se kvantificirao klinički status bolesnika s MS-om. Sama skala sastoji se od ispitivanja osam funkcionalnih sistema (piramidalni, cerebelarni, moždano deblo, osjetni, funkcija mokraćnog mjehura i gastrointestinalnog trakta, cerebralne funkcije i ostalo) (76). Brojčana vrijednost kojom se opisuje kliničko stanje bolesnika ovisni o neurološkim ispadima ustanovljenih neurološkim pregledom, a može se kretati od 0 do 10, gdje 0 predstavlja uredan neurološki status, a 10 smrt kao posljedicu multiple skleroze. Ova je skala nelinearna, odnosno raste u polustepenima te ima ukupno 20 točaka. Valja istaknuti i da se EDSS od 1.0 do 4.5 odnosi se na bolesnike s MS-om koji su potpuno pokretni, dok EDSS rezultat od 5.0 do 9.5 označava bolesnike koji imaju smanjenu pokretnost.

4.2.1.2. Multiple Sclerosis Functional Composite, MSFC

Obzirom na ranije spomenute nedostatke EDSS-a, postoji potreba za dodatnim i/ili novim mjerama za bolje praćenje osoba boljelih od MS-a. U tu svrhu razvijen je MSFC, koji je do danas postao sastavni dio gotovo svakog kliničkog ispitivanja koji uključuje bolesnike s MS-om. MSFC se sastoji od Timed 25-foot Walk Test (25FWT), 9-Hole Peg Test (9HPT) i Paced Serial Addition Testa (PASAT).

- 25FWT – test ispituje funkciju donjih ekstremiteta odnosno pokretljivost. Sastoji se od mjerenja vremena u kojemu bolesnik prijeđe udaljenost od 25 stopa odnosno 7.62 metara. Ispitanika se prethodno uputi da hoda (ne trči) najvećom brzinom kojom može, a da se pri tome osjeća stabilno. Izvode se dva ponavljanja.
- 9HPT – test ispituje funkciju gornjih ekstremiteta. Ispitanik sjedi za stolom te se pred njega postavi set za izvođenje testa (Slika 2). Ispitanik mora jedan po jedan od devet štapića postaviti u devet predviđenih rupa koristeći samo jednu ruku te ih zatim jednog po jednog vratiti na predviđeno mjesto. Mjeri se vrijeme za svaki od dva pokušaja dominantnom i nedominantnom rukom.



Slika 2. Set za izvođenje 9HPT. (Slika preuzeta s <https://www.devinemedical.com/A8515-9-Hole-Peg-Test-Kit-p/a8515.htm>, pristupljeno 14.7.2020.)

- PASAT – mjeri kognitivnu funkciju. Ispitanik sluša audio zapis na kojemu se izgovara 60 brojeva u točnim intervalima od 3 sekunde. Zadatak ispitanika je da svaki novi broj koji čuje zbraja s brojem koji mu je prethodio na snimci.

Za detaljne upute za izvedbu cijelog MSFC-a vidi referencu (77).

4.2.1.3. Magnetska rezonancija mozga i vratne kralježnice

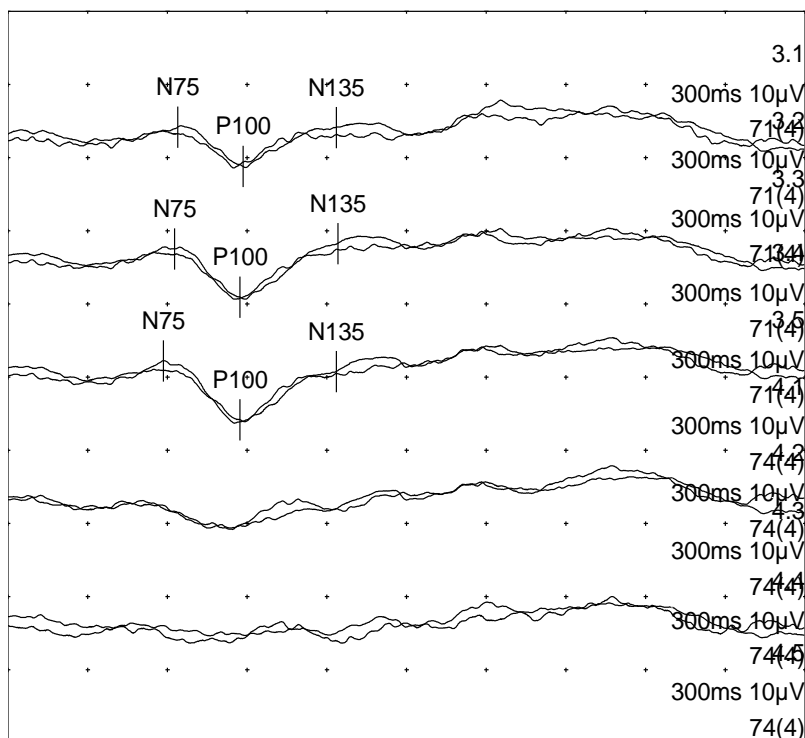
Svi ispitanici su uključeni u istraživanje nakon snimljenog MR-a mozga i vratne kralježnice, koji je neophodan dio dijagnostičke obrade kako bi se postavila dijagnoze CIS-a. Neurolog s najmanje pet godina iskustva u području neuroimunoloških bolesti središnjeg živčanog sustava zabilježio je ukupni broj hiperintenzivnih lezija na T2 i FLAIR (eng. *fluid-attenuated inversion recovery*) sekvencama u području mozga, posebno u području moždanog debla te u području vratne kralježnice za svakog uključenog ispitanika. Posebno su izbrojane i lezije koje su na T1 sekvencama pokazivale postkontrastnu imbibiciju.

4.2.1.4. Analiza cerebrospinalnog likvora

Nakon učinjene lumbalne punkcije, ukoliko ista nije prethodno učinjena, provedena je analiza cerebrospinalne tekućine. Za svakog ispitanika zabilježene su izmjerene vrijednosti stanica bijele loze u uzorku, kao i koncentracija proteina te prisutnost oligoklonskih IgG vrpca.

4.2.1.5. Vidni evocirani potencijali, VEP

Neuronalna aktivnost bilježila se s pet površinskih disk elektroda. Aktivne elektrode postavljene su na pozicijama Oz, O1, O2, O1' i O2' prema internacionalnom 10-20 sistemu, dok je referentna elektroda postavljena na poziciju Fz. Elektroda na Cz poziciji koristila se kao uzemljujuća elektroda. U svrhu izvođenja pretrage ispitanici su sjedili u udobnom naslonjaču 110 cm udaljeni od zaslona na kojem su se prikazivali vidni podražaji. Kao podražaj koristila se polje šahovnice s 16x16 bijelim i crnim elementima, a koji su se međusobno izmjenjivali s frekvencijom od 1 Hz. Svaka serija sastojala se od 128 podražaja te su učinjene dvije serije za svaku ispitanu situaciju. Parametri stimulacija (intenzitet i kontrast) tijekom svakog snimanja bili su konstantni. Svaka serija snimanja sastojala se od manjeg broja snimaka u različitim ispitnim situacijama ovisno o tome koji se dio vidnog polja podražuje. Cijelo vidno polje ispitivano je u cijelosti prikazanom šahovnicom. Za potrebe ispitivanja lateralnih te gornjeg i donjeg dijela vidnog polja odgovarajući dijelovi šahovnice bili su aktivni, dok su ostali dijelovi bili zatamnjeni. Snimanja su provedena pomoću sustava za snimanje evociranih potencijala Medelec Synergy, Oxford Instruments, UK. Istim sustavom učinjena je i automatizirana analiza ovisna o normativnim vrijednostima. Primjer snimljenih vidnih evociranih potencijala prikazan je na Slici 3.

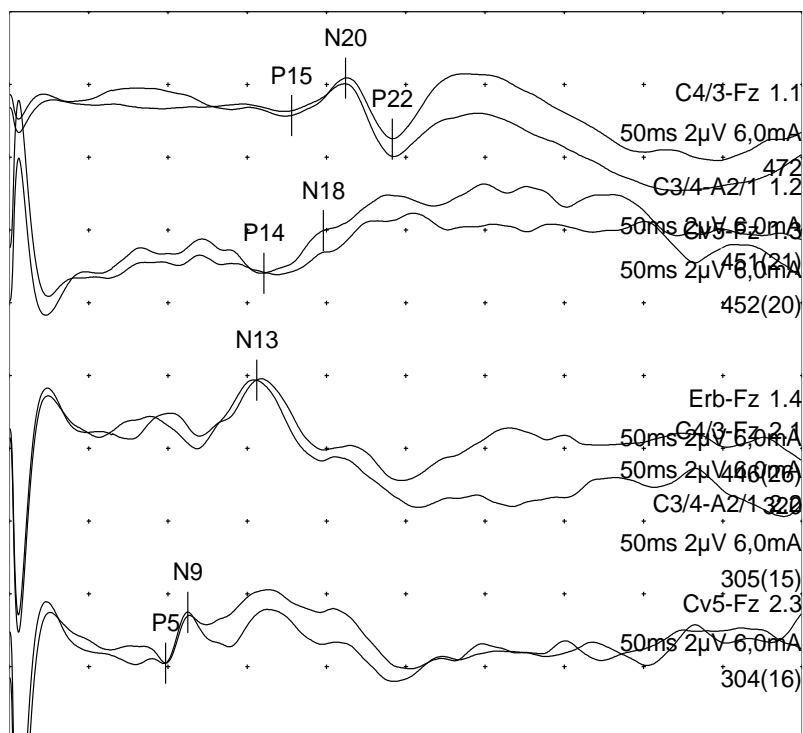


Slika 3. Primjer snimka urednih vidnih evociranih potencijala. Komponente odgovora od interesa su latencija vala P100 te N75-P100 amplituda.

4.2.1.6. Somatosenzorni evocirani potencijali medijanog i tibijalnog živca, SSEPt i SSEPm

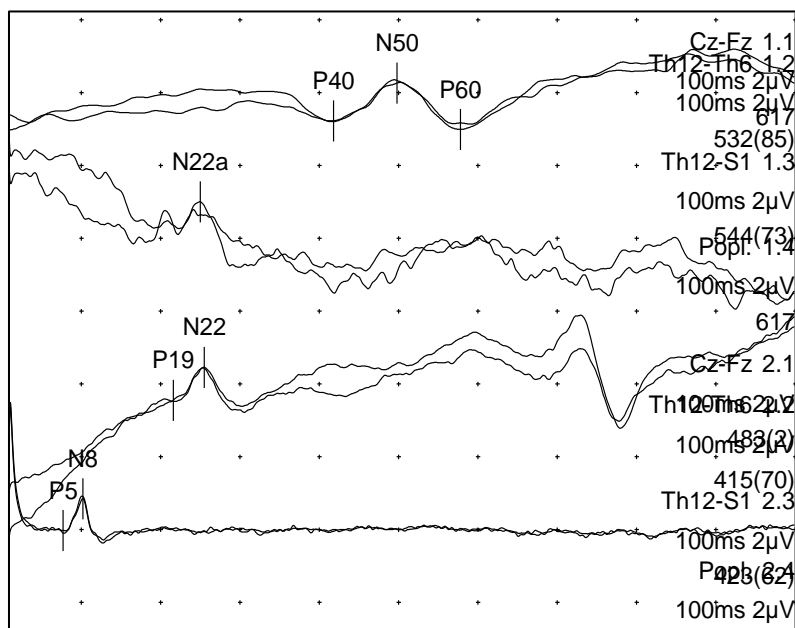
Stimulacija oba živca izvodila se monopolarnim pulsom pravokutnog valnog oblika trajanja $200\mu\text{s}$ s frekvencijom stimulacije od 5 Hz. Stimulacija medijanog živca rađena je u području ručnog zgloba, a stimulacija tibijanog živca u području skočnog zgloba. Intenzitet stimulacije ovisio je o individualnoj osjetljivosti ispitanika te je korišten onaj intenzitet električnog pulsog podražaja koji je dovodio do trzaja palca šake ili stopala ispitivane strane tijela.

Tijekom stimulacije medijanog živca evocirani potencijali snimani su elektrodama postavljenim iznad somatosenzornog korteksa, odnosno C3' i C4' elektrodama (7 cm lateralno od verteksa), te periferno C7 elektrodom i elektrodama u poziciji desne i lijeve Erbove točke. Aktivne elektrode referencirale su se na Fz elektrodu, a kao uzemljenje koristila se Cz' (1cm iza verteksa) elektroda. Svaka serija sastojala se od 512 podražaja te su provedene dvije serije snimanja kako bi se utvrdila reproducibilnost. Primjer SSEP-a medijanog živca prikazan je na Slici 4.



Slika 4. Primjer snimka urednog SSEP-a medijanog živca. Od interesa su latencije valova N13 i N20 te P15-N20 amplituda.

Tijekom stimulacije tibijalnog živca evocirani potencijali snimali su se u razini poplitealne jame, S2, Th12 i Th6 elektrodama te Cz' elektrodom. Za potrebe istraživanja u obzir su nisu uzimali odgovori zabilježeni u području poplitealne jame. Svaka od serija sastojala se od 1024 podražaja te su snimljene dvije serije radi utvrđivanja reproducibilnosti. Snimanja su provedena pomoću sustava za snimanje evociranih potencijala Medelec Synergy, Oxford Instruments, UK. Istim sustavom učinjena je i automatizirana analiza ovisna o normativnim vrijednostima. Slika 5 prikazuje primjer snimka SSEP-a tibijalnog živca.

