

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Dušan S. Damjanović

ANALIZA ZNAČAJA ATROFIJE I  
FOKALNIH PROMENA MOZGA U  
NASTANKU KOGNITIVNIH OŠTEĆENJA  
KOD BOLESNIKA SA MULTIPLOM  
SKLEROZOM

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF MEDICINE

Dušan S. Damjanović

Correlation analysis of focal brain changes and  
brain atrophy with cognitive impairment in MS  
patients

DOCTORAL DISSERTATION

Beograd, 2017

## MENTOR:

Doc. Dr. Šarlota Mesaroš, docent, Klinika za neurologiju Klinički Centar Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

## KOMENTORI:

Prof. dr. Ružica Maksimović, redovni profesor, Centar za radiologiju i MR Kliničkog Centra Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. Massimo Filippi, MD, FEAN, Full Professor of Neurology, Director, Neuroimaging Research Unit, INSPE, Division of Neuroscience, San Raffaele Scientific Institute and Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy

## ČLANOVI KOMISIJE:

1. Akademik Prof. dr Vladimir S. Kostić, redovni profesor, Klinika za neurologiju Klinički Centar Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu,
2. Prof. dr Jelena Drulović, redovni profesor, Klinika za neurologiju Klinički Centar Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Dragan Mašulović, redovni profesor, Centar za radiologiju i MR Kliničkog Centra Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.
4. Prof. dr. Evica Dinčić, redovni profesor, Klinika za neurologiju Medicinskog fakulteta VMA
5. Doc. Aleksandra Đurić-Stefanović, docent, Centar za radiologiju i MR Kliničkog Centra Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

*Zahvaljujem se mom mentoru, Doc.dr Šarloti Mesaroš na velikoj pomoći i podršci tokom izrade doktorske disertacije*

*Veliku zahvalnost dugujem Prof.dr Massimu Filippi-u, na pruženoj šansi da provedem godinu dana radeći u njegovoj laboratoriji, iz čega je i nastala ova doktorska disertacija, kao i na činjenici da mi je ukazao veliku čast time što je prihvatio da bude komentor ove teze*

*Zahvaljujem se Prof. dr Ružici Maksimović, svome komentoru, na nesebičnoj podršci i profesionalnim savetima*

*Veliku zahvalnost dugujem Akademiku Prof. dr Vladimiru Kostiću, na pruženoj šansi i dragocenoj podršci*

*Zahvaljujem Prof. dr Tatjani Pekmezović i Prof. dr Jeleni Drulović na stručnoj pomoći i razumevanju tokom procesa izrade ove teze*

*Zahvalnost dugujem i Prof. dr Tatjani Stošić Opinčal, kao i Prim. dr Slobodanu Lavrniću na korisnim savetima i nesebičnoj pomoći ne samo u toku izrade ove teze već i od samog početka mog stručnog usavršavanja i rada.*

*Veliko hvala svim kolegama iz Centra za radiologiju i magnetnu rezonancu Kliničkog centra Srbije na prijateljskoj podršci i izuzetno kolegijalnoj saradnji*

*Na kraju se moram se zahvaliti svojoj porodici i prijateljima na nesebičnoj pomoći i beskrajnom strpljenju a posebno svome sinu Luki koji me uvek inspiriše da dam još više od sebe*

## SAŽETAK

**Uvod:** Multipla skleroza (MS) je hronično inflamatorno i neurodegenerativno oboljenje centralnog nervnog sistem (CNS) koju odlikuje izrazita heterogenost, počevši od patoloških procesa pa sve do kliničke slike i prognoze. Osim motornih ispada koji dovode do značajne invalidnosti ovih mladih ljudi, značajan broj bolesnika sa MS ima i kognitivne poremećaje koji se javljaju kod čak 40%-70% bolesnika, a koji mogu u velikoj meri da remete njihovo svakodnevno funkcionisanje i kvalitet života i bez prisutnog lokomotornog oštećenja. U poslednjih dvadesetak godina je interesovanje za ovu vrstu ispada u MS značajno poraslo i velika pažnja istraživača je usmerena na pokušaje objašnjenja mehanizama koji dovode do kognitivnih ispada u MS. To se pre svega odnosi na studije sa primenom magnetne rezonance (MR) koje pokušavaju da ustanove koji patološki procesi u mozgu bolesnika sa MS najviše doprinose nastanku i razvoju ovih, nemotornih, poremećaja. Dosadašnji rezultati neuroimaging studija su pokazali kontradiktorne rezultate o mehanizmima nastanka kognitivnih oštećenja (KO) u MS, odnosno pokazali su da različiti patološki procesi koji se odvijaju u mozgu (multifoklani vs. difuzni, procesi u beloj masi vs. procesi u sivoj masi mozga) kod ovih bolesnika mogu da doprinesu nastanku KO, a najveći broj studija je uključivao heterogenu populaciju bolesnika sa MS. S obzirom da je pokazano da veliki broj parametara strukturalnog oštećenja mozga kod bolesnika od MS može da doprinese razvoju KO, retki su pokušaji da se, primenom sveobuhvatan analize procesa u mozgu i korišćenjem multiparametarskog modela identifikuju tzv. snažni MR „biomarkeri“ KO oštećenja u MS.

**Ciljevi studije** su bili sledeći: 1. Analiza ukupne zapremine fokalnih lezija bele (na T2 i T1 sekvenci MR) i sive mase (kortikalni plakovi) kod bolesnika sa relapsno remitentnom MS (RRMS) sa KO i poređenje tih nalaza sa onim dobijenim kod bolesnika bez KO; 2. Analiza atrofije sive (SM) i bele mase (BM) mozga u navedene dve grupe bolesnika, kao i poređenje ovih parametara sa vrednostima dobijenim kod zdravih ispitanika; 3. Analiza atrofije subkortikalnih struktura sive mase (talamus, putamen, kaudatus, hipokampus, amigdaloidna jedra, nc. accumbens) kod bolesnika sa MS i utvrđivanje eventualnih razlika u volumenu ovih struktura između bolesnika sa i bez KO, kao i poređenje sa podacima dobijenim kod zdravih ispitanika; 4. Identifikacija seta MR varijabli nakon multiparametarske analize, koje najbolje koreliraju sa kognitivnim oštećenjima, primenom multivarijantne analize, a u cilju identifikacije da li inflamatorni (zapremina fokalnih lezija u beloj i sivoj masi mozga) ili pak,

neurodegenerativni procesi (atrofija mozga, sive i bele mase, kao i atrofija subkortikalnih struktura, ukupna ili parcijalna) više doprinose nastanku kognitivnih ispada kod RRMS.