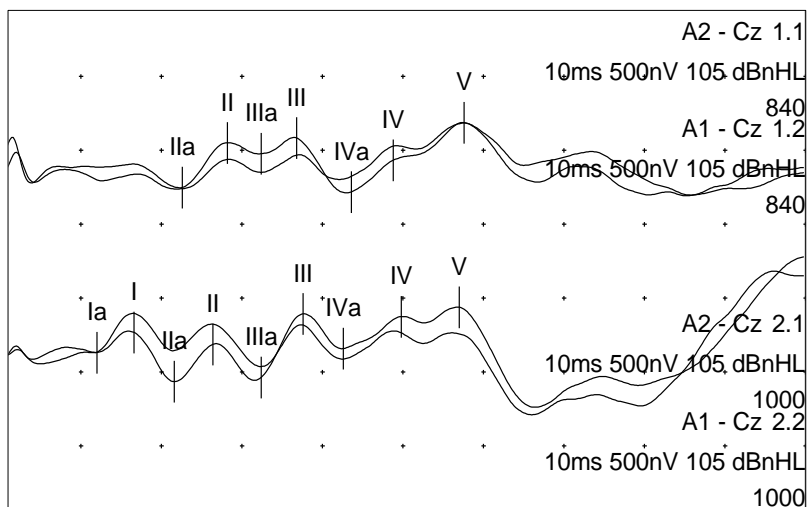


Slika 5. Primjer urednog snimka SSEP-a tibijalnog živca. Komponente od interesa su latencije valova N22a i P40 te P40-N50 amplituda

4.2.1.7. Slušni evocirani potencijali moždanog debla, BAEP

Kao zvučni podražaj korišten je klik trajanja 0.1 ms, koji je slušalicama producirana s frekvencijom od 10 Hz. Prije početka snimanja BAEP-a ustanovljen je perceptivni prag za svako uho ispitanika te je intenzitet zvučnog podražaja bio za 70dB viši od ustanovljenog praga podražaja. Tijekom snimanja, a kako bi se smanjio efekt koštanog provođenja zvuka na kontralateralno uho, na neispitivano uho ispitanike isporučena je bijela šum (eng. *white noise*) s intenzitetom zvuka za 30dB manjim nego za ispitivano uho. Evocirani potencijali snimani su aktivnim elektrodama postavljenim iznad mastoida koje su se referirale na Cz elektrodu. Kao uzemljenje korištena je Fz elektroda. Svaka serija snimanja sastojala se od 1000 podražaja za svako uho te su snimljene dvije serije radi utvrđivanja reproducibilnosti. Snimanja su provedena pomoću sustava za snimanje evociranih potencijala Medelec Synergy, Oxford Instruments, UK. Istim sustavom učinjena je i automatizirana analiza ovisna o normativnim vrijednostima. Primjer snimljenog odgovora prikazan je na Slici 6.

Slika 6. Primjer urednog odgovora BAEP-a. Komponente odgovora od interesa su latencije i amplitude valova III i V.

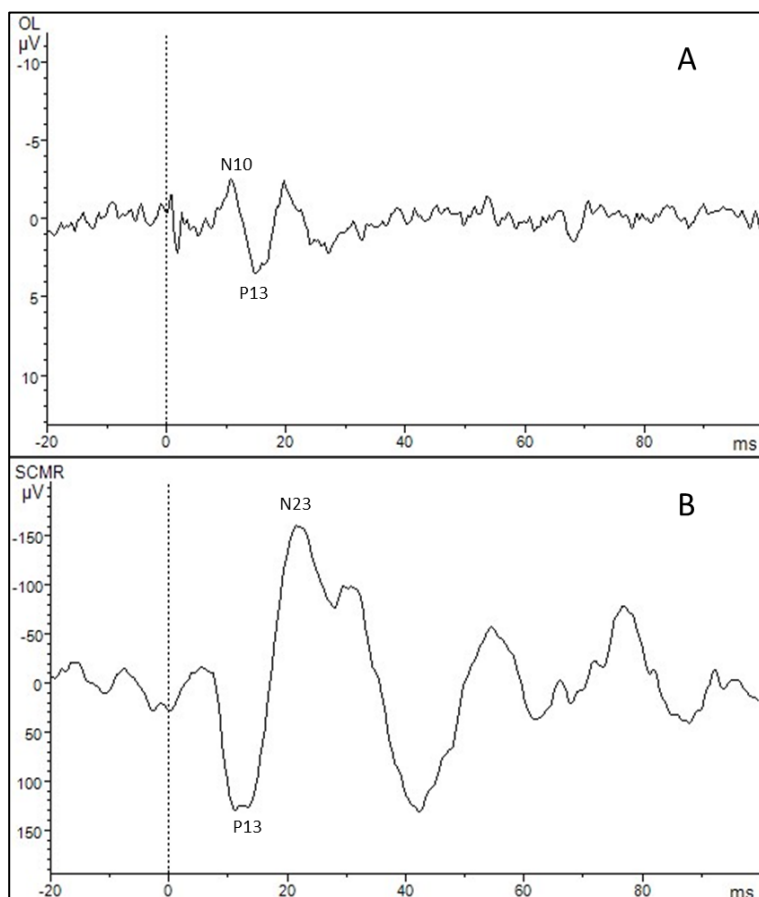


4.2.1.8. Vestibularni evocirano miogeni potencijali, VEMP

Tijekom snimanja VEMP-a kao podražaj koristio se zvučni klik intenziteta 130dB i trajanja 1 ms, a koji je slušalicama prezentiran na svako uho ispitanika. Svaka serija snimanja sastojala se od 50 podražaja koji su prezentirani frekvencijom od 1 Hz. Svaka je serija ponovljena dva puta za svako uho radi utvrđivanja ponovljivosti. Tijekom snimanja cervikalnih VEMP-ova (cVEMP) korištena je aktivna površinska disk elektroda postavljena na trbuh sternokleidomastoidnog mišića (SCM), a koja se referencirala na elektrodu postavljenu iznad tetive istog SCM-a. Tijekom snimanja okularnih VEMP-ova (oVEMP) aktivna elektroda postavljena je 2cm ispod oka kontralateralno od stimuliranog uha. Referentna elektroda nalazila se 1 cm ispod aktivne elektrode odgovarajućeg oka. Snimanje evociranih odgovora provedeno je pomoću pojačala i programske podrške Brain Products Vision Recorded (Njemačka) te se za analizu snimljenih podataka koristila programska podrška Brain Products Vision Analyzer (Njemačka). Snimljeni signal je filtriran pojasnim filterom od 5 Hz do 1000 Hz. Za potrebe analize snimljeni signal podijeljen je u segmente od 120 ms (20 ms prije pojave podražaja te 100 ms nakon podražaja) te usrednjen za svaki set od 50 ponavljanja. Tako obrađeni setovi podataka ponovno su usrednjeni (eng. *grand average*), kako bi se dobio jedinstveni set podataka za svako uho te je isti korišten za daljnju analizu. Za analizu cVEMP-a, a obzirom da je apsolutna amplituda evociranog odgovora ovisna o snazi mišićne kontrakcije te je stoga nepouzdana mjera, korištene su vrijednosti amplitude SCM-a normalizirane prema osnovnoj aktivnosti SCM-a. Kako bi se izračunala normalizirana amplituda odgovora zabilježenog na SCM-u, apsolutna P13-N23 amplituda

podijeljena je sa srednjom vrijednosti ispravljene aktivnosti SCM-a u periodu prije pojave podražaja. Slika 7 prikazuje primjer snimljenog oVEMP-a i cVEMP-a.

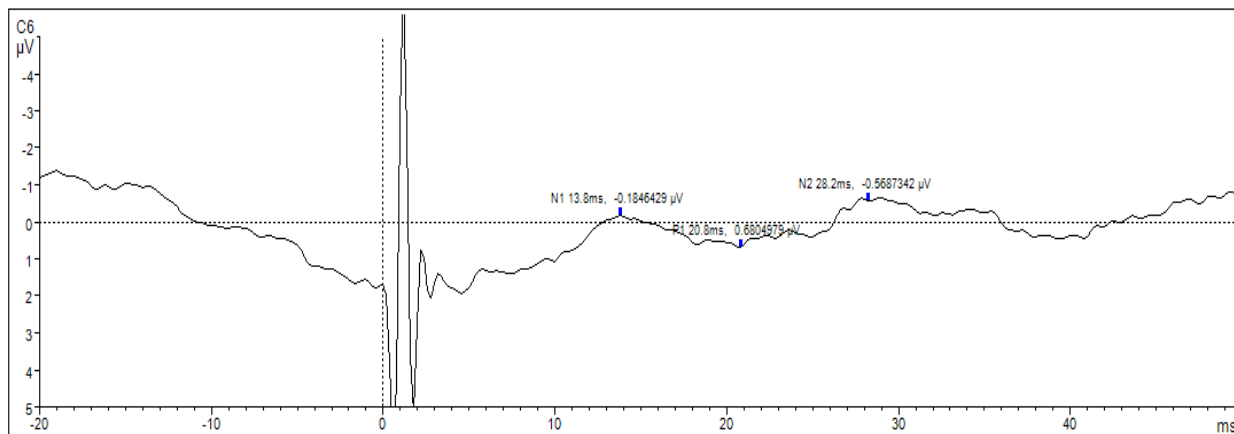
Slika 7. Prikazani su oVEMP (A) i cVEMP (B) dobiveni na zvučnu stimulaciju desnog uha. A) prikazan je uredan odgovor vestibulookularnog puta, odnosno oVEMP. Od interesa su latencije valova N10 i P13 te apsolutna amplituda vala N10-P13. Vestibulookularni put je ukrižen te se stimulacijom desnog uha bilježi odgovor ispod lijevog oka. B) prikazan je uredan odgovor vestibulospinalnog puta, cVEMP. Od interesa su latencije valova P13 i N23 te normalizirana apsolutna amplituda vala P13-N23. Odgovor je ipsilateralan, odnosno snimljen je iznad desnog SCM-a.



4.2.1.9. Somatosenzorni evocirani potencijali jezika, SSEPj

Za prezentiranje podražaja korištene su modificirane EEG elektrode koje su postavljene na prve dvije trećine jezika s gornje i donje strane desne ili lijeve strane.

Podražaj je generiran stimulatorom konstantne struje (Twister, Njemačka). Frekvencija stimulacije iznosila je 3 Hz, a trajanje svakog podražaja bilo je 0.2 ms. Polaritet stimulacije je bio izmjeničan kako bi se izbjegli artefakti vezani uz električnu stimulaciju. Za svaku stranu jezika provedene su dvije serije od 300 prezentiranih podražaja kako bi se utvrdila reproducibilnost snimljenih odgovora. Prije početka snimanja za svakog ispitanika se ustanovio prag percepcije podražaja te je tijekom snimanja korišten intenzitet stimulacije koji je bio tri puta viši od ustanovljenog praga. Kortikalni odgovor registrirao se aktivnim elektrodama postavljenim na kontralateralnu stranu od podraživane strane jezika – tijekom podraživanja desne strane jezika odgovor se bilježio C5 elektrodom postavljenom između C3 i T3 elektrode prema Internacionalnom 10/20 sistemu, dok se za snimanje odgovora tijekom stimulacije lijeve strane jezika koristila elektroda C6 postavljena između C4 i T4 elektroda. Obje su se elektrode referirale na Fz elektrodu, dok je Cz elektroda korištena kao uzemljenje. Evocirani kortikalni odgovori snimani su pomoću programske podrške Brain Products Vision Recorder (Njemačka), a za analizu snimljenih podataka korištena je programska podrška Brain Products Vision Analyzer (Njemačka). Signal je filtriran pojasnim filterom od 0.1 Hz do 1000 Hz. Frekvencija uzorkovanja bila je 5000 Hz. Za potrebe analize signal je podijeljen u intervale od 70 ms (20 ms prije te 50 ms nakon pojave podražaja) te je potom usrednjen odgovor dvije serije od 300 podražaja. Potom su dva usrednjena seta podataka ponovno usrednjena (eng. *grand average*) kako bi se dobio jedinstveni set podataka za svaku stranu te je navedeno korišteno u daljnjoj analizi snimljenih odgovora. Primjer snimljenog SSEP-a jezika prikazan je na Slici 8.



Slika 8. Prikazan je kortikalni odgovor dobiven stimulacijom lijeve strane jezika. Obzirom da je trigeminalni put ukrižen odgovor se snima C6 elektrodom, koja se nalazi nad desnom hemisferom. U analizi odgovora od interesa su valovi N1, P1 i N2. Glavna komponenta ovog odgovora je val P1, no u slučaju izostanka valova N1 ili N2 radi se o promijenjenoj morfologiji odgovora što također može upućivati na oštećenje ovog živčanog puta.

4.2.1.10. Zbroj evociranih potencijala, EP zbroj

Koristeći podatke analize prethodno navedenih modaliteta EP-ova, rezultat svakog od njih kvantificiran je u obliku zbroja. Za izračunavanje VEP zbroja analizirane su P100 latencije, N75-P100 amplitude i razlike u P100 latencijama odgovora snimljenih na stimulaciju dva oka. Prilikom izračuna BAEP zbroja u analizi su korištene latencije valova III i V, interlatencija III-V, te razlike u navedenim latencijama i interlatenciji između odgovora snimljenih podraživanjem desnog i lijevog uha, kao i amplitude valova III i V. Kod izračuna SSEPm zbroja analizirane su latencije valova N13 i N20 te razlike u navedenim latencijama

između odgovora dobivenih stimulacijom lijeve i desne strane, te amplitude P15-N20. Za izračun SSEPt zbroja u obzir su uzete latencije N22a i P40 valova, razlika između desne i lijeve strane u navedenim latencijama te amplitude P40-N50. Za izračun VEMP zbroja analizirane su latencije P13 i N23 valova te normalizirana P13-N23 amplituda za cVEMP, te latencije N10 i P13 valova i amplituda N10-P13 za oVEMP. SSEPj zbroj izračunao se na temelju latencije vala P1 i morfologije N1, P1 i N2 valova. Za svaki od modaliteta zbroj se izračunao ovisno o normativnim vrijednostima na sljedeći način: 0 = uredan odgovor, 1 = produžene latencije, 2 = smanjena amplituda ili nepravilna morfologija odgovora, 3 = izostali odgovor. Obzirom da se prilikom izvođenja svakog od navedenih modaliteta EP-ova snima odgovor s obje strane tijela zbroj svakog pojedinačnog modaliteta može iznositi 0-6, osim VEMP zbroja koji, zbog okularnih i cervikalnih odgovora snimljenih na obje strane, može imati vrijednosti od 0-12. Ukupno EP zbroj može imati vrijednost od 0-42.