**Materijal i metode:** Bolesnici od MS koji su uključeni u istraživanje su regrutovani u sedam Evropskih centara, u okviru velikog multicentričnog Evropskog projekta MAGNIMS (engl. "Magnetic Resonance in Multiple Sclerosis") grupe ([www.magnims.eu](http://www.magnims.eu)) od 01.01.2009. do 01.05.2012. godine. U studiju su uključeni bolesnici sa dijagnozom RRMS prema modifikovanim McDonaldovim kriterijumima, kao i zdravi ispitanici (ZI) koji nisu imali istoriju bilo kakve neurološke bolesti, a koji se nisu razlikovali od bolesnika od MS po polnoj distribuciji. Neuropsihološka evaluacija, koja je urađena u svakom od navedenih centara, je obavljena upotrebom validiranog prevoda Rao-ove Kratke Ponovljive Neuropsihološke Baterije, koja je prevedena na odgovarajući maternji jezik. Dodatno, kod svakog bolesnika uključenog u studiju je urađen i Wiskonsin test sortiranja karata kako bi se bolje procenile egzekutivne funkcije. Pregled mozga MR je obavljen na aparatima jačine magnetnog polja od 3.0 Tesla u svim centrima uključenim u studiju. Analiza snimaka (postprocessing) je obavljena u Odseku sa Neuroimaging istraživanja, Naučnog Instituta i Univerzitetske bolnice San Raffaele, Milano, Italija, i podrazumevala je merenje zapremine lezija detektovanih na T2 sekvenci (ZLT2), kao i ukupnu zapreminu hipotenznih lezija detektovanih na T1 sekvenci (ZLT1). Identifikacija lezija u sivoj masi, odnosno kortikalnih lezija (KL) je obavljena korišćenjem DIR sekvence. Kod svih učesnika u studiji je merena ukupna zapremina mozga (NZM), zatim zapremina SM (NZSM) i BM (MZBM) mozga, kao i kortikalne sive mase (NZKSM). Za ovu analizu korišćene je potpuno automatizovani softver SIENAx. Automatska segmentacija subkortikalnih struktura SM obavljena je na 3D T1W sekvencama koristeći softver FSL FIRST (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FIRST>).

**Rezultati:** U studiju je uključeno 62 bolesnika sa RRMS i 65 ZI. U ovom istraživanju je KO detektovano kod 37% bolesnika. U poređenju sa bolesnicima koji su bili kognitivno očuvani, bolesnici koji su imali KO su imali značajno veću ZLT2, ZLT1, dok se broj i zapremina KL nije razlikovala između ove dve grupe bolesnika. Bolesnici sa KO su pokazali značajno veći stepen atrofije NZM, NZSM, NZBM i NZKSM kao i svih struktura subkortikalne sive mase u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike. Globalan Z skor neuropsihološkog je pokazao korelaciju sa svim ispitivanim parametrima kako fokalnog (ZLT2, ZLT1), tako i globalnog oštećenja mozga (NZM, NZSM, NZBM i NZKSM), a naročito sa zapreminom svih pojedinačnih struktura subkortikalne sive mase ( $p < 0.03$  do  $p < 0.001$ ). Sličan rezultat je dobijen kada je u pitanju ispitivanje funkcije pažnje. Skorovi vizuelne memorije su pokazali korelaciju sa ZLT2, ZLT1, NZM, NZBM, ukupnim volumenom svih subkortikalnih SM, kao

i zapreminom talamusa i putamena. Egzekutivne funkcije su pokazale korelaciju samo sa ZLT2, ZLT1. Nije utvrđena korelacija za ostale ispitivane kognitivne domene sa MR parametrima. U modelu multivarijantne analize prosečni hipokampalni volumen (objašnjava varijansu=15%,  $p=0,0002$ ) se pokazao kao najbolji prediktor globalnog kognitivnog Z skora, zatim ukupni normalizovani volumen subkortikalne SM (objašnjena varijansa=19%,  $p<0,001$ ) kao najbolji predskazivač Z skora pažnje, i NZM (objašnjena varijansa=10%,  $p=0,006$ ) kao najbolji predskazivač Z skora vizuelnog pamćenja i NZBM (objašnjena varijansa=8%,  $p=0,008$ ) kao najbolji predskazivače EDSS skora.

**Zaključak:** Rezultati ove studije ukazuju da u nastanku KO kod bolesnika sa RRMS značajno doprinose kako multofokalne promene u BM, tako i atrofija svih struktura mozga (SM i BM i korteksa), a posebno atrofija hipokampusa i svih struktura subkortikalne SM, koje bi trebalo implementirati u sve buduće studije kada se ispituju mehanizmi nastanka KO u MS, kao i prilikom planiranja eventualnih terapijskih intervencija u tom smislu.

Ključne reči: multipla skleroza, kognitivna oštećenja, magnetna rezonanca, atrofija, siva masa

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Multiple sclerosis (MS) is chronic inflammatory and neurodegenerative disease of the central nervous system (CNS) characterized by various heterogenic pathological processes, clinical courses and prognosis. Beside motor deficits which lead to significant disability in these patients, cognitive impairment (CI) is a frequent finding in MS patients, with the prevalence ranges from 40% to 70%. Although CI in MS has only been recognized recently as an important symptom over the past few decades, research has shown that they have a large effect on many everyday activities and quality of life. There has been an increased interest in research filed with a critical need to define pathological mechanisms of CI in MS. Magnetic resonance imaging (MRI) is extremely sensitive in detecting MS related tissue abnormalities, and broad spectrum of studies have been published so far in order to define which pathological mechanisms are the most responsible for CI in MS. However, results are still conflicting showing that both focal and diffuse brain damage, as well as both white matter (WM) and grey matter (GM) brain damage can contribute to CI development in MS. Most of these studies had heterogeneous population of MS patients. Despite these, multiparametric and comprehensive MR approach approach is still rare, especially in homogenous group of relapsing remitting MS (RRMS) patients.

**Aims of the study:** 1. Assessment of total lesion volume of both WM (registered on T1W and T2W sequences) and GM (cortical lesions) in patients with RRMS with and without CI; 2. Analysis of both WM and GM brain atrophy in two groups of patients, as well as comparison with healthy controls (HC); 3. Analysis of volumetric measures of subcortical GM structures (thalamus, putamen, caudate, hippocampus, amygdala and accumbens) in both group of patients and their contribution to CI in MS, as well as comparison with the findings obtained in HC; 4. Identification of the set of MR imaging variables most closely associated with CI in RRMS using multivariate analysis in order to assess whether inflammatory pathology (lesion load in both WM and GM) or neurodegenerative processes (total brain atrophy, WM and GM atrophy and deep grey matter atrophy) are most responsible for CI in RRMS patients.

**Materials and methods:** Subjects were recruited from January 2009 to May 2012 as part of a project on imaging correlates of CI in MS at 7 European centers, all part of MAGNIMS group ("Magnetic Resonance in Multiple Sclerosis") ([www.magnims.eu](http://www.magnims.eu)). Patients included in the study had diagnosis of RRMS, using revised McDonald's criteria. Also, study included HC with no neurological disease, which did not differ by gender. Neuropsychological assessment



has been done by using the valid translation of The Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests. In addition, the Wisconsin Card Sorting Test was administered to evaluate executive functions. MRI exams has been done on 3.0. Tesla scanners in all study centers. Central analysis and postprocessing has been done in Neuroimaging Research Unit and Department of Neurology, Institute of Experimental Neurology, Division of Neuroscience, San Raffaele Scientific Institute, Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy. Brain T2-hyperintense and T1-hypointense lesion volumes (LV) were measured on dual-echo and 3D T1-weighted scans, cortical lesion (CL's) volume was measured on DIR sequence. Normalized brain volume (NBV), normalized GM volume (NGMV), normalized cortical GM volume (NCGMV), and normalized WM volume (NWMV) were measured on 3D T1-weighted scans by using FSL SIENAX (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/SIENA>). Automatic segmentation of the thalamus, caudate, putamen, pallidum, hippocampus, amygdala, and accumbens was performed on 3D T1-weighted scans by using the FMRIB Integrated Registration and Segmentation Tool – FIRST software (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki>).