Latencije su smatrane produženima ukoliko su bile za više od 2.5 standardne devijacije duže od srednje normativne vrijednosti laboratorija. Smanjena amplituda definirana je kao ona amplituda koja je za jednu standardnu devijaciju manja od srednje normativne vrijednosti laboratorija ili ukoliko je amplituda za 50% manja u odnosu na kontralateralnu stranu. Odgovor s nepravilnom morfologijom definiran je kao onaj odgovor kojemu nedostaju određeni karakteristični valovi (val III kod BAEP-a, val N13 kod SSEPm, val N22a kod SSEPt, valovi N1 ili N2 kod SSEPj). U slučaju da je u registriranom odgovoru izostao glavni val (P100 kod VEP-a, P40 kod SSEPt, N20 kod SSEPm, P1 kod SSEPj, val V kod BAEP-a, P13-N23 i N10-P13 valovi kod VEMP-a) radilo se o izostalom odgovoru. Pregled izračuna EP zbroja prikazan u Tablici 3.

Tip odgovora	Bodovanje		
Uredan odgovor	0		
Produžena latencija	1		
Smanjena amplituda ili nepravilna morfologija	2		
Izostanak odgovora	3		
	Desno	Lijevo	Ukupno
VEP	0-3	0-3	0-6
BAEP	0-3	0-3	0-6
SSEP n. medianus	0-3	0-3	0-6
SSEP n. tibialis	0-3	0-3	0-6
VEMP cervikalni okularni	0-3	0-3	0-12
	0-3	0-3	
SSEP n. trigeminus	0-3	0-3	0-6
EP zbroj	0-21	0-21	0-42

Tablica 3. Dijagram prikazuje metodu izračuna EP zbroja te raspon pojedinačnih zbrojeva svakog od korištenih modaliteta evociranih potencijala. VEP – vidni evocirani potencijali, SSEP somatosenzorni evocirani potencijali, VEMP – vestibularno evocirani miogeni potencijali. BAEP – slušni evocirani potencijali moždanog debla.

4.2.2. Period praćenja

Tijekom prve dvije godine praćenja ispitanici su kontrolirani svakih 6 mjeseci, a nakon tog perioda barem jedanput godišnje. Tablica 4 prikazuje plan prikupljanja podataka tijekom perioda praćenja. U nastavku su definirane varijable praćenja koje nisu definirane u prethodnom tekstu:

Relaps i klinički definitivna multipla skleroza (CDMS)

- na svakoj viziti provjereno je da li je ispitanik u kontrolnom intervalu imao novih relapsa MS-a. Relaps je definiran kao pogoršanje neurološkog statusa akutnog ili subakutnog nastupa, koje se može povezati s demijelinizacijskom lezijom SŽS-a u odsutnosti febriliteta ili infektivne bolesti, a koje je trajalo najmanje 24h.
- Kriterij za CDMS zadovoljen je pojavom novog relapsa tijekom perioda praćenja.

Neuroradiološka aktivnost bolesti

- svi ispitanici dobili su preporuku učiniti kontrolni MR mozga i vratne kralježnice barem jedanput godišnje što je standard kliničkog praćenja MS-a. Svi ispitanici učinili su prvi kontrolni MR mozga (i vratne kralježnice) 6-12 mjeseci od uključenja u studiju. Na svakoj sljedećoj viziti provjereno je da li je određeni ispitanik učinio novi kontrolni MR te se utvrdila eventualna

neuroradiološka aktivnost bolesti, odnosno pojava novih T2 hiperintenzivnih ili T1 kontrastom imbibiranih lezija u usporedbi s prethodnim MR-om.

Održano nakupljanje onesposobljenosti (SAD)

- SAD (eng. *sustained accumulation of disability*) je definiran kao porast EDSS-a za 1,5 ukoliko je početna vrijednost EDSS-a bila 0 ili porast od 1,0 ukoliko je početni EDSS bio veći od 0, uz nepromijenjeni ili veći EDSS nakon tri mjeseca.

Kompozitna mjera nakupljanja onesposobljenosti (cSAD)

- kako bi se stekao što bolji uvid u kliničku progresiju bolesti, kao dodatna varijabla praćenja korištena je kombinacija EDSS-a, 9HPT-a i T25FWT-a. U ovoj kompozitnoj mjeri progresije osim gore navedene definicije SAD-a, u obzir se uzimalo i pogoršanje u rezultatima 9HPT-a i T25FWT-a u iznosu od $\geq 20\%$ u odnosu na početne vrijednosti u dvogodišnjem intervalu praćenja. Sličan pristup ranije su opisali Wolinsky i sur. u studiji koja je uključivala bolesnike s PPMS-om (78). Kriteriji za cSAD bili su zadovoljeni ako je bolesnik zadovoljio ranije navedene kriterije za SAD ili je u dvogodišnjem kontrolnom intervalu nastupilo pogoršanje rezultata u barem jednom od testova (9HPT ili T25FWT) za $\geq 20\%$.

Mjesec	Dvogodišnje praćenje				Nastavak praćenja	
	6	12	18	24	24-36	36-48
EDSS	X	X	X	X	X	X
SAD	X	X	X	X	X	X
Novi relaps	X	X	X	X	X	X
Zadovoljavanje kriterija za CDMS	X	X	X	X	X	X
Neuroradiološka aktivnost bolesti (MR) *	X	X	X	X	X	X
MSFC	-	-	-	X	-	-
cSAD	-	-	-	X	-	-

Tablica 4. Prikazan je plan prikupljanja podataka tijekom perioda praćenja. Tijekom prve dvije godine ispitanici su kontrolirani u 6-mjesečnim intervalima, dok su u nastavku praćenja kontrolirani najmanje jedanput godišnje. * MR mozga nije rađen na svakoj navedenoj viziti, već je na svakoj viziti provjereno da li je ispitanik učinio novi kontrolni MR te da li je neuroradiološki utvrđena nova aktivnost bolesti. EDSS – expanded disability status scale, SAD – održano nakupljanje onesposobljenosti, MSFC – multiple sclerosis functional composite (sastoji se od 9HPT, 25FWT i PASAT-a), cSAD – kompozitna mjera nakupljanja onesposobljenosti.

4.2.3. Statistička analiza

Temeljem provedene power analize za Exact test, gdje veličina istraživanog efekta iznosi 0.4 (prema podacima iz prethodno objavljenih studija), snaga testa iznosi 95% te nivo značajnosti 0.05, ustanovljeno je da je za provođenje ovog istraživanja potrebno uključiti najmanje 70 ispitanika. Zbog potencijalnog gubitka bolesnika tijekom praćenja, u ovo

istraživanje je uključen veći broj bolesnika od navedenog minimalnog broja. Power analiza je provedena korištenjem GPower 3.1 programa.

Za statističku analizu prikupljenih podataka korišten je IBM SPSS software, verzija 25. Kako bi se ustanovilo imaju li podaci normalnu distribuciju korišten je Kolmogorov-Smirnov test. Analiza krivulja osjetljivosti (eng. *receiver operating characteristic*, ROC krivulja) korištena je kod utvrđivanja osjetljivosti i specifičnosti određenih (eng. *cut-off*) vrijednosti EP zbroja. Univarijabilna logistička regresija korištena je kako bi se odredila predikcijska vrijednosti osnovnih kliničkih, neuroradioloških i neurofizioloških parametara u predviđanju novih relapsa, MR-om dokazane aktivnosti bolesti ili SAD-a. Na temelju provedene analize, varijable s najvećom značajnosti ($p < 0.05$) su uključene u model multivarijabilne logističke regresije (ukupan broj T2 hiperintenzivnih lezija, EP zbroj, dob i spol) kako bi se utvrdilo koje varijable su statistički značajni prediktori za SAD. Analiza preživljavanja (eng. *survival analysis*) provedena je pomoću Kaplan-Maier krivulja kako bi se procijenio kumulativni rizik za SAD, te pomoću Coxovog regresijskog modela kako bi se ustanovio omjer rizika (eng. *hazard ratio*, HR) za EP zbroj korigiran za dob, spol i ukupan broj T2 hiperintenzivnih lezija. P vrijednosti manje od 0.05 smatrane su statistički značajnima.

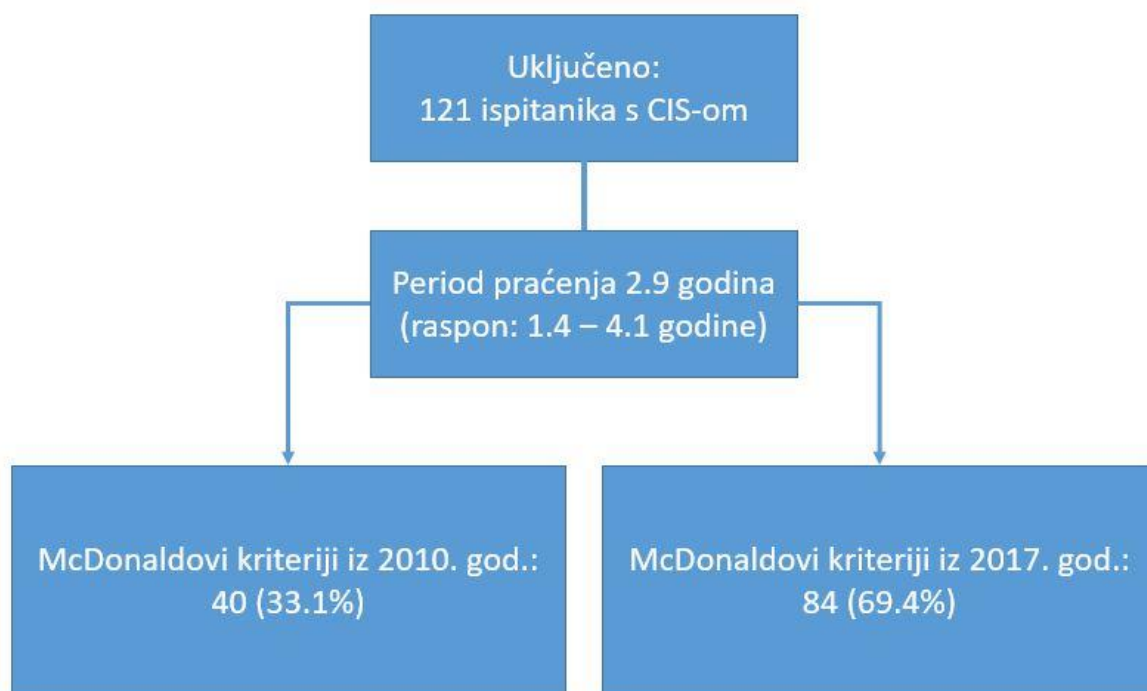
5. REZULTATI

U istraživanje je inicijalno uključeno 121 osoba s CIS-om. Tijekom perioda praćenja podaci o broju relapsa, EDSS-u te barem jedan učinjeni MR mozga u periodu 6-12 mjeseci od uključivanja u studiju bili su dostupni za ukupno 94 (77.7%) ispitanika čiji su podaci uključeni u završnu analizu. Nadalje, 72 (59.5%) ispitanika imalo je podatke o rezultatima MSFC-a na početku istraživanja te 24 mjeseca nakon početka istraživanja. Osnovni podaci o uključenim ispitanicima nalaze se u Tablici 5.

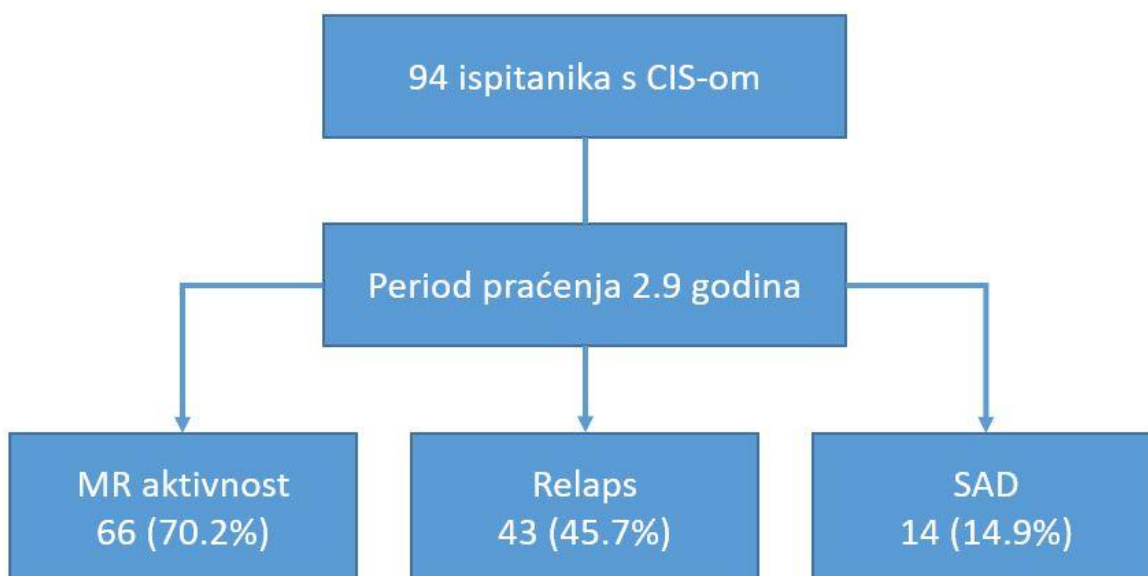
Srednje vrijeme praćenja iznosilo je 2.9 godina (raspon 1.4-4.1 godina). Od početno uključenih 121 bolesnika s CIS-om, njih ukupno 40 (33.1%) zadovoljilo je kriterije za postavljanja dijagnoze multiple skleroze prema McDonaldovim kriterijima iz 2010. godine. Tijekom perioda praćenja ovog istraživanja objavljena je revizija McDonaldovih kriterija u 2017. godini te je prema ovim kriterijima 84 od 121 (69.4%) zadovoljilo kriterije za postavljanje dijagnoze MS-a (Slika 9). Tijekom perioda praćenja 43 (45.7%) ispitanika imalo je relaps bolesti, kod 66 (70.2%) ispitanika MR-om je dokazana aktivnost bolesti te je 14 (14.9%) ispitanika imalo SAD (Slika 10).