**Results:** Sixty-two patients with RRMS and 65 HC were included in the study. Twenty-three (37%) patients with MS were CI. T2 LV and T1 LV were significantly higher in CI then CP patients, but CLV did not differ significantly between two group of patients. CI patients showed significantly higher NBV, NGMV, NWMV and NCGMV atrophy rates then CP patients. Global Z score showed correlation with all parameters, both focal (T2LV and T1LV) and diffuse brain damage (NBV, NGMV, NWMV and NCGMV), and especially with deep GM matter structures ( $p < 0.03$  -  $p < 0.001$ ). Similar results were obtained for attention scores. Visual memory scores showed correlation with T2LV, T1LV, NBV, NWMV deep GM nuclei volume, as well as thalamus and putamen volumes. Executive functions showed correlation with T2LV and T1LV. No other cognitive domains showed correlation with any of the MR parameters. The multivariate analysis retained average hippocampal volume (explained variance = 15%,  $P = .0002$ ) as the best predictor of global cognitive z scores, normalized volume of deep GM nuclei (explained variance = 19%,  $P = .001$ ) as the best predictor of attention z scores, normalized brain volume (explained variance = 10%,  $P = .006$ ) as the best predictor of visual memory z scores, and normalized WM volume (explained variance = 8%,  $P = .008$ ) as the best predictor of EDSS scores.

**Conclusion:** Results of our study shows that both focal (WM lesions) and diffuse (GM, WM, cortex and whole brain atrophy) pathology, especially hippocampal and deep gray matter

nuclei atrophy are critical for explaining cognitive impairment in MS. These finding should be implemented in all future studies of cognitive impairment in MS, as well as in future treatment studies.

Key words: multiple sclerosis, cognitive impairment, magnetic resonance imaging, grey matter, atrophy

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Fokalne promene u mozgu .....	3
1.2. Difuzne promene u mozgu kod bolesnika od MS .....	7
1.3. Kognitivni poremećaji kod bolesnika sa MS .....	15
1.4. Neuromidžing korelati kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa MS .....	20
1.4.1. Difuzne promene u mozgu .....	24
2. CILJEVI .....	31
3. BOLESNICI I METOD .....	32
3.1. Bolesnici .....	32
3.2. Neuropsihološko testiranje .....	34
3.3. Pregled mozga magnetnom rezonancom .....	35
3.3.1. Analiza snimaka MR (postprocessing) .....	36
3.4. Statistička analiza .....	51
4. REZULTATI .....	53
4.1. Demografske i kliničke karakteristike bolesnika i zdravih ispitanika .....	53
4.2. Nalaz na konvencionalnoj MR mozga .....	57
4.3. Volumetrija analiza na MR mozga .....	59
4.4. Korelacija kliničkih i MR parametara .....	62
5. DISKUSIJA .....	65
5.1. Kliničke i demografske karakteristike bolesnika sa RRMS uključenim u studiju .....	65
5.2. Razlike u nalazima strukturalnog oštećenja mozga kod bolesnika sa i bez kognitivnog oštećenja .....	67
5.3. Korelacija neuropsiholoških postignuća sa merama strukturalnog oštećenja mozga na MR .....	76
6. ZAKLJUČCI .....	82
7. LITERATURA .....	84

## 1. UVOD

Multipla skleroza (MS) je hronično inflamatorno i neurodegenerativno oboljenje centralnog nervnog sistem (CNS) koju odlikuje izrazita heterogenost, počevši od patoloških procesa pa sve do kliničke slike i prognoze (Drulović i sar., 2013). Ona predstavlja najčešći uzrok netraumatske neurološke onesposobljenosti kod mladih odraslih osoba (Noseworthy i sar., 2000), a procenjuje se da je u svetu broj obolelih oko 2 miliona (Young, 2011). Početak bolesti je najčešće između 20 i 40 godine života, a češće se javlja kod žena (Koch-Heriksen i sar., 2010). Iako je klinički tok MS veoma varijabilan, izdvajaju se tri osnovne forme ove bolesti: relapsno remitentna (RR), primarno progresivna (PP) i sekundarno progresivna (SP) forma (Lublin i Reingold, 1996, Lublin i sar., 2014). Relapsno remitentna forma bolesti se javlja kod 80-90% bolesnika na početku bolesti. Njena osnovna karakteristika je pojava akutnih neuroloških ispada koji se nazivaju relapsi ili egzacerbacije bolesti a nakon kojih sledi period potpune ili nepotpune remisije. Učestalost pojave i težina relapsa je nepredvidiva kao i dužina trajanja remisije. Kod oko 50% ovih bolesnika, nakon 10-15 godina trajanja bolesti, tok bolesti može poprimiti nepovoljan razvoj i voditi nastanku sekundarne progresije gde se trajni neurološki deficit progresivno akumulira sa ili bez superponiranja novih relapsa. Kod 10-15% bolesnika od samog početka postoji postepeni i progresivan razvoj neurološkog deficita bez jasnih epizoda relapsa i remisije, što se viđa kod bolesnika sa PPMS. Kod većine bolesnika se razvija određen stepen trajne neurološke invalidnost koja značajno kompromituje život ovih bolesnika.

Etiologija MS nije utvrđena, ali se pretpostavlja je za razvoj bolesti potrebna kombinacija genetske predispozicije i faktora sredine (virusne infekcije, vitamin D, pušenje i dr.), te da interakcije ovih faktora dovode do specifičnih imunskih poremećaja, koji rezultiraju autoimunskim oštećenjima CNS, pre svega mijelina (Giovanonni i Ebers, 2007 i Pekmezović, 2013). Do skora se smatralo da je glavno patološko obeležje MS nastanak demijelinizacionih plakova u beloj masi CNS koji se formiraju nakon prodora imunskih ćelija kroz krvno moždanu barijeru. Ulaskom u CNS, autoreaktivni T limfociti usmereni, najčešće prema autoantigenima mijelina, pokreću čitav niz procesa koji rezultira razvojem brojnih fokusa inflamacije, demijelinizacije, glioze i aksonalne degeneracije (plakova) (Mostarica Stojković, 2013, Lassman i sar., 2007). Karakteristike plakova u beloj masi su dobro definisane, pa se

danas zna da postoje 4 tipova demijelinizacije kod bolesnika od MS, odnosno da kod jednog bolesnika postoji, dominira samo jedan od 4 tipova demijelinizacije što se smatra i jednim od glavnih uzroka heterogenosti kako u kliničkom ispoljavanju, tako i u prognozi ali i u terapijskom odgovoru (Lucchinetti i sar., 2000). Međutim, odsustvo ili prisustvo vrlo skromne korelacije kliničkih pokazatelja oštećenja kod bolesnika od MS sa zapreminom promena u beloju masi mozga na MR, ili tzv. kliničko-radiološki paradoks (Barkhof, 2002) se danas može mnogo bolje objasniti sa novim spoznajama u patogenezi i patologiji ove bolesti, odnosno saznanjima da MS nije samo multifokalna bolest bele mase, već i sive mase, kao i da ova bolest ima više difuzni nego multifokalni karakter što je dovelo do značajnog promena sagledavanja koncepta bolesti a samim tim i traženja drugih, potencijalnih markera koji bi na sveobuhvatniji način trebalo da se uzmu u obzir pri pokušaju koreliranja nalaza na neuroimidžingu sa kliničkim karakteristikama bolesti (Barkhof i sar., 2009, Filippi i sar., 2012, Rocca i sar., 2013). Jedan od značajnijih pomaka u tom smislu je bilo otkriće da je demijelinizacioni proces prisutan i u sivoj masi mozga, ali i da osim fokalnih zapaljenskih promena u mozgu postoje i difuzne promene u skoro svim strukturama mozga koje nisu detektibilne rutinskom upotrebom MR a koje su značajne za patogenezu bolesti i razvoj sveukupnog kliničkog oštećenja kod ovih bolesnika (Mesaroš i Drulović, 2013, Filippi i sar., 2012, Enzinger i sar., 2015). Dodatno, kompleksnosti patogeneze MS doprinose činjenice koje potvrđuju da se osim autoimunskog procesa u mozgu i KM paralelno odvija i progresivan neurodegenerativni proces (transekcija aksona, retrogradna i anterogradna degeneracija neurona), a koji neumitno dovodi do gubitka moždanih struktura i progresivnog razvoja atrofije mozga koja ima značajnu ulogu u razvoju trajnog invaliditeta u MS (Bermel i Bakshi, 2006, Mesaroš, 2009, Filippi i sar., 2014, Jacobsen i sar., 2014).

Klinička slika MS je veoma raznolika zahvaljujući činjenici da nijedna struktura CNS nije pošteđena patološkim procesom, te se tako smatra da ne postoji neurološki simptom ili znak koji ne može da se javi u MS. Ipak, najčešće, simptomi obuhvataju oštećenja piramidnog puta (slabost i oduzetost ekstremiteta), malog mozga (nestabilnost hoda, nespretnost ekstremiteta, poremećaj govora), zatim očnog živca (sniženje ili gubitak vida), moždanog stabla (duple slike, smetnje sa govorom, trnjenje lica, vrtoglavice), oštećenje senzitivnih puteva (trnjenje, utrnulost), poremećaj sfinktera itd. Osim ovih tegoba, javljaju se i druge smetnje koje nisu lokalizaciono vezane za poremećaj određenog sistema, kao što su zamor, kognitivna oštećenja i psihičke izmene (Dačković i sar., 2013).

## 1.1. Fokalne promene u mozgu

Dijagnoza MS se zasniva na dijagnostičkom postupku koji u sebe uključuje kombinaciju kliničkih i prakliničkih markera, pre svega magnetne rezonance (MR) mozga i kičmene moždine (KM), za dokazivanje diseminacije u vremenu i prostoru, uz obavezne uslove da klinička slika mora biti tipična za MS i da za klinički sliku ne sme postojati drugo, bolje objašnjenje (McDonald i sar., 2000, Polman i sar., 2010, 2015). Zahvaljući dostupnosti MR, danas se dijagnoza bolesti može postaviti veoma brzo, čak i nakon jednog jedinog kliničkog ataka koji ukazuje na MS (Polman i sar., 2010). Naime, MR predstavlja najsenzitivniju neuroradiološku metodu i esencijalan alat u procesu dijagnostike i praćenja bolesnika obolelih od MS. Naime, kod skoro 90-95% bolesnika od MS se na MR mozga detektuje prisustvo fokalnih hiperintenznih zona (HIZ) na T2W (*T2 weighted*), proton density (PD) i FLAIR ("*fluid attenuated inversion recovery*") sekvencama. HIZ mogu biti različite veličine od nekoliko milimetara (najmanje 3) do više od jednog centimetra, čak mogu biti i veće, u slučaju pojave konfluentnih promena. Promene su najčešće oštro ograničene, ovalnog ili okruglog oblika i imaju asimetričnu distribuciju, a predilekciona mesta za njihovu lokalizaciju su periventrikularna bela masa, korpus kalozum, infratentorijalni delovi mozga (moždano stablo i cerebelum), optički živci kao i KM (Fazekas i sar., 1999, Filippi i sar., 2006). S obzirom da su se, upotrebom standarnih MR protokola, kod bolesnika od MS detektovale samo promene u beloj masi mozga i KM, do nedavno je ova bolest bila definisana isključivo kao multifokalna bolest bele mase CNS. Međutim, zahvaljujući velikom napretku u razvoju tehnologije, pre svega upotrebom savremenih imunohistohemijskih metoda u patologiji, a zatim i tehnološkom napretku u oblasti neuroimidžinga, u poslednjih dvadesetak godina se došlo do saznanja da se multiple fokalne promene (plakovi) u MS detektuju ne samo u beloj masi mozga, već da se u značajnoj meri detektuju i u sivoj masi mozga (kortikalni plakovi) i da predstavljaju značajnu patologiju koja se odvija u mozgu bolesnika obolelih od MS.

Iako je postojanje kortikalnih plakova opisano vrlo davno, doduše u malom broju histopatoloških studija u MS (Brownell i sar., 1962 i Lumsden, 1970), interesovanje za precizniju definiciju i karakteristike ove vrste patologije kao i njen značaj u patogenezi i prognozi u MS je oživelo tek početkom ovog veka. Prva uporedna patohistološko-MR studija je pokazala postojanje velikog broja kortikalnih lezija od kojih je većina zahvatala i subkortikalnu belu masu, dok je manji deo bio isključivo lokalizovan u korteksu (Kidd i sar.,