	Početna kohorta			Kohorta u praćenju			
	N	^a srednja vrijednost ±SD		N	^a srednja vrijednost ±SD		
		^b N (%)	^c medijan (raspon)		^b N (%)	^c medijan (raspon)	
Dob, godine	121	32.2 ± 8.7 ^a		94	31.6 ± 8.7 ^a		
Ženski spol	121	85 (70.2) ^b		94	67 (71.3) ^b		
Tip CIS-a	optički neuritis	35 (28.9) ^b		30 (31.9) ^b			
	transverzni mijelitis	40 (33.1) ^b		29 (30.9) ^b			
	moždano deblo/cerebelum	28 (23.1) ^b		22 (23.4) ^b			
	cerebralni	14 (11.6) ^b		11 (11.7) ^b			
	multifokalni	4 (3.3) ^b		2 (2.1) ^b			
EDSS	121	1 (0-3.5) ^c		94	1.5 (0-3.5) ^c		
MR	Broj T2 lezija	121	11 (0-76) ^c		94	11 (0-76) ^c	
	Lezije moždanog debla	121	54 (44.6) ^b		94	42 (44.7) ^b	
	Lezije vratne moždine	91	52 (43.0) ^b		68	40 (42.6) ^b	
MSFC	T25FW *	119	4.10 (2.75-10.25) ^c		93	4.29 ± 0.81 ^a	
	9HPT dominantna ruka *	119	19.60 (14.65-300) ^c		93	19.50 (14.65-300) ^c	
	9HPT nedominantna ruka *	119	20.45 (15.70-42.80) ^c		93	20.45 (15.70-42.80) ^c	
	PASAT *	119	53 (19-60) ^c		93	54 (19-60) ^c	
	MSFC *	119	0.0013 ± 0.7266 ^a		93	0.0580 ± 0.6841 ^a	
Evocirani potencijali	VEP zbroj	121	1 (0-4) ^c		94	1 (0-4) ^c	
	SSEPM zbroj	121	2 (0-5) ^c		94	2 (0-5) ^c	
	SSEPt zbroj	121	0 (0-6) ^c		94	0 (0-5) ^c	
	BAEP zbroj	121	2 (0-4) ^c		94	2 (0-4) ^c	
	VEMP zbroj	121	4 (0-12) ^c		94	4 (0-12) ^c	
	SSEPj zbroj	115	1 (0-6) ^c		90	1.5 (0-6) ^c	
	EP zbroj	115	11 (1-27) ^c		90	10 (1-22) ^c	
	EP zbroj >13	115	41 (35.7) ^b		90	29 (32.2) ^b	

Tablica 5. Osnovne karakteristike ispitanika prilikom početka sudjelovanja u studiji. Broj T2 lezija odnosi se na ukupni broj T2 hiperintenzivnih lezija na učinjenom MR-u mozga, odnosno MR-u mozga i vratne moždine ukoliko je potonja učinjena prije uključanja u ispitivanje. CIS – klinički izolirani sindrom, MR – magnetska rezonancija, MSFC – *Multiple Sclerosis Functional Composite-a*.



Slika 9. Dijagram prikazuje broj (postotak) uključenih bolesnika s CIS-om koji je tijekom perioda praćenja zadovoljio kriterije za postavljanje dijagnoze multiple skleroze. Srednje vrijeme praćenja iznosilo je 2.9 godina, a raspon praćenja ovisno o pojedinom ispitaniku iznosio je 1.4 – 4.1 godina. Obzirom da je tijekom trajanja istraživanja objavljena nova revizija McDonaldovih kriterija prikazani su rezultati prema obje verzije McDonaldovih kriterija.



Slika 10. Dijagram prikazuje broj (postotak) ispitanika kod kojih je došlo do nekog oblika pogoršanja – prikazani su rezultati analize učinjene na ukupno 94 ispitanika koji su imali dostupne sve potrebne podatke tijekom perioda praćenja. MR aktivnost podrazumijeva nove T2 hiperintenzivne lezije sa ili bez postkontrastne imbibicije na T1 postkontrastnim sekvencama ili novozabilježenu aktivnost u smislu postkontrastne imbibicije starih lezija tijekom perioda praćenja. SAD – održano nakupljanje onesposobljenosti.

Analizom ROC krivulje ustanovljena je da vrijednost EP zbroja od 13 ima osjetljivost od 64.3% i specifičnost od 73.7% za postizanje SAD te je ta vrijednost odabrana kao granična vrijednost za daljnju analizu. Univarijabilna logistička regresija korištena je da bi se utvrdilo koje su od varijabli prikupljenih prilikom uključivanja u istraživanje (prikazane u deskriptivnom obliku u Tablici 5) mogući prediktori za novi relaps bolesti, novu aktivnost bolesti dokazanu kontrolnim MR mozga (i MR-om vratne moždine ukoliko je učinjena) ili zadovoljavanje kriterija za SAD. Kao jedini statistički značajni prediktor za pojavu novog relapsa, a time i zadovoljavanja kriterija za CDMS nađen je ukupni broj T2 hiperintenzivnih lezija na inicijalnom MR-u mozga (i vratne moždine) kod uključivanja u istraživanje. Niti jedna od ispitivanih varijabli nije se pokazala kao statistički značajan prediktor aktivnosti bolesti dokazane kontrolnim MR-om. Ukupan broj T2 lezija, EP zbroj i EP zbroj >13 su utvrđeni kao statistički značajni prediktori za SAD. Svi rezultati navedene univarijabilne logističke regresijske analize prikazani su u Tablici 6.

		Exp(B)	95% CI za EXP(B)		p vrijednost
Novi relaps bolesti	Dob, godine	0.996	0.951	1.045	0.884
	Spol	1.145	0.468	2.804	0.767
	EDSS	0.712	0.460	1.103	0.129
	T25FW	0.749	0.432	1.299	0.303
	9HPT dominantna ruka	0.992	0.966	1.018	0.521
	9HPT ne-dominanta ruka	1.002	0.903	1.112	0.968
	PASAT	1.001	0.958	1.047	0.956
	MSFC	1.11	0.607	2.027	0.735
	Broj T2 lezija	1.027	1.000	1.055	0.047
	Lezije moždanog debla	0.964	0.426	2.180	0.929
	Lezije vratne moždine	2.200	0.815	5.937	0.120
	EP zbroj	1.032	0.945	1.126	0.484
	EP zbroj >13	1.442	0.594	3.504	0.419
MR-om dokazana aktivnost bolesti	Dob, godine	1.001	0.951	1.054	0.959
	Spol	0.792	0.303	2.069	0.634
	T25FW	1.051	0.6	1.842	0.861
	9HPT dominantna ruka	1.071	0.927	1.238	0.354
	9HPT ne-dominanta ruka	1.115	0.957	1.298	0.162
	PASAT	0.983	0.935	1.034	0.517
	MSFC	0.727	0.362	1.46	0.371
	EDSS	1.052	0.662	1.671	0.831
	Broj T2 lezija	1.011	0.982	1.040	0.463
	Lezije moždanog debla	0.904	0.372	2.197	0.824
	Lezije vratne moždine	1.941	0.684	5.507	0.213
	EP zbroj	0.979	0.890	1.076	0.656
	EP zbroj >13	0.676	0.260	1.755	0.421
Održano nakupljanje onesposobljenosti (SAD)	Dob, godine	1.049	0.985	1.118	0.133
	Spol	1.465	0.442	4.855	0.533
	EDSS	0.637	0.340	1.194	0.160
	T25FW	1.024	0.511	2.051	0.946
	9HPT dominantna ruka	0.996	0.967	1.026	0.797
	9HPT ne-dominanta ruka	1.101	0.975	1.244	0.119
	PASAT	0.977	0.922	1.034	0.42
	MSFC	0.68	0.315	1.469	0.327
	Broj T2 lezija	1.034	1.004	1.065	0.027
	Lezije moždanog debla	0.646	0.199	2.098	0.467
	Lezije vratne moždine	3.250	0.634	16.648	0.157
	EP zbroj	1.149	1.016	1.300	0.027
	EP zbroj >13	5.040	1.508	16.844	0.009

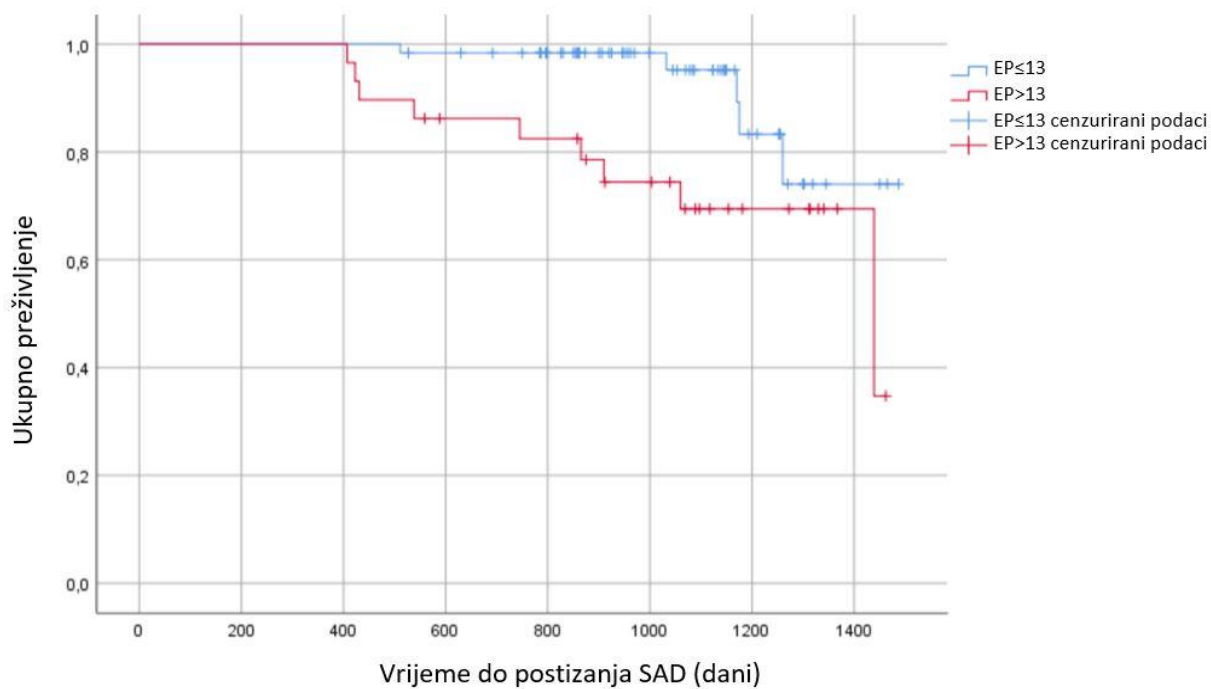
Tablica 6. Rezultati univarijabilne logističke regresijske analize s ciljem ispitivanja prediktivnih vrijednosti osnovnih kliničkih, neuroradioloških i neurofizioloških parametara. U krajnjoj lijevoj koloni navedeni su ishodi za koje se ispivala prediktivna vrijednost navedenih parametara. Istaknuti su statistički značajni rezultati. CI – interval pouzdanosti (eng. *confidence interval*), Exp (B) – omjer rizika za specifični ishod prediktora.

Kako bi se ispitala vrijednost pojedinih modaliteta evociranih potencijala u predviđanju progresije bolesti izražene SAD-om provedena je dodatna univarijabilna logistička regresija. Kao jedini statistički značajan prediktor SAD-a utvrđen je VEP zbroj. Rezultati su prikazani u Tablici 7.

	Održano nakupljanje onesposobljenosti			
	Exp(B)	95% CI za Exp(B)		p vrijednost
VEP zbroj	1.443	1.012	2.056	0.043
SSEpm zbroj	1.293	0.887	1.887	0.182
SSEpt zbroj	1.277	0.916	1.778	0.149
BAEP zbroj	1.183	0.801	1.749	0.398
VEMP zbroj	1.096	0.896	1.34	0.372
SSEPj zbroj	0.983	0.714	1.353	0.917

Tablica 7. Rezultati univarijabilne regresijske analize s ciljem ispitivanja vrijednosti pojedinačnih zbrojeva evociranih potencijala u predviđanju održanog nakupljanja onesposobljenosti (SAD). Istaknuti su statistički značajni rezultati. CI – interval pouzdanosti (eng. *confidence interval*). Exp (B) – omjer rizika za specifični ishod prediktora.

Kaplan-Meierova analiza preživljavanja prikazana je na Slici 11. Analiza je pokazala da je vjerojatnost da ispitanici s EP zbrojem >13 ne zadovolje kriterije za SAD statistički značajno manja u odnosu na ispitanike s EP zbrojem ≤13 (p=0.017). Ispitanici s EP zbrojem ≤13 imali su 74.2% manji relativni rizik za SAD.