1999). Zanimljivo je da lezije lokalizovane isključivo u korteksu nisu posedovale značajniju zapaljensku komponentu, dok su lezije koje su zahvatale i subkorteks imale slične karakteristike kao i promene lokalizovane u BM. Par godina kasnije, detaljna patološka studija diferencira tri vrste kortikalnih lezija: prve, koje nastaju u beloju subkortikalnoj masi i šire se na korteks, zatim drugi tip koji je označen kao „čiste“ intrakortikalne lezije lokalizovane perivaskularno i treći tip lezija je označen kao subprijalne lezije koje izrastaju iz pijalnih struktura na površini korteksa (Peterson i sar., 2001). Ova studija je pokazala da je učestalost kortikalnih promena daleko veća nego što se ranije smatralo, te da najveći broj fokalnih promena nastaje upravo u sivoj masi, kao i da je zapaljenski proces kod njih daleko manje zastupljen u odnosu na onaj koji se dektuje kod promena u beloju masi. Skromno prisustvo limfocita, imunoglobulina i komponenti komplementa u „čisto“ kortikalnim promenama govori u prilog tome da je njihova patogeneza drugačija u odnosu na one koji nastaju u beloju masi a zatim se šire ka korteksu a u kojima je zapaljenski proces značajnije prisutan (Peterson i sar., 2001, Bó i sar., 2003a). Osim toga je pokazano da „čisto“ kortikalne promene predstavljaju najveći deo detektovanih kortikalnih plakova, čak 84.4% u odnosu na ukupan broj detektivanih lezija u korteksu (Bó i sar., 2003b). Dodatno, što je veoma zanimljivo, ova studija je pokazala da je ekstenzivnost kortikalnih promena, koje mogu zahvatati i do 26,5% površine korteksa, značajno veća u odnosu na ekstenzivnost plakova u subkortikalnoj beloju masi te se tada moglo zaključiti sa korteks predstavlja jedno od predilekcionih mesta za nastanak plakova (Bó i sar., 2003b). Nasuprot ovih saznanja neke skorašnje studije su pokazala da se kortikalni plakovi javljaju veoma rano u bolesti, čak i kod bolesnika sa klinički izolovanim sindromom koji ukazuje na MS (KIS) (Lucchinetti i sar., 2011), ali da su značajno većoj meri prisutni kod bolesnika sa progresivnom formom bolesti i da imaju predilekciju za cingulatni girus, temporalni lobus, insulu i subkortikalne strukture sive mase (Vercellino i sar., 2005, Kutzelnigg i sar., 2005). Osim toga, u studiji Vercellino i sar., (2005) je jasno pokazano da se u kortikalnim plakovima odvija značajan zapaljenski proces koja bi mogao biti povezan sa meningealnom inflamacijom, ali je isto tako detektovan i značajan gubitak tela neurona u korteksu ovih bolesnika što ukazuje da kortikalni plakovi svakako doprisne apoptozi neurona i atrofiji sive mase. (Vercellino i sar., 2005). Ekstenzivno formiranje kortikalnih plakova je zatim pokazano i u korteksu malog mozga (oko 38,7% površine) pre svega kod bolesnika sa PPMS i SPMS, ukazujući da bi ova patologija mogla da bude odgovorna za trajni invaliditet kod ovih bolesnika (Kutzelnigg i sar., 2007). Takođe, struktura u kojoj je pokazana ekstenzivna demijelinizacija kod bolesnika sa progresivnom formom MS je hipokampus (Geurts i sar., 2007).

Posebno značajna forma kortikalnih plakova koja se ne može prikazati na snimicima MR su subprijalni plakovi koji naročito dominiraju kod bolesnika sa progresivnim formama bolesti dok su kod bolesnika sa RRMS daleko više zastupljeni kortiko-subkortikalni plakovi i mali intrakortikalni plakovi (Kutzelnigg i sar., 2006). Međutim, prisustvo subprijalnih plakova je pokazano i najranijim fazama bolesti, kod bolesnika sa KIS i RRMS u značajnom stepenu, a takođe je pokazano da u njihovom formiranju zapaljenski proces ima dominantnu ulogu (Lucchinetti i sar., 2011). Studija sprovedena od strane Kooi i sar. (2012) ukazuje na potencijalnu povezanost između značajnijeg prisustva zapaljenskog procesa u kortikalnim plakovima i lošije prognoze bolesti kod obolelih od MS.

Kada je u pitanju detekcija kortikalnih plakova „in vivo“ upotrebom MR, nailazilo se na puno poteškoća prilikom traženja adekvatne sekvence koja bi bila u stanju da bude dovoljno senzitivna, ali isto tako i specifična da sa velikom sigurnošću može da prikaže plakove u korteksu koji je vrlo složena struktura. Ovo je prevaziđeno upotrebom sekvence koja se zove DIR (engl. „*double inversion recovery*“), a koja omogućava bolju detekciju signala sive mase, gašenjem signala likvora i bele mase. Takođe je pokazano da je detekcija kortikalnih plakova bila značajno bolja upotrebom MR skenera sa većim magnetnim poljem (3T, 7T), ali sa korišćenjem 3D DIR sekvence (Calabrese i sar., 2010a; Klisdonk i sar., 2012 i Seewan i sar., 2012). Kortikalne lezije se na DIR sekvenciji prikazuju kao hiperintenzne promene što je veoma lako uočljivo, međutim poznato je da DIR sekvenca sadrži dosta artefakata koji se prezentuju na veoma sličan način, te mogućnost pogrešne interpretacije kortikalnih lezija nije zanemarljiva. Zbog toga su donete preporuke, konsenzusom od strane eksperata MAGNIMS (engl. *Magnetic Resonance in multiple sclerosis*) grupe, gde se precizno definiše, koji kriterijumi treba da budi ispunjeni da bi se neka promena na DIR sekvenci, sa najvećom mogućom sigurnosti, mogla proglasiti kortikalnom lezijom (Guerts i sar., 2011).

Danas je upotrebom MR, prisustvo kortikalnih plakova dokazano u svim kliničkim formama MS, pa čak i kod bolesnika sa KIS (čak kod 36% bolesnika), odnosno kod potencijalnog prvog ataka bolesti što ukazuje da se ova vrsta patologije razvija već na samom početku bolesti, samo što nismo imali dovoljno dobre instrumente za njihovu detekciju do nedavno (Filippi i sar., 2010, 2013a, Calabrese i sar., 2007, 2009, 2010a,b). U razvijenoj fazi bolesti, procenat detekcije kortikalnih plakova raste, tako da se ove lezije otkrivaju kod 64% bolesnika sa RRMS i čak u oko 73% sa SPMS (Calabrese i sar., 2007). Trogodišnje praćenje bolesnika sa relapsnim početkom je pokazalo da se kod bolesnika koji su imali značajniju