Slika 11. Kaplan-Meierova krivulja preživljenja prikazuje vrijeme do razvoja održanog nakupljanja onesposobljenosti (SAD) kod ispitanika s EP zbrojem >13 (crveno) i ispitanika s EP zbrojem ≤13 (plavo)

Multivarijabilni logistički regresijski model u koji su uključeni dob, spol, ukupni broj T2 lezija i EP zbroj >13 pokazao je da su ukupan broj T2 lezija i EP zbroj >13 statistički značajni prediktori za SAD. Rezultati su prikazani u Tablici 8.

	Održano nakupljanje onesposobljenosti			p vrijednost
	Exp(B)	95% CI za Exp(B)		
Dob, godine	1.069	0.992	1.152	0.082
Spol	1.571	0.387	6.373	0.527
Ukupan broj T2 lezija	1.05	1.013	1.088	0.008
EP zbroj >13	5.059	1.367	18.72	0.015

Tablica 8. Rezultati multivarijabilne regresijske analize za ovisnu varijablu održanog nakupljanja onesposobljenosti (SAD) s nezavisnim parametrima koji su se pokazali kao najznačajniji prediktori u univarijabilnoj analizi. Istaknuti su statistički značajni rezultati.

Da bi se utvrdilo ovisi li ova prediktivna vrijednost EP zbroja o dodatno uvedenim nešto novijim metodama za ispitivanje funkcije moždanog debla koje nisu u širokoj primjeni (VEMP i SSEPj), izračunat je i dodatni EP zbor koji je uključivao samo konvencionalne neurofiziološke metode (tj. VEP, BAEP, SSEPt i SSEPm) – standardni EP (sEP) zbroj te je učinjena multivarijabilna regresijska analiza za SAD koja je uključivala sljedeće varijable: dob, spol, ukupni broj T2 lezija na početnom MRI-u i sEP. U ovoj analizi, kao jedini statistički značajan faktor ponovno se pokazao ukupni broj T2 lezija, dok sEP u ovom slučaju nije imao prediktivnu vrijednost (Tablica 9). Analiza je pokazala da bez navedenih neurofizioloških metoda, koje nisu u širokoj primjeni, sEP zbroj nije postigao značajnost za predviđanje SAD-a.

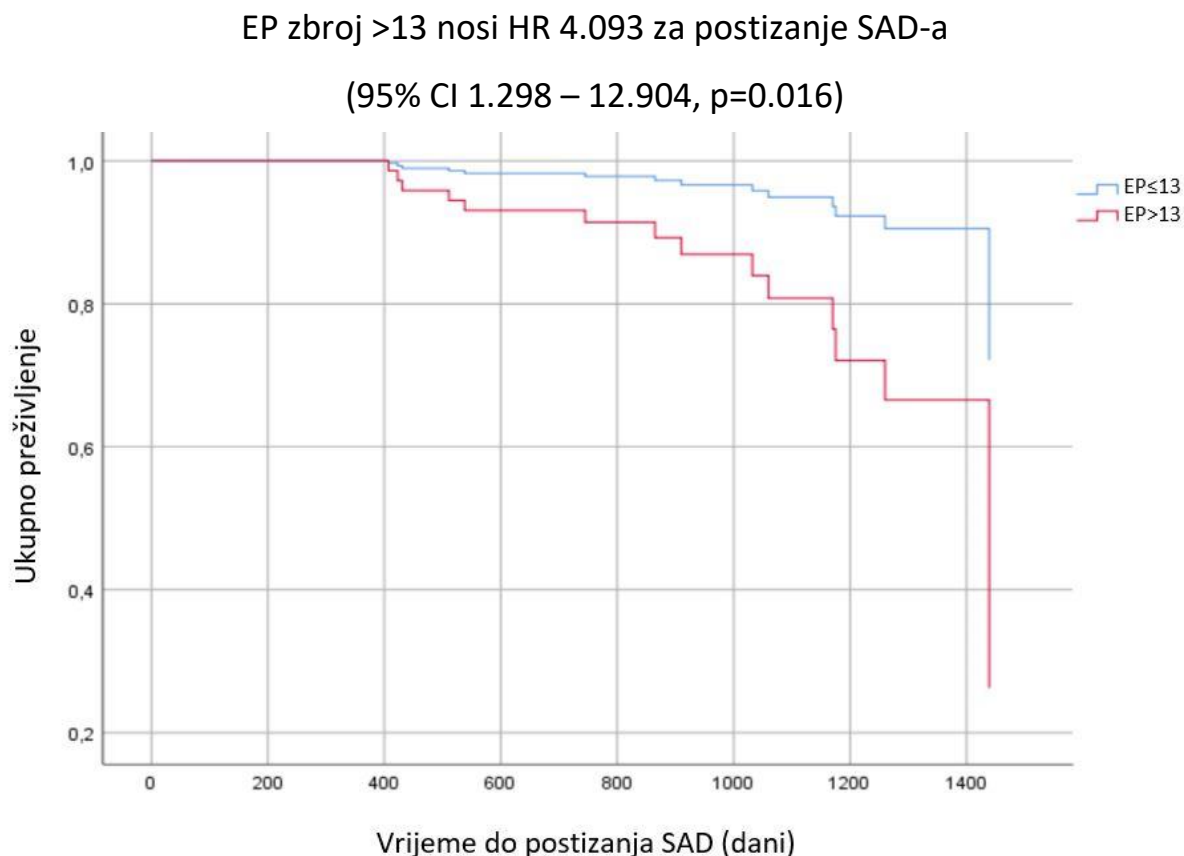
	Održano nakupljanje onesposobljenosti			p vrijednost
	Exp(B)	95% CI za Exp(B)		
Dob, godine	1.068	0.993	1.148	0.075
Spol	1.297	0.293	5.379	0.732
Ukupan broj T2 lezija	1.043	1.007	1.08	0.019
sEP zbroj	1.156	0.968	1.38	0.11

Tablica 9. Rezultati multivarijabilne regresijske analize s ciljem ispitivanja postojanja dodatne vrijednosti koju nosi uključivanje VEMP-a i tSSEP-a u standardni EP (sEP) zbroj s ciljem predviđanja SAD-a. sEP zbroj nije postigao statističku značajnost. Istaknuti su statistički značajni rezultati.

Rezultati Cox regresijske analize (Tablica 10) pokazali su da su dob, ukupan broj T2 lezija i EP zbroj >13 statistički značajni prediktori za SAD. Nakon kontroliranja za dob, spol i ukupan broj T2 lezija rizik za SAD kod ispitanika s EP zbrojem >13 bio je 4.093 puta veći nego za ispitanike čiji je EP zbroj iznosio ≤13. Modelom predviđeno vrijeme za postizanje SAD u ovisnosti o EP zbroju >13 prikazano je krivuljom preživljavanja na Slici 12.

	Održano nakupljanje onesposobljenosti			p vrijednost
	HR	95% CI za HR		
Dob, godine	1.086	1.021	1.155	0.009
Spol	2.101	0.619	7.13	0.234
Ukupan broj T2 lezija	1.038	1.007	1.07	0.015
EP zbroj >13	4.093	1.298	12.904	0.016

Tablica 10. Prikazani su rezultati modela Coxove regresijske analize za postizanje SAD-a. Istaknuti su statistički značajni rezultati.



Slika 12. Krivulja preživljenja Coxovog regresijskog modela prikazuje modelom predviđeno vrijeme postizanja SAD za ispitanike s EP zbrojem >13 (crveno) i ispitanike s EP zbrojem ≤13 (plavo).

Obzirom na u uvodu spomenute mane EDSS-a kao skale za praćenje bolesnika s MS-om, kreirana je kompozitna mjera progresije bolesti koja je uz kriterije za SAD uključivala i pogoršanje nalaza 9HPT-a i 25FWT-a za $\geq 20\%$ u dvogodišnjem intervalu - cSAD. Od ukupno 75 ispitanika koji su u dvogodišnjem periodu imali utvrđeni SAD ili učinjene 9HPT i 25FWT na dvogodišnjoj kontroli, njih 15 (20%) imalo je progresiju bolesti izraženu u obliku cSAD-a. Multivarijabilnom analizom koja je uključivala dob, spol, ukupan broj T2 lezija na MR-u mozga (i kralježnične moždine) te EP zbroj >13 ustanovljeno je da EP zbroj >13 ima veću

vjerojatnost za progresiju bolesti izraženu cSAD-om (Exp(B)=5.577, 95% CI=1.520-20.468, p=0.01). Svi rezultati ove analize prikazani su u Tablici 11.

	Kompozitna mjera progresije, cSAD			
	Exp(B)	95% CI za Exp(B)		p vrijednost
Dob, godine	1.073	1	1.151	0.049
Spol	0.57	0.14	2.311	0.431
Ukupan broj T2 lezija	1.003	0.963	1.045	0.892
EP zbroj >13	5.577	1.52	20.468	0.01

Tablica 11. Rezultati modela multivarijabilne regresijske analize za postizanje kompozitne mjere progresije bolesti, cSAD. Istaknuti su statistički značajni rezultati.

6. RASPRAVA

Danas, kada su mogućnosti odabira terapijskog pristupa određenom bolesniku s MS-om puno veće nego prije, postoji još veća potreba za pouzdanim prediktivnim čimbenicima koji će u ranom stadiju ukazivati na budući klinički tijek bolesti te omogućavati što adekvatniji i individualizirani terapijski pristup prema svakoj osobi s MS-om. Iz tog razloga, glavni cilj ovog istraživanja bio je ustanoviti koja je uloga neurofiziološke obrade u najranijem stadiju MS-a, tj. CIS-u, u predviđanju tijeka bolesti kod ove skupine bolesnika.

Kako bi rezultati ovog istraživanja potencijalno bili primjenjivi u svakodnevnoj kliničkoj praksi prilikom uključivanja ispitanika u istraživanje nisu postavljeni strogi demografski kriteriji te je brzina uključivanja bila ovisna o uobičajenom radu kliničkog odjela ili ambulanti koje se bave neuroimunologijom. Tijekom perioda od kolovoza 2014. godine do veljače 2016. godine u istraživanje je uključeno je 121 osoba s dijagnozom CIS-a koji su bili u kliničkom praćenju od 1.4-4.1 godina. Od početnog broja njih 94 uključeno je u daljnje analize podataka obzirom na potpunost prikupljenih podataka, što znači da je stopa osipanja ispitanika (eng. *drop-out rate*) bila relativno visoka te je iznosila 22.3%. Za usporedbu, jedina prospektivna studija sa sličnim ciljem koja je uključila isključivo bolesnike s CIS-om je ona Pelayo i sur. iz 2009. godine, a u kojoj je stopa osipanja iznosila 26.5% (19). Obzirom da su u tu studiju uključivani bolesnici s CIS-om prilikom posjete tercijarnom centru, tijekom perioda od šest godina te je u studiju uključeno ukupno 247 ispitanika, ova studija trebala bi biti vrlo dobar pokazatelj osnovnih obilježja ove populacije ispitanika.

Uspoređujući deskriptivne podatke ovog istraživanja s podacima iz studije Pelayo i sur. možemo zaključiti da je udio žena u ovoj populaciji bio gotovo identičan (71.3% naprema 71%) te je prosječna dob ispitanika bila slična (31.6 naprema 29 godina). Uspoređujući tipove prve kliničke prezentacije također se ne nalazi značajnijih odstupanja – optički neuritis imalo je 31.9% odnosno 36% ispitanika, simptome moždanog debla 23.4% odnosno 24%, simptome transverznog mijelitisa 30.9% odnosno 30%, a ostale tipove prezentacije imalo je 13.8% odnosno 10% (op.a. u radu Pelayo i sur. nije izražena prosječna vrijednost EDSS-a za cijelu skupinu ispitanika te se stoga ova karakteristika ne može uspoređivati). Prema tome, navedeni rezultati upućuju na mjerodavnost uzorka ispitanika uključenih u ovo istraživanje.

Glavni rezultat ovog istraživanja ukazuje na to da su osobe s CIS-om kod kojih je analizom inicijalne neurofiziološke obrade utvrđen EP zbroj veći od 13 imale oko četiri puta veći rizik za progresiju bolesti, u smislu razvoja održanog nakupljanja onesposobljenosti, u odnosu na skupinu ispitanika s EP zbrojem ≤ 13 te je učinak EP zbroja >13 bio neovisan o dobi, spolu ili broju T2 lezija na MR-u mozga.

S druge strane, rezultati ovog istraživanja nisu potvrdili hipotezu da je kombinacija evociranih potencijala bolji prediktor konverzije CIS-a u CDMS. Kao jedini statistički značajan prediktor novog relapsa bolesti, odnosno zadovoljavanja kriterija za CDMS, pokazao se ukupni broj T2 hiperintenzivnih lezija na početnoj neuroradiološkoj obradi. Nadalje, niti jedan od ispitanih parametara nije se pokazao vrijednim u predviđanju neuroradioloških znakova aktivnosti bolesti.