kliničku deterioraciju, značajno povećao broj kortikalnih promena, kao i da je volumen ovih promena ima značajnu prediktivnu vrednost za razvoj ireverzibilnog neurološkog oštećenja (Calabrese i sar., 2010b, Calabrese i sar., 2013). Slični rezultati su dobijeni petogodišnjim praćenjem kohorte bolesnika sa različitim fenotipovima MS, gde je pokazano da je veća ukupna zapremina ovih promena i veća akumulacija tokom perioda praćenja bila značajno povezana sa progresijom kako ukupne neurološke invalidnosti, tako i naknadnog razvoja kognitivnog oštećenja (Calabrese i sar., 2012a). Zanimljivo je da je kod bolesnika sa benignom MS (BMS) volumen ovih lezija značajno manji u odnosu na bolesnike sa RRMS i da se tokom longitudinalnog praćenja taj volumen ne menja značajno, za razliku od procesa koji se odvija kod RRMS, što ukazuje da relativna skromna kortikalna patologija kod bolesnika sa BMS može biti odgovorna za povoljan tok koji ovi bolesnici imaju (Calabrese i sar., 2009a). Veoma značajno za razumevanje patologije PPMS je da se u značajno velikom procentu ovih bolesnika detektuje prisustvo kortikalnih lezija (kod čak 81% bolesnika) i da volumen ovih lezija predstavlja značajan prediktivni faktor u naknadnom razvoju progresije invalidnosti tokom dvogodišnjeg praćenja (Calabrese i sar., 2009b). Sa druge strane, druga studija koja je poredila bolesnike sa PPMS i RRMS, je pokazala da je učestalost detekcije kortikalnih lezija u obe grupe bila podjednaka kao i da su ove promene najčešće bile lokalizovane u frontalnom (motorni korteks) i temporalnom režnju (cingulum) (Calabrese i sar., 2010a). Zanimljivo da studije sprovedene u pedijatrijskoj populaciji bolesnika obolelih od MS, pokazuju značajno manje prisustvo kortikalnih lezija, kod samo 8% bolesnika, u odnosu na 66% u RR formi bolesti kod adultne populacije (Absinta i sar., 2011), što može sugerisati da kortikalna demijelinizacija nije značajno zastupljena u ranoj fazi bolesti, ali predstavlja veoma značajan faktor u razvijenoj fazi bolesti. O značaju kortikalnih lezija u razvoju kliničke slike MS dodatno govori i studija koja je pokazala da bolesnici sa MS i epilepsijom imaju značajno veći broj ovih lezija i njihovu veću akumulaciju tokom trogodišnjeg praćenja u odnosu na bolesnike koji nisu imali epilepsiju (Calabrese i sar., 2012b).

Pokazano je da se, ako se detekcija kortikalnih lezija kod bolesnika sa KIS uključe u dijagnostički algoritam za potvrdu diseminacije u prostoru, značajno povećava tačnost ovog dijagnostičkog postupka (Filippi i sar., 2010). Dodatno, činjenica da se kortikalne lezije ne detektuju u bolestima koje diferencijalno dijagnostički dolaze u obzir kada je MS u pitanju (migrena, bolesti spektra neuromijelitis optika), zatim da se ne detektuju kod zdravih osoba, ukazuju da je pojava kortikalnih lezija visoko specifična za MS i da bi detekcija ovih lezija

mogla da ima veliku dijagnostičku vrednost u potvrđivanju diseminacije u prostoru što je relativno skoro i predloženo od strane MAGNIMS grupe (Filippi i sar., 2016).

Kada se govori o fokalnoj patologiji u MS potrebno je spomenuti i hronične (perzistentne) hipointenzne lezije koje se detektuju na T1 sekvencama MR, tzv. „crne rupe“ ili „black-holes“. Smatra se da su ove promene odraz veće destrukcije tkiva, pre svega gubitka aksona i težeg stepena oštećenja mijelina sa prominentnom gliozom, gubiktom oligodendrocita i minimalnim prisustvom zapaljenjskih ćelija (Bruck i sar., 1997, van Walderveen i sar., 1998, Bitsch i sar., 2001). Ove promene se češće deketuju kod bolesnika sa progresivnim formama MS a izgleda da genetska predispozicija može imati ulogu u njihovom nastanku (Sahraian i sar., 2010). Interesovanje za ovakvu vrstu patologije je poraslo kada je pokazano da njihova zapremina pokazuje bolju korelaciju sa neurološkim oštećenjem kod bolesnika od MS (Truyen i sar., 1996, Paolillo i sar., 1999). Međutim ova korelacija nije bila pokazana u drugim studijama (Simon i sar., 2000, Koudriavtseva i sar., 1997, van Walderveen i sar., 1999). Takođe, činjenica da se samo 10-30% HIZ promena koje se vide u beloj masi prikazuju kao „crne rupe“ ukazuju da kvantifikovanje hipointenznih lezija prikazuje samo jedan delimičan deo patologije koji se odvija u mozgu bolesnika od MS. Ipak, treba imati u vidu da je ova vrsta patologije može da ima značaj u dugoročnoj prognozi bolesnika sa MS, jer je pokazano da je nagomilavanje ovih promena, tokom desetogodišnjeg praćenja bolesnika sa RRMS, bilo značajno povezano sa progresijom invalidnosti (Giorgio i sar., 2014) što je takođe pokazano i nakon dvanaestogodišnjeg praćenja bolesnika sa RRMS i SPMS (Minneboo i sar., 2009).

## **1.2. Difuzne promene u mozgu kod bolesnika od MS**

Osim što postoje multifokalne promene u beloj i sivoj masi mozga koje su vidljive na snimcima MR mozga, u MS postoje i difuzne promene u naizgled normalnoj beloj masi (NNBM) mozga koje se ne mogu detektovati primenom konvencionalnih sekvenci MR (kMR). Upotrebom nekonvencionalnih tehnika MR kao što su „*magnetisation transfer*“ (MTR), „*diffusion tensor*“ (DT), zatim metoda analize „voxel po voxel“, a koje su omogućile detekciju i kvantifikovanje promena u mozgu, koje se ne mogu uočiti standardnim pregledima MR, pokazano je da se kod bolesnika od MS NNBM razlikuje u odnosu na zdrave kontrole, odnosno da u njoj postoje i mikroskopske promene, koje su manje ili više izražene u zavisnosti od udaljenosti od makroskopskih promena (Filippi i sar., 1995, 1999, Tortorella i

sar., 2000, Moll i sar., 2011). Patološki supstrat ovih mikroskopskih promena je heterogen: gubitak mijelina, aksonalna degeneracija, gliozna, aktivacija mikroglije i astrocita, vaskularne promene i remijelinizacija koji se odvijaju van makroskopski vidljivih lezija (Ludwin, 2006). Promene u NNBM su detektovane kod svih kliničkih formi MS (Filippi i sar., 1995, Filippi i sar., 1999, Preziosa i sar., 2011), kao i kod bolesnika u najranijoj fazi bolesti, odnosno kod bolesnika sa KIS (Preziosa i sar., 2011, Gallo i sar., 2005, Raz i sar., 2010a, Rocca i sar., 2016a).

Interesantno je da stepen mikroskopskog oštećenja u NNBM pokazuje značajnu korelaciju sa zapreminom vidljivih HIZ lezija u beloj masi, kako kada se uzima u obzir globalno oštećenje bele mase (Mesaroš i sar., 2010), tako i kada se vrši korelacija na manje globalnom nivou, odnosno između stepena unutrašnjeg oštećenja precizno selektovanih traktova bele mase i fokalnih promena koje se u njima detektuju (Mesaroš i sar., 2009). Ova činjenica ukazuje na to, da su difuzne mikroskopske promene u NNBM velikim delom posledica multifokalnog oštećenja izazvanog vidljivim lezijama, ali da se moraju uzeti u obzir i kvantifikovati u skoru ukupnog oštećenja mozga kod bolesnika od MS.

Rezultati brojnih studija, takođe, su ukazali su na postojanje mikroskopskih promena i u naizgled normalnoj sivoj masi (NNSM) mozga kako u razvijenim fazama bolesti tako i već na samom početku bolesti (Filippi i sar., 2013a, Ceccarelli i sar., 2007, 2008, Rovaris i sar., 2008a, Rocca i sar., 2016a). Pretpostavlja se da ove mikroskopske promene u NNSM potiču od sekundarne degeneracije neurona koji nisu povezane za postojanjem kortikalnih lezija kao što su apoptoza kortikalnih neurona, metabolička disfunkcija ćelija i sinaptičke promene (Barkhof i sar., 2009).

Merenje globalnog oštećenja mozga, kao što su difuzne promene u NNBM i NNSM nisu samo od akademskoj značaja u poznavanju celokupne patogeneze kompleksnog patološkog procesa koji se odvija u mozgu bolesnika obolelih od MS, već mogu da imaju i klinički značaj jer je pokazano da se stepen ovih promena razlikuje među različitim formama MS, odnosno da su u mnogo većoj meri prisutne kod bolesnika sa progresivnim formama MS (Preziosa i sar., 2011, Seewann i sar., 2009), kao i da mogu da imaju značajnu ulogu u razvoju naknadne progresije i akumulacije neurološkog deficita u MS, kao i u razvoju kognitivnih oštećenja u ovoj bolesti (Agosta i sar., 2006, Fisniku i sar., 2009, Traboulsee i sar., 2003, Enzinger i sar., 2015, Preziosa i sar., 2014, Filippi i sar., 2013b, Mesaroš i sar., 2011, 2012, Sastre-Garriga i sar., 2005, Rovaris i sar., 2006).

Svi do sada navedeni mikroskopski i makroskopski procesi koji se odvijaju u mozgu bolesnika obolelih od MS i koji su veoma kompleksni, ultimativno dovode do razvoja neurodegenerativne komponente ovog oboljenja koja rezultira u atrofiji struktura kako bele, tako i sive mase mozga, odnosno celog mozga. Atrofija je mera ukupnog i progresivnog neurodegenetivnog procesa koji počinje veoma rano u MS i koji je u velikoj meri odgovoran za razvoj trajnog invaliditeta kod ovih bolesnika. Pokazano je da bolesnici sa RRMS gube 0.5–1.35% volumena mozga godišnje dok neurološki zdravi ispitanici imaju stopu atrofije od 0.1–0.3% godišnje (Barkhof i sar., 2009, DeStefano i sar., 2014, Takao i sar., 2012, Mesaroš i sar., 2008a). Nakon objavljivanja rezultata prve longitudinalne studije koja je pokazala korelaciju između progresivnog razvoja atrofije kod bolesnika sa MS i progresije EDSS skora nakon kratkoročnog praćenja ovih bolesnika (Loseff i sar., 1996), interes za istraživanjem atrofije mozga, kao značajnog parakliničkog markera u MS dobija snažnu ekspanziju. Sa unapređenjem tehnologije i razvojem sofisticiranijih metoda merenja zapremine mozga veliki broj studija ukazuje da atrofija mozga počinje u najranijim fazama bolesti, odnosno kod bolesnika sa KIS (Rocca i sar., 2016a, De Stefano i sar., 2010, Fisher i sar., 2008, Filippi i sar., 2004), kao i kod bolesnika sa pedijatrijskom MS (Mesaroš i sar., 2008b). Pojedine studije ukazuju da gubitak moždane mase, kod različitih formi MS nije isti, te da je zavisian od forme bolesti (Fisher i sar., 2008), dok druge studije pokazuju da je gubitak moždane mase u odnosu na početnu moždanu masu sličan kod svih formi bolesti, tako da veći stepen atrofije koji se registruje kod bolesnika sa progresivnim formama bolesti je, zapravo zavistan od dužine trajanja bolesti (De Stefano i sar., 2010).

Među pionirskim studijama koje su pokazale da razvoj atrofije mozga, koja je tada merena manje preciznim metodama merenja atrofije u odnosu na one koje su nam sada dostupne, ima značaj za dalju budućnost razvoja KIS su bile studije, u kojima je pokazano da oni bolesnici koji su razvili KSMS nakon KIS unutar godinu dana praćenja imali značajan razvoj atrofije mozga u poređenju sa grupom bolesnika koja nije razvila drugi atak bolesti (Brex i sar., 2000, Dalton i sar., 2002). U ovoj naranijoj fazi bolesti izračunato je da tokom dve godine praćenja nakon KIS stepen razvoja atrofije iznosi 1.68%, tokom 2 godine praćenja (Filippi i sar., 2004). Takođe je pokazano da stepen razvoja atrofije mozga unutar prve godine praćenja kod bolesnika sa KIS i ukupna zapremina fokalnih promena mozga predstavljaju najznačajnije prediktore kliničkog statusa ovih bolesnika nakon 6 godina praćenja, odnosno konverzije u KSMS (Di Filippo i sar., 2010).

Kod bolesnika sa RRMS atrofija je dokumentovana u velikom broju studija i izgleda da ima brži tempo razvoja kod bolesnika u ranijim fazama bolesti (Živadinov i Bakshi, 2004), a porcenjuje se da u ovoj formi MS prosečna stopa razvoja atrofije iznosi 0.6–1.35% godišnje (Bermel i Bakshi, 2006, Rudick i sar., 1999). Izgleda da je stepen atrofije stabilan ali progresivan proces i da se stopa atrofije mozga kod različitih formi MS ne razlikuje, odnosno da je podjednako pristna kako kod RRMS, PPMS tako i kod SPMS, ali da je nešto brža kod mlađih bolesnika (Kalkers i sar., 2002, Fox i sar., 2000, Turner i sar., 2003), mada ima podataka da je stopa razvoja atrofije kod bolesnika sa SPMS nešto manja u odnosu na bolesnike sa RRMS što bi ukazivalo da je neurodegenerativni proces izraženiji u ranijim nago u kasnijim fazama bolesti (Paolilo i sar., 1999, Filippi i sar., 2000a). Manji broj studija koji je ispitivao tempo razvoja atrofije mozga kod bolesnika sa PPMS je pokazao da je ovaj proces progresivan, da iznosi čak 1,3% godišnje, i da je nešto agresivniji nego kod bolesnika sa SPMS (Bermel i Bakshi, 2006, Ingle i sar., 2003, Stevenson i sar., 2000).

Vrlo interesantni rezultati koji daju veliki doprinos ispitivanju dinamike atrofije mozga u MS su dobijeni u studiji koja je poredila bolesnike sa radiološki izolovanim sindromom (RIS) (Okuda i sar., 2009), odnosno bolesnike koji su asimptomatski, a imaju promene na MR mozga koje sugerišu MS, (tzv. predklinička faza MS) i bolesnike sa RRMS. Naime, ova studija je pokazala da se zapremina mozga između bolesnika sa RIS i RRMS nije razlikovala, ali se značajno razlikovala u odnosu na zapreminu mozga kod zdravih ispitanika. Rezultati ove studije ukazuju da se atrofija mozga odvija i u predkliničkim fazama MS, kada su bolesnici još uvek bez simptoma, ali da se ne razlikuje značajno od atrofije koja se nalazi u već razvijenoj RRMS.