Iako je do sada objavljeno više od 10 istraživanja koja su ispitivala ulogu EP zbrojeva u praćenju osoba s MS-om, kao što je navedeno u uvodnom poglavlju studije se veoma razlikuju u broju i vrsti korištenih EP-ova, metodologiji izračuna EP zbroja te u obilježjima i kliničkim fenotipovima uključenih ispitanika (vidi Tablicu 2) te se rezultati ove studije zbog navedenih razlika ne mogu jasno uspoređivati s najvećim brojem do sada objavljenih istraživanja. Samo dva do sada objavljena istraživanja ispitala su vrijednost EP zbroja u praćenju bolesnika s CIS-om (19,79). Pelayo i sur. u studiju su uključili isključivo osobe kojima je dijagnosticiran CIS te je studija bila prospektivnog tipa te je stoga obilježjima vrlo slična ovom istraživanju, a u prilog čemu govori i sličnost obilježja ispitanika što je opisano u prvom odjeljku ovog poglavlja. U ovoj studiji korišteni su SSEPt, SSEPm, VEP i BAEP, a u konačnu analizu ušli su samo oni ispitanici kod kojih je ispitano najmanje tri od navedenih četiri modaliteta EP-a (N=245). Nadalje, autori su se odlučili za jednostavniji pristup prilikom kreiranja EP zbroja te je isti zapravo predstavljao broj patološki promijenjenih EP-ova (raspon od 0-3). Rezultati ovog istraživanja pokazali su da ispitanici koji su na početku studije imali tri abnormalna nalaza imaju HR 7 (CI 1.4–34.9) za postizanje EDSS-a ≥ 3 tijekom perioda praćenja od 6.4 godina. Slično rezultatima ovog doktorskog rada, EP zbroj niti u studiji Pelayo i sur. nije pokazao značajnost prilikom ispitivanja rizika za konverziju CIS-a u CDMS, dok su rezultati MR-a, izraženi brojem zadovoljenih Barkhofovih kriterija, nosili određen rizik za konverziju u CDMS. Mogući nedostatak ove studije je taj što je tek 22 od 247 ispitanika (8.9%) imalo patološki nalaz sva tri ispitana EP modaliteta, što relativno mali udio ispitanika za koje možemo dobiti neki uvid u buduću bolest. Osim toga u radu nije navedena osjetljivost i specifičnost postavljenih kriterija, što je također vrlo važan podatak.

U ovom istraživanju udio ispitanika koji je imao EP zbroj >13 iznosio je 32.2% te je granična vrijednost EP zbroja od 13 imala je osjetljivost od 64.3% te specifičnost 73.7% za zadovoljavanje kriterija za SAD tijekom perioda praćenja. Još jedna prednost metodologije primijenjene u ovom istraživanju je ta da, osim što može identificirati veći udio bolesnika s CIS-om koji su izloženi povećanom riziku za progresiju bolesti, prediktivnu vrijednost ostvaruje u više nego dvostruko kraćem periodu praćenja (2.9 naprema 6.4 godina). Navedeno je iznimno bitno s obzirom na važnost što ranijeg, ali i što adekvatnijeg odabira terapijske opcije ovisno o obilježjima svakog bolesnika.

U drugom komparabilnom znanstvenom radu, London i sur. 2017. godine objavljuju rezultate retrospektivnog istraživanja u koje su bili uključeni osobe s dijagnozom CIS-a (N=61) ili CDMS-a (N=47) koji su praćeni tijekom najviše 15 godina. Iako nije rađena analiza posebno za svaku skupinu ispitanika, ovo je istraživanje uz ono Pelayoa i sur. jedino uključilo značajniji broj ispitanika s CIS-om. U ovoj su studiji svim ispitanicima učinjeni VEP, BAEP, SSEPm, SSEPt i MEP gornjih i donjih ekstremiteta, EP zbroj izračunat je istom metodologijom korištenom i u ovom istraživanju (op.a. autori istraživanja ovaj zbroj nazvali su *global evoked potentials (GEP) score*, dalje u tekstu GEP zbroj) te je utvrđena statistički značajna korelacija GEP zbroja s EDSS-om nakon 5, 10 i 15 godina. Nedostatak ovog istraživanja je u njegovom retrospektivnom dizajnu te činjenici da nalazi MR obrade na početku praćenja nisu uzeti kao kovarijat u analizi te stoga ne možemo znati kolika je stvarna neovisna vrijednost GEP zbroja u predviđanju EDSS-a. Nadalje, u studiji London i sur. median GEP zbroja cijelog ispitanog uzorka (CIS i CDMS, N=108) iznosio je 4, dok je median EP zbroja ovog istraživanja iznosio 11. Ovdje valja naglasiti da, iako je korištena ista

metodologija u izračunavanju EP zbroja, postoji razlika u primijenjenim modalitetima EP-ova, kao i u samom broju korištenih modaliteta pa je tako raspon GEP zbroja u istraživanju London i sur. iznosio 0-36, dok je EP zbroj u ovom istraživanju imao raspon od 0-42. Međutim, razlika u medianima EP zbrojeva nije razmjerna razlici u broju korištenih modaliteta te bi se ona mogla objasniti eventualnim razlikama u obilježjima uključenih ispitanika ili razlikama u dijagnostičkim obilježjima (tj. osjetljivost, specifičnost) korištenih modaliteta EP-ova po kojima se ova dva istraživanja razlikuju. Obzirom da su obilježja ispitanika uključenih u ova dva istraživanja relativno podudarne, razlika u medianima EP zbrojeva vjerojatnije je povezana s razlikama u obilježjima korištenih modaliteta – London i sur. koristili su MEP-ove gornjih i donjih ekstremiteta, dok su se u ovom istraživanju koristili cVEMP, oVEMP i SSEPj. U studiji London i sur. je korištena i mjera kliničke progresije bolesti relativno slična SAD-u te je studija pokazala da ispitanici koji imaju GEP zbroj >4 imaju 60% i 73% veću vjerojatnost da će 10 godina kasnije i u periodu praćenja od 11.-15. godine imati na ovaj način izraženu kliničku progresiju bolesti. Međutim, iako je GEP zbroj korelirao s EDSS-om nakon 5 godina, obzirom da je pozitivna prediktivna vrijednost GEP zbroja >4 za kliničku progresiju unutar 5 godina iznosila 36%, a negativna prediktivna vrijednost 12% možemo reći da je prediktivna vrijednost GEP zbroja loša tijekom prvih 5 godina praćenja te stoga ova metodologija nije primjenjiva u situaciji kada odlučujemo o terapijskim opcijama kod bolesnika s „ranom“ MS.

Za razliku od rezultata istraživanja Tintore i sur. (17) rezultati ovog istraživanja nisu identificirali lezije moždanog debla kao značajni prediktor konverzije CIS-a u CDMS ili lošijeg kliničkog tijeka bolesti. Kao vjerojatno objašnjenje navedenih razlika nameće se razlika u

dužini trajanja praćenja (2.9 godina naprema 7.7 godina), kao i razlika u broju uključenih ispitanika (94 naprema 250). Nadalje, iako je studija Tintore i sur. pokazala da lezije moždanog debla nose značajan i neovisan rizik za lošiji tijek bolesti, ovo istraživanje nije našlo povezanost nalaza pojedinačnih modaliteta EP-ova koji su ispitali funkciju moždanog debla s progresijom onesposobljenosti tijekom perioda praćenja. I ovdje je razlika u broju ispitanika te dužini perioda praćenja mogla dovesti do razlika u rezultatima.

Uspoređujući ulogu ukupnog broja T2 hiperintenzivnih lezija na MR-u mozga (i vratne moždine) i EP zbroja kao prediktora progresije bolesti izraženog u obliku SAD-a (Tablica 6), možemo zaključiti da rezultati ovog istraživanja ukazuju na to da EP zbroj nosi nešto veći rizik od samog ukupnog broja T2 lezija. Razlika u predviđenom riziku povećava se određivanjem granične vrijednosti EP zbroja od >13, koji nosi oko 4 puta veći rizik za lošiji tijek bolesti u odnosu na ukupan broj T2 hiperintenzivnih lezija.

Nadalje, kada se ispitala uloga zbrojeva pojedinačnih modaliteta EP-ova jedino je VEP zbroj postigao statističku značajnost kao faktor rizika progresije onesposobljenosti tijekom perioda praćenja. Rezultati jedne studije (52) pokazali su pozitivnu korelaciju između latencija VEP-a i ukupnog broja T2 lezija, dok za SSEP gornjih i donjih ekstremiteta te BAEP nije nađena takva korelacija. Jedno od mogućih objašnjenja može biti veća osjetljivost VEP-a u odnosu na ostale modalitete EP-ova (80). Također, više je istraživanja pokazalo da je nalaz VEP-a patološki promijenjen i u do 95% ispitanika koji će kasnije razviti MS (80). Stoga, možemo zaključiti da su rezultati ovog istraživanja sukladni ranije provedenim studijama koje ukazuju na vrijednost VEP-a u praćenju osoba s MS-om.

S druge strane, kako bi se ispitala pretpostavka da će se uključivanjem dodatnih modaliteta EP-ova koji ispituju funkciju moždanog debla u ukupni EP zbroj postići veća vrijednost ove metode u predviđanju kliničkog tijeka bolesti, učinjena je regresijska analiza sa *standardnim* EP zbrojem (sEP zbroj) iz kojega su isključeni VEMP i SSEPj (vidi Tablicu 9). sEP zbroj se izračunao istom metodom kao i EP zbroj (suma VEP, BAEP, SSEPt i SSEPm zbrojeva, raspon 0-36), no analiza je pokazala da ovaj zbroj nije značajni prediktor kliničke progresije bolesti izražene u obliku SAD-a. Ovaj je rezultat pokazao da, iako nisu postigli značajnost kao samostalni faktori, VEMP zbroj i SSEPj zbroj imaju važnu ulogu u ukupnom EP zbroju koji nosi nezavisnu prediktivnu vrijednost za predviđanje kliničkog tijeka bolesti.

Kao što je u uvodnom poglavlju navedeno postoji više razloga zbog čega je EDSS kritiziran kao skala kojom se bilježi kliničko stanje ispitanika (54). Iz navedenog razloga sve se više upotrebljavaju i dodatni alati kojima se nastoji kroz vrijeme kvalitetnije pratiti kliničko stanje osobe koja boluje od MS-a, a 9HPT i 25FWT su dva najčešće korištena testa kojima se nastoji steći bolji uvid u funkciju gornjih i donjih ekstremiteta bolesnika. Vodeći se tim podacima, a po uzoru na metodologiju u radu Wolinsky i sur. (78), definiran je i ishod cSAD, koji je, osim održanog porasta EDSS-a za 1.5 odnosno 1.0 bod ukoliko je početni EDSS bio 0 odnosno >0, uključivao i kriterij pogoršanja rezultata 9HPT-a i T25FWT-a (tj. pogoršanje funkcije ruku i nogu) u iznosu od $\geq 20\%$ u dvogodišnjem intervalu praćenja. Analiza je pokazala da bolesnici s prvom kliničkom prezentacijom MS-a koji su imali EP zbroj >13 prilikom inicijalne obrade imaju značajno veću vjerojatnost za progresiju bolesti izraženu u obliku cSAD-a. Ovdje je vjerojatnost za lošiji ishod predviđen s EP zbrojem >13 bila veća ($\text{Exp}(B)=5.577$) nego za ishod SAD, koji je vezan isključivo za kretanje EDSS-a

(Exp(B)=5.059), što bi moglo ukazivati na bolju povezanost neurofiziološke obrade s kod ispitanika mjerenom funkcijom izraženu kroz 9HPT ili 25FWT.

Jedan od glavnih nedostataka ovog istraživanja je relativno visoka stopa osipanja (eng. *drop-out rate*). Ovdje valja istaknuti da razlozi takve stope ispadanja leže u činjenici da je protokol studije zahtijevao od bolesnika relativno veliki angažman (provođenje cijele baterije neurofizioloških ispitivanja trajalo je ukupno oko šest sati tijekom jednog radnog dana) što je dio bolesnika odvratio od daljnjeg sudjelovanja u istraživanju. Osim toga, obzirom da je istraživanje provedeno u tercijarnom centru, jedan dio bolesnika bio je iz udaljenijih krajeva RH što je također utjecalo na odluku o nastavku sudjelovanja kod dijela ispitanika. Konačno, iako je stopa osipanja relativno visoka, ona nije neuobičajena za ovakav tip istraživanja te su prilikom provođenja statističke analize podataka korišteni različiti regresijski modeli što je ispravan odabir metoda ako želimo dobiti rezultate na koje nije utjecala stopa osipanja, tj. nepristrane rezultate (81). Još jedan potencijalni nedostatak istraživanja leži u mogućoj pristranosti odabira ispitanika obzirom da je istraživanje provedeno u tercijarnoj ustanovi. Također, kontrolni MR snimci nisu bili kontrolirani za brojne parametre snimanja poput debljine presjeka ili nagiba snimanja što je moglo utjecati na rezultate analize, no s druge strane upravo ovakav pristup predstavlja situacije iz uobičajene kliničke prakse (82). Obzirom da su do studenog 2018. godine vrijedili kriteriji Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo prema kojima je početak liječenja bolesnika s MS-om bio moguć tek nakon što su preboljeli dva relapsa, eventualni učinak lijekova na ovu kohortu ispitanika je zanemariv.

7. ZAKLJUČAK

Iako rezultati istraživanja nisu potvrdili hipotezu da EP zbroj bolje predviđa konverziju CIS-a u klinički definitivnu MS nego EDSS i magnetska rezonancija te se EP zbroj nije pokazao značajnim u predviđanju neuroradiološke progresije bolesti dobiveno je više značajnih rezultata na polju predviđanja kliničke progresije bolesti.

- EP zbroj granične vrijednosti 13 pokazao se kao vrlo koristan parametar s osjetljivošću od 64,3% te specifičnošću od 73.7% za identifikaciju onih bolesnika s CIS-om koji će tijekom prosječnog perioda praćenja od 2.9 godina zadovoljiti kriterije za kliničku progresiju bolesti izraženu kroz parametar održanog nakupljanja onesposobljenosti.
- Relativni rizik za kliničko pogoršanje izraženo u obliku SAD-a bio je 74.2% manji kod bolesnika s CIS-om kojima je početnom obradom ustanovljen EP zbroj ≤ 13 u odnosu na skupinu bolesnika s EP zbrojem >13 .
- Nakon kontroliranja za dob, spol te ukupan broj T2 hiperintenzivnih lezija na prvom MR-u mozga *hazard* za kliničko pogoršanje (tj. SAD) tijekom prosječnog perioda praćenja od 2.9 godina bio je 4.093 puta veći kod bolesnika s EP zbrojem >13 .
- Iako analiza pojedinačne vrijednosti svakog od uključenih modaliteta EP-ova nije pokazala da su VEMP i SSEPj zbroj značajni prediktori SAD-a, njihovim isključivanjem iz ukupnog EP zbroja izgubila se i prediktivna vrijednost tog zbroja što ističe važnost VEMP-a i SSEPj-a za prediktivnu vrijednost ukupnog EP zbroja.

- EP zbroj je ostvario prediktivnu vrijednost i kada je kliničko pogoršanje bilo izraženo kao kombinacija EDSS-a i rezultata 9HPT-a i 25FWT-a (cSAD), odnosno testova funkcije ruku i nogu. EP zbroj >13 povećava vjerojatnost za cSAD 5.577 puta u odnosu na skupinu ispitanika s EP zbrojem ≤ 13 .

8. SAŽETAK

UVOD: MS je autoimuna demijelinizacijska i neurodegenerativna bolest središnjeg živčanog sustava koja predominantno zahvaća mlado, radno sposobno stanovništvo, posebice žene generativne dobi. U posljednjih 15-ak godina učinjen je veliki iskorak u terapijskim opcijama za liječenje ove bolesti te danas, više nego ikada, postoji velika potreba za čimbenicima predikcije tijeka bolesti. Jedan od važnih neovisnih prediktivnih čimbenika su lezije moždanog debla utvrđene MR-om mozga. Svrha ovog istraživanja je odrediti ulogu kombinacije standardnih modaliteta EP-ova i novijih neurofizioloških metoda procjene funkcije moždanog debla (VEMP, SSEP jezika) u predviđanju progresije bolesti u osoba s CIS-om, odnosno prvom kliničkom manifestacijom MS-a.

METODE: U istraživanje je uključen ukupno 121 ispitanik s dijagnozom CIS-a. Ispitanici uključeni u završnu analizu praćeni su tijekom najmanje dvije godine. Svim ispitanicima prilikom uključanja u istraživanje određen je EDSS, ukupni broj T2 hiperintenzivnih lezija na učinjenom MR-u mozga (i vratne kralježnice), učinjen je MSFC, snimljeni su VEP, BAEP, SSEPm, SSEPt, VEMPo i VEMPc te SSEPj. Rezultati svih neurofiziološki pretraga iskazani su u obliku jedinstvenog EP zbroja. Tijekom dvije godine praćenja ispitanici su kontrolirani u 6-mjesečnim intervalima te su se na kontrolnim vizitama prikupljali podaci o aktivnosti bolesti u vidu procjene EDSS-a, SAD-a, pojave novog relapsa, prisustva novih lezija na MR-u mozga ili pogoršanja u 9HPT i T25FWT.

REZULTATI: Nakon perioda praćenja od dvije godine 94 ispitanika imalo je sve podatke o aktivnosti i progresiji bolesti te su oni uključeni u konačnu analizu. Rezultat

multivarijabilnog regresijskog modela koji je uključio dob, spol, ukupni broj T2 lezija na inicijalnom MR-u kod uključanja u istraživanje i EP zbroj >13 pokazao je da ukupni broj T2 lezija na inicijalnom MR-u i EP zbroj >13 povećavaju vjerojatnost za SAD. Nakon kontroliranja za dob, spol i ukupni broj T2 lezija na inicijalnom MR-u EP zbroj >13 nosio je 4.093 veći rizik za SAD u odnosu na ispitanike koji su imali EP zbroj ≤ 13 . Osim toga, EP zbroj >13 nosio je i veći rizik za progresiju MS-a mjerenu kombinacijom EDSS te 9HPT-a i 25FWT-a ($\text{Exp}(B) = 5.577$, 95% CI = 1.520-20.498, $p=0.01$). Multivarijabilna regresijska analiza za EP zbroj iz kojega su izuzeti rezultati VEMP-a i SSEPj-a pokazala je da tako izračunati EP zbroj nema statistički značajnu prediktivnu vrijednost za SAD.

ZAKLJUČAK: EP zbroj se pokazao kao dobar prediktor progresije bolesti u osoba s CIS-om tijekom relativno kratkog perioda praćenja od dvije godine. VEMP i SSEPj pokazali su se presudnima za ostvarivanje ovog rezultata te time opravdali uključivanje u EP zbroj.

9. SUMMARY

THESIS TITLE: Modified evoked potential score in the follow-up of clinically isolated syndrome

PHD CANDIDATE: LUKA CRNOŠIJA, MD

THESIS DEFENSE YEAR: 2021

INTRODUCTION: MS is an autoimmune demyelinating and neurodegenerative disease of the central nervous system which predominantly affects young working population, especially women of generative age. During the last 15 years significant progress in treatment options for this disease has been made, and now more than ever, there is a great need for reliable disease course prediction factors. Studies indicate that one of the more important prediction factors is the presence of brainstem lesions on MRI. The aim of this study is to evaluate the role of a combination of standard EP modalities and newer neurophysiological methods for brainstem function evaluation (i.e. VEMP and SSEP of the tongue) in predicting the progression of the disease in people with CIS, the first clinical presentation of MS.

METHODS: Altogether 121 subjects with CIS diagnosis were included in the study. All the subjects included in the final analysis were followed-up for at least two years. Upon study inclusion the following data were obtained: EDSS, total number of T2 lesions, MSFC, VEP, BAEP, SSEPm, SSEPt, VEMPo, VEMPc and SSEPj. Results of all of the EP modalities were expressed in the form of a single EP score. During the two-year follow-up period patients were controlled in 6-month intervals, and the following data regarding MS activity were

obtained at each of the follow-up visits: EDSS, SAD, occurrence of a new relapse, new T2 lesions on MRI or worsening of MSFC.

RESULTS: After a two-year follow-up period all the data on MS activity and progression was obtained for 94 patients which were included in the final analysis. The multivariable regression model including age, sex, total number of T2 lesions on baseline MRI, and EP score >13 showed that total number of T2 lesions on baseline MRI and EP score >13 increase the likelihood for sustained accumulation of disability (SAD). After controlling for age, sex, total number of T2 lesions on baseline MRI, the hazard of SAD for participants with EP score >13 is 4.093 times that of participants with EP score \leq 13. EP score >13, also increases the likelihood for progression measured with the composite measure of progression which uses EDSS, 9HPT and T25FWT (Exp(B)=5.577, 95% CI=1.520-20.468, $p=0.01$). Multivariate regression analysis results using EP score calculated without VEMP and SSEPj results did not show statistical significance in SAD predicting.

CONCLUSION: The results indicate that the EP score is a good tool for predicting the disease progression in CIS patients over a relatively short follow-up period of two years. VEMP and SSEPj were found to be crucial in achieving EP score's predictive significance, thereby justifying their inclusion in this score.

10. LITERATURA

1. Zalc B. One hundred and fifty years ago Charcot reported multiple sclerosis as a new neurological disease. *Brain*. 2018;141(12):3482–8. doi: 10.1093/brain/awy287
2. MSIF. Atlas of MS 2013: Mapping Multiple Sclerosis Around the World [Internet]. Multiple Sclerosis International Federation [pristupljeno 12.11.2020.]. Dostupno na: <https://www.msif.org/wp-content/uploads/2014/09/Atlas-of-MS.pdf>
3. Gustavsson A, Svensson M, Jacobi F, Allgulander C, Alonso J, Beghi E, i sur. Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2011;21(10):718–79. doi: 10.1016/j.euroneuro.2011.08.008
4. Benjak T, Štefančić V, Draušnik Ž, Cerovecki I, Roginić D, Habek M, i sur. Prevalence of multiple sclerosis in Croatia: Data from national and non-governmental organization registries. *Croat Med J*. 2018;59(2):65–70. doi: 10.3325/cmj.2018.59.65
5. Filippi M, Bar-Or A, Piehl F, Preziosa P, Solari A, Vukusic S, i sur. Multiple sclerosis. *Nat Rev Dis Prim*. 2018;4(1):43. doi: 10.1038/s41572-018-0041-4
6. Alonso A, Hernán MA. Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: A systematic review. *Neurology*. 2008;71(2):129–35. doi: 10.1212/01.wnl.0000316802.35974.34
7. Westerlind H, Boström I, Stawiarz L, Landtblom AM, Almqvist C, Hillert J. New data identify an increasing sex ratio of multiple sclerosis in Sweden. *Mult Scler J*. 2014;20(12):1578–83. doi: 10.1177/1352458514530021
8. Kaye SH, Kang T, LaPlante MP. Mobility Device Use in the United States. *Disability Statistics Report, (14)*. Washington, D.C.: U.S. Department of Education, National Institute on Disability and Rehabilitation Research; 2000.
9. Kobelt G, Thompson A, Berg J, Gannedahl M, Eriksson J. New insights into the burden and costs of multiple sclerosis in Europe. *Mult Scler*. 2017;23(8):1123–36. doi: 10.1177/1352458517694432
10. Confavreux C, Vukusic S. Natural history of multiple sclerosis: A unifying concept. *Brain*. 2006;129(3):606–16. doi: 10.1093/brain/awl007
11. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, i sur. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018;17(2):162–73. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2

12. Lublin FD. New multiple sclerosis phenotypic classification. *Eur Neurol.* 2014;72(Suppl 1):1–5. doi: 10.1159/000367614
13. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet.* 2008;372(9648):1502–17. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61620-7
14. Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol.* 2012;11(2):157–69. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70274-5
15. Brodsky M, Nazarian S, Orengo-Nania S, Hutton GJ, Buckley EG, Massey EW, i sur. Multiple sclerosis risk after optic neuritis: Final optic neuritis treatment trial follow-up. *Arch Neurol.* 2008;65(6):727–32. doi: 10.1001/archneur.65.6.727
16. Fisniku LK, Brex PA, Altmann DR, Miszkiel KA, Benton CE, Lanyon R, i sur. Disability and T2 MRI lesions: A 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain.* 2008;131(3):808–17. doi: 10.1093/brain/awm329
17. Tintore M, Rovira A, Arrambide G, Mitjana R, Río J, Auger C, i sur. Brainstem lesions in clinically isolated syndromes. *Neurology.* 2010;75(21):1933–8. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181feb26f
18. Young J, Quinn S, Hurrell M, Taylor B. Clinically isolated acute transverse myelitis: Prognostic features and incidence. *Mult Scler.* 2009;15(11):1295–302. doi: 10.1177/1352458509345906
19. Pelayo R, Montalban X, Minoves T, Moncho D, Rio J, Nos C, i sur. Do multimodal evoked potentials add information to MRI in clinically isolated syndromes? *Mult Scler.* 2010;16(1):55–61. doi: 10.1177/1352458509352666
20. Coles A. Newer therapies for multiple sclerosis. *Ann Indian Acad Neurol.* 2015;18(Suppl 1):S30–4. doi: 10.4103/0972-2327.164824
21. Comi G, Radaelli M, Soelberg Sørensen P. Evolving concepts in the treatment of relapsing multiple sclerosis. *Lancet.* 2017;389(10076):1347–56. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32388-1
22. Brown JW, Coles A, Horakova D, Havrdova E, Izquierdo G, Prat A, i sur. Association of Initial Disease-Modifying Therapy with Later Conversion to Secondary Progressive Multiple Sclerosis. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2019;321(2):175–87. doi: 10.1001/jama.2018.20588
23. Habek M, Pavičić T, Ruška B, Pavlović I, Gabelić T, Barun B, i sur. Establishing the diagnosis of multiple sclerosis in Croatian patients with clinically isolated syndrome: 2010 versus 2017 McDonald criteria. *Mult Scler Relat Disord.* 2018;25:99–103. doi: 10.1016/j.msard.2018.07.035

24. Wiendl H. Cladribine - An old newcomer for pulsed immune reconstitution in MS. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(10):573–4. doi:10.1038/nrneurol.2017.119
25. Habek M. Novi pristup u liječenju multiple skleroze New Approach to the Treatment of Multiple Sclerosis. *Medicus*. 2019;28(1):33–9.
26. Sorensen PS, Sellebjerg F. Pulsed immune reconstitution therapy in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*. 2019;12:1756286419836913. doi: 10.1177/1756286419836913
27. Muraro PA, Martin R, Mancardi GL, Nicholas R, Sormani MP, Saccardi R. Autologous haematopoietic stem cell transplantation for treatment of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(7):391–405. doi: 10.1038/nrneurol.2017.81
28. Tintore M, Rovira À, Río J, Otero-Romero S, Arrambide G, Tur C, i sur. Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis. *Brain*. 2015;138(7):1863–74. doi: 10.1093/brain/awv105
29. Giorgio A, Battaglini M, Rocca MA, De Leucio A, Absinta M, Van Schijndel R, i sur. Location of brain lesions predicts conversion of clinically isolated syndromes to multiple sclerosis. *Neurology*. 2013;80(3):234–41. doi: 10.1212/WNL.0b013e31827debeb
30. Minneboo A, Barkhof F, Polman CH, Uitdehaag BMJ, Knol DL, Castelijns JA. Infratentorial Lesions Predict Long-term Disability in Patients with Initial Findings Suggestive of Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*. 2004;61(2):217–21. doi: 10.1001/archneur.61.2.217
31. Wybrecht D, Reuter F, Zaaraoui W, Faivre A, Crespy L, Rico A, i sur. Voxelwise analysis of conventional magnetic resonance imaging to predict future disability in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler J*. 2012;18(11):1585–91. doi: 10.1177/1352458512442991
32. Davis FA. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis: Novel implications of lesion size. *Mult Scler J*. 2014;20(4):515–6. doi: 10.1177/1352458513498949
33. Zadro I, Barun B, Habek M, Brinar V V. Isolated cranial nerve palsies in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2008;110(9):886–8. doi: 10.1016/j.clineuro.2008.02.009
34. Nakashima I, Fujihara K, Okita N, Takase S, Itoyama Y. Clinical and MRI study of brain stem and cerebellar involvement in Japanese patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;67(2):153–7. doi: 10.1136/jnnp.67.2.153
35. O'Connor P, Marchetti P, Lee L, Perera M. Evoked potential abnormality scores are a useful measure of disease burden in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1998;44(3):404–7. doi: 10.1002/ana.410440320

36. Hardmeier M, Leocani L, Fuhr P. A new role for evoked potentials in MS? Repurposing evoked potentials as biomarkers for clinical trials in MS. *Mult Scler.* 2017;23(10):1309–19. doi: 10.1177/1352458517707265
37. Smith KJ. Conduction properties of central demyelinated and remyelinated axons, and their relation to symptom production in demyelinating disorders. *Eye.* 1994;8(2):224–37. doi: 10.1038/eye.1994.51
38. Siegelbaum S, Kandel E, Yuste R. Synaptic Integration in the Central Nervous System. U: Kandel E, Schwartz J, Jessell T, Siegelbaum S, Hudspeth A, ur. *Principles of Neural Science.* Fifth Edit. McGraw Hill; 2013. Str. 210–35.
39. O’Doherty M, Flitcroft DI. An unusual presentation of optic neuritis and the Pulfrich phenomenon. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(8):906–7. doi: 10.1136/jnnp.2006.094771
40. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis – a review. *Eur J Neurol.* 2019;26(1):27–40. doi: 10.1111/ene.13819
41. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, i sur. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 Revisions to the “McDonald Criteria.” *Ann Neurol.* 2005;58(6):840–6. doi: 10.1002/ana.20703
42. Jung P, Beyerle A, Ziemann U. Multimodal evoked potentials measure and predict disability progression in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2008;14(4):553–6. doi: 10.1177/1352458507085758
43. Keiper MD, Grossman RI, Hirsch JA, Bolinger L, Ott IL, Mannon LJ, i sur. MR identification of white matter abnormalities in multiple sclerosis: A comparison between 1.5 T and 4 T. *Am J Neuroradiol.* 1998;19(8):1489–93.
44. Kallmann BA, Fackelmann S, Toyka KV, Rieckmann P, Reiners K. Early abnormalities of evoked potentials and future disability in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2006;12(1):58–65. doi: 10.1191/135248506ms1244oa
45. Leocani L, Rovaris M, Boneschi FM, Medaglini S, Rossi P, Martinelli V, i sur. Multimodal evoked potentials to assess the evolution of multiple sclerosis: A longitudinal study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77(9):1030–5. doi: 10.1136/jnnp.2005.086280
46. Invernizzi P, Bertolasi L, Bianchi MR, Turatti M, Gajofatto A, Benedetti MD. Prognostic value of multimodal evoked potentials in multiple sclerosis: The EP score. *J Neurol.* 2011;258(11):1933–9. doi: 10.1007/s00415-011-6033-x
47. Fuhr P, Borggreffe-Chappuis A, Schindler C, Kappos L. Visual and motor evoked potentials in the course of multiple sclerosis. *Brain.* 2001;124(11):2162–8. doi: 10.1093/brain/124.11.2162

48. Schlaeger R, D'Souza M, Schindler C, Grize L, Dellas S, Radue EW, i sur. Prediction of long-term disability in multiple sclerosis. *Mult Scler J*. 2012;18(1):31–8. doi: 10.1177/1352458511416836
49. Schlaeger R, D'Souza M, Schindler C, Grize L, Kappos L, Fuhr P. Combined evoked potentials as markers and predictors of disability in early multiple sclerosis. *Clin Neurophysiol*. 2012;123(2):406–10. doi: 10.1016/j.clinph.2011.06.021
50. Giffroy X, Maes N, Albert A, Maquet P, Crielaard JM, Dive D. Do evoked potentials contribute to the functional follow-up and clinical prognosis of multiple sclerosis? *Acta Neurol Belg*. 2017;117(1):53–9. doi: 10.1007/s13760-016-0650-1
51. Giffroy X, Maes N, Albert A, Maquet P, Crielaard JM, Dive D. Multimodal evoked potentials for functional quantification and prognosis in multiple sclerosis. *BMC Neurol*. 2016;16(1):1–9. doi: 10.1186/s12883-016-0608-1
52. Ramanathan S, Lenton K, Burke T, Gomes L, Storchenegger K, Yiannikas C, i sur. The utility of multimodal evoked potentials in multiple sclerosis prognostication. *J Clin Neurosci*. 2013;20(11):1576–81. doi: 10.1016/j.jocn.2013.01.020
53. Margaritella N, Mendozzi L, Garegnani M, Colicino E, Gilardi E, DeLeonardis L, i sur. Sensory evoked potentials to predict short-term progression of disability in multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2012;33(4):887–92. doi: 10.1007/s10072-011-0862-3
54. Meyer-Moock S, Feng YS, Maeurer M, Dippel FW, Kohlmann T. Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis. *BMC Neurol*. 2014;14:58. doi: 10.1186/1471-2377-14-58
55. Shaw NA. The temporal relationship between the brainstem and primary cortical auditory evoked potentials. *Prog Neurobiol*. 1995;47(2):95–103. doi: 10.1016/0301-0082(95)00021-M
56. Matas C, Matas S, Oliveira C, Gonçalves I. Auditory evoked potentials and multiple sclerosis. *Arq Neuropsiquiatr*. 2010;68(4):528–34. doi: 10.1590/S0004-282X2010000400010
57. Soustiel JF, Hafner H, Chistyakov A V., Yarnitzky D, Sharf B, Guilburd JN, i sur. Brainstem trigeminal and auditory evoked potentials in multiple sclerosis: Physiological insights. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1996;100(2):152–7. doi: 10.1016/0013-4694(95)00172-7
58. Comi G, Filippi M, Martinelli V, Scotti G, Localelli T, Medaglini S, i sur. Brain stem magnetic resonance imaging and evoked potential studies of symptomatic multiple sclerosis patients. *Eur Neurol*. 1993;33(3):232–7. doi: 10.1159/000116943

59. Colebatch JG, Rosengren SM, Welgampola MS. Vestibular-evoked myogenic potentials. *Handb Clin Neurol*. 2016;137:133–55. doi: 10.1016/B978-0-444-63437-5.00010-8
60. Gazioglu S, Boz C. Ocular and cervical vestibular evoked myogenic potentials in multiple sclerosis patients. *Clin Neurophysiol*. 2012;123(9):1872–9. doi: 10.1016/j.clinph.2012.01.022
61. Alpini D, Pugnetti L, Caputo D, Cornelio F, Capobianco S, Cesarani A. Vestibular evoked myogenic potentials in multiple sclerosis: clinical and imaging correlations. 2004;316–21. doi: 10.1191/1352458504ms1041oa.
62. Eleftheriadou A, Deftereos SN, Zarikas V, Panagopoulos G, Sfetsos S, Karageorgiou CL, i sur. The diagnostic value of earlier and later components of Vestibular Evoked Myogenic Potentials (VEMP) in Multiple Sclerosis. *J Vestib Res Equilib Orientat*. 2009;19(1–2):59–66. doi: 10.3233/VES-2009-0342
63. Bandini F, Beronio A, Ghiglione E, Solaro C, Parodi RC, Mazzella L. The diagnostic value of vestibular evoked myogenic potentials in multiple sclerosis: A comparative study with MRI and visually evoked potentials. *J Neurol*. 2004;251(5):617–21. doi: 10.1007/s00415-004-0378-3
64. Ivanković A, Nesek Macrossed D, Signarić V, Starčević K, Krbot Skorić M, Gabelić T, Adamec I, i sur. Auditory evoked potentials and vestibular evoked myogenic potentials in evaluation of brainstem lesions in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2013;328(1–2):24–7. doi: 10.1016/j.jns.2013.02.005
65. Skorić MK, Adamec I, Madarić VN, Habek M. Evaluation of Brainstem Involvement in Multiple Sclerosis. *Can J Neurol Sci*. 2014;41(3):346–9. doi: 10.1017/S0317167100017285
66. Di Stadio A, Dipietro L, Ralli M, Greco A, Ricci G, Bernitsas E. The role of vestibular evoked myogenic potentials in multiple sclerosis-related vertigo. A systematic review of the literature. *Mult Scler Relat Disord*. 2019;28:159–64. doi: 10.1016/j.msard.2018.12.031
67. Gabelić T, Krbot Skorić M, Adamec I, Barun B, Zadro I, Habek M. The vestibular evoked myogenic potentials (VEMP) score: A promising tool for evaluation of brainstem involvement in multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2015;22(2):261–9. doi: 10.1111/ene.12557
68. Crnošija L, Krbot Skorić M, Gabelić T, Adamec I, Habek M. Vestibular evoked myogenic potentials and MRI in early multiple sclerosis: Validation of the VEMP score. *J Neurol Sci*. 2017;372:28–32. doi: 10.1016/j.jns.2016.11.028

69. Findler G, Feinsod M. Sensory evoked response to electrical stimulation of the trigeminal nerve in humans. *J Neurosurg.* 1982;56(4):545–9. doi: 10.3171/jns.1982.56.4.0545
70. Altenmüller E, Cornelius CP, Buettner UW. Somatosensory evoked potentials following tongue stimulation in normal subjects and patients with lesions of the afferent trigeminal system. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Evoked Potentials.* 1990;77(6):403–15. doi: 10.1016/0168-5597(90)90001-T
71. Bergamaschi R, Romani A, Versino M, Callieco R, Gaspari D, Citterio A, i sur. Usefulness of trigeminal somatosensory evoked potentials to detect subclinical trigeminal impairment in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand.* 1994;89(6):412–4. doi: 10.1111/j.1600-0404.1994.tb02658.x
72. Cosi V, Bergamaschi R, Citterio A, Callieco R. Brainstem impairment in multiple sclerosis: an assessment by multimodal evoked potentials. *Ital J Neurol Sci.* 1989;10(2):157–61. doi: 10.1007/BF02333612
73. Gabelić T, Skorić MK, Adamec I, Mayer D, Habek M. Tongue somatosensory-evoked potentials: Evaluation of the afferent trigeminal pathway in patients with early multiple sclerosis. *Clin EEG Neurosci.* 2013;44(4):286–90. doi: 10.1177/1550059412467447
74. Koutsis G, Kokotis P, Papagianni AE, Evangelopoulos ME, Kilidireas C, Karandreas N. A neurophysiological study of facial numbness in multiple sclerosis: Integration with clinical data and imaging findings. *Mult Scler Relat Disord.* 2016;9:140–6. doi: 10.1016/j.msard.2016.07.009
75. Krbot Skorić M, Adamec I, Crnošija L, Gabelić T, Barun B, Zadro I, i sur. Tongue somatosensory evoked potentials reflect midbrain involvement in patients with clinically isolated syndrome. *Croat Med J.* 2016;57(6):558–65. doi: 10.3325/cmj.2016.57.558
76. Kurtzke JF. Historical and clinical perspectives of the expanded disability status scale. *Neuroepidemiology.* 2008;31(1):1–9. doi: 10.1159/000136645
77. Fischer JS, Jak AJ, Kniker JE, Rudick RA, Cutter G. Administration and scoring manual for the MSFC [Internet]. 2001 [pristupljeno 27.12.2020.]. Dostupno na: https://www.nationalmssociety.org/NationalMSSociety/media/MSNationalFiles/Brochures/10-2-3-31-MSFC_Manual_and_Forms.pdf
78. Wolinsky JS, Montalban X, Hauser SL, Giovannoni G, Vermersch P, Bernasconi C, i sur. Evaluation of no evidence of progression or active disease (NEPAD) in patients with primary progressive multiple sclerosis in the ORATORIO trial. *Ann Neurol.* 2018;84(4):527–36. doi: 10.1002/ana.25313

79. London F, El Sankari S, van Pesch V. Early disturbances in multimodal evoked potentials as a prognostic factor for long-term disability in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Clin Neurophysiol.* 2017;128(4):561–9. doi: 10.1016/j.clinph.2016.12.029
80. Walsh P, Kane N, Butler S. The clinical role of evoked potentials. *Neurol Pract.* 2005;76(2):16–22. doi:10.1136/jnnp.2005.068130
81. Bell ML, Kenward MG, Fairclough DL, Horton NJ. Differential dropout and bias in randomised controlled trials: when it matters and when it may not. *BMJ.* 2013;346. doi: 10.1136/bmj.e8668
82. Filippi M, Preziosa P, Meani A, Ciccarelli O, Mesaros S, Rovira A, et al. Prediction of a multiple sclerosis diagnosis in patients with clinically isolated syndrome using the 2016 MAGNIMS and 2010 McDonald criteria: a retrospective study. *Lancet Neurol.* 2018;17(2):133–42. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30469-6

11. BIOGRAFIJA

Luka Crnošija rođen je 17. travnja 1990. godine u Zagrebu. Nakon završetka srednjoškolskog obrazovanja u 5. gimnaziji Grada Zagreb upisuje Medicinski fakultet u Zagrebu 2008. godine. Tijekom 2013. godine započinje suradnju s prof.dr.sc. Mariom Habekom kada objavljuje prve znanstvene radove. Dobitnik je Dekanove nagrade za najbolji rad u akademskoj godini 2013/2014. Na Medicinskom fakultetu diplomirao je 2014. godine, kada upisuje poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo na istom fakultetu. Od 2015.-2017. godine zaposlen je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu na poziciji znanstvenog asistenta na projektu Hrvatske zaklade za znanost „Evocirani potencijali moždanog debla i testiranje autonomnog živčanog sustava kao metode procijene progresije bolesti u bolesnika s klinički izoliranim sindromom“ pod vodstvom prof.dr.sc. Maria Habeka. 2017. godine započinje specijalizaciju iz neurologije u KBC-u Zagreb. Kao prvi autor i koautor do sada je objavio 29 radova, od kojih je većina indeksirana u Current Contents-u. Kao istraživač sudjelovao je ili sudjeluje u preko 10 multicentričnih kliničkih studija u području multiple skleroze.