U traženju pouzdanog markera oštećenja mozga na MR, koji bi pokazivao značajnu korelaciju sa kliničkom progresijom i stepenom invalidnosti u MS, rađene su brojne studije koje su ispitivale uticaj kako fokalnih i difuznih promena u mozgu, tako i njihovu kombinaciju, uglavnom pokazale da je atrofija mozga umeren ali značajan prediktor razvoja neurološke invalidnosti kod ovih bolesnika kako u kratkoročnom tako i dugoročnom praćenju (Fischer i sar., 2002, Paolillo i sar., 2002, Ingle i sar., 2003, Losseff i sar., 1996, Sailer i sar., 2001, Ingle i sar., 2002, Živadinov i Bakshi, 2004, Bermel i Bakshi 2006, Jacobsen i sar., 2014, Živadinov i sar., 2016). Osim toga, atrofija mozga pokazuje značajnu korelaciju sa stepenom neurološke onesposobljenosti, nezavisno od promena koje se viđaju na konvencionalnoj MR mozga, mada u kombinaciji sa ukupnom zapreminom promena na mozgu detektovanih na MR, predstavlja snažan prediktivni faktor naknadnog razvoja

onesposobljenosti nakon 10 godina praćenja (Popescu i sar., 2013). Uključivanjem atrofije mozga kao parakliničkog markera sadašnjeg i budućeg kliničkog stanja bolesnika sa MS omogućava da se velikim delom prevaziđe kliničko-radiološki paradoks, kada se kao marker oštećenja mozga koriste samo zapremina fokalnih promena na MR. Zapravo, atrofija mozga kao mera difuznog oštećenja mozga i neurodegeneracije predstavlja veoma značaj i važan paraklinički marker u predikciji razvoja neurološkog oštećenja i kao takva predstavlja značajno važan faktor koji se nikako ne sme izostaviti u proceni razvoja bolesti ali isto tako i u praćenju efikasnosti savremene terapije MS, što je davno uočeno i implementirano u skoro sve kliničke studije u MS, delimično i sa ciljem uočavanja mogućeg neuroprotektivnog dejstva lekova u ovoj bolesti (De Stefano i sar., 2014).

Iako se do relativno skoro pretpostavljalo da je za gubitak moždane mase kod bolesnika od MS odgovorna pre svega atrofija bele mase, jedna od pionirskih studija koja je pokazala da je fokus na atrofiji bele mase možda pogrešna smernica u daljim istraživanjima je studija koja je pokazala da se kod bolesnika sa ranom RRMS odvija paralelno i veoma značajan proces atrofije sive mase (Chard i sar., 2002). Dodatni značaj razvoja atrofije sive mase mozga je pokazana u studiji engleske grupe autora koja je, tokom longitudinalnog praćenja bolesnika sa KIS, pokazala da su bolesnici koji su razvili klinički sigurnu MS (KSMS) (Poser i sar., 1983), tokom perioda praćenja, imali značajni razvoj atrofije sive, ali ne i bele mase mozga (Dalton i sar., 2004). Slično, u studiji španske grupe autora koja je pratila povezanost razvoja atrofije mozga kod bolesnika sa KIS i konverziju u KSMS, je pokazano da zapravo promena u zapremini celog mozga ima značajnu prediktivnu vrednost u razvoju drugog ataka bolesti, kao i da se kod ovih bolesnika viđa značajan stepen atrofije sive mase, ali ne i bele mase (Pérez-Miralles i sar., 2013). Značaj razvoja atrofije sive mase mozga je dodatno potenciran studijama koje su pokazale da zapravo stepen i razvoj atrofije sive mase, a ne bele mase mozga, pokazuje daleko bolju korelaciju sa kliničkim parametrima bolesti, pre svega u smislu naknadnog razvoja neurološke onesposobljenosti (Fisniku i sar., 2008, Živadinov i sar., 2016, Sanfilipo i sar., 2005, Lavorgna i sar., 2013).

Da je razvoj atrofije sive mase mozga u najranijoj fazi MS progresivan proces pokazuju rezultati nedavne longitudinalne neuroimidžing studije koja je koristila najsavremenije metode mapiranja mozga i pokazala da na početku longitudinalnog praćenja, odnosno na prvim referentnim snimcima (engl. *baseline*), bolesnici sa KIS nisu pokazali nijedan klaster atrofije sive mase u odnosu na zdrave kontrole, čak su pokazali i nekoliko klastera porasta volumena sive mase (Rocca i sar., 2016a). Slični rezultati su dobijeni u još

jednom istraživanju gde je pokazano da bolesnici sa KIS ne pokazuju razliku u zapremini sive mase u odnosu na zdrave ispitanike (Ceccarelli i sar., 2008), Međutim, već nakon godinu dana praćenja bolesnika sa KIS, pokazano je da se atrofija razvija pre svega u subkortikalnoj sivoj masi mozga, ali i u cerebelumu i nekim kortikalnim strukturama mozga, dok se nakon dve godine praćenja atrofija progresivno širi po korteksu (Rocca i sar., 2016a). U ovoj studiji je pokazano i da je proces atrofije bele mase mozga takođe progresivan, ali izražen u manjem stepenu nego razvoj atrofije sive mase u ovim ranim fazama bolesti, Sa druge strane, Raz i sar. (2010b) su nakon jednogodišnjeg praćenja bolesnika sa KIS, ustanovili da je tokom perioda praćenja došlo do značajnog razvoja atrofije sive mase mozga (subkortikalne strukture sive mase, paracentralni lobulus insula, temporalni korteks i suplementarna motorna zona), dok se ukupna zapremina mozga i volumen bele mase nisu promenili. Sve ove studije ukazuju da je progresija atrofije mozga kod bolesnika sa MS odvija na račun brže progresije sive, a ne bele mase mozga (Sastre-Garriga i sar., 2017).

Za razliku od prethodnih studija koje nisu detektovale promene u sivoj masi na početku praćenja, odmah nakon KIS postoje rezultati studije koja je koristila sličan metod mapiranja mozga, ali je bila studija preseka i koja je pokazala da kod bolesnika sa KIS unutar 6 meseci od početka bolesti, postoji atrofija insularnog korteksa bilateralno, zatim orbitofrontalnog korteksa, donjih temporalnih regiona, posteriornog cingulatnog korteksa, kao i talamusa, zatim kaudatusa i lentikularnog jedra bilateralno i cerebeluma, što ukazuje da su strukture koje prve pokazuju ranu atrofiju u MS zapravo strukture duboke sive mase i limbičkog sistema (Audion i sar., 2010). Slični rezultati su dobijeni u studiji Henry i sar., (2009) u kojoj su poređeni bolesnici sa KIS i zdravi ispitanici. Ova studija je pokazala da, iako se ukupna zapremina mozga između ove dve grupe ispitanika nije razlikovala, bolesnici sa KIS pokazuju atrofiju sive mase u određenim regionima, pre svega u subkortikalnim strukturama sive mase (bilateralno u talamsu, hipotalamusu, putamenu i kaudatusu) (Henry i sar., 2009). Slični rezultati su dobijeni u studiji Diker i sar. (2016). Dodatno, korišćenjem drugih savremenih metoda mapiranja celog mozga, pokazana je da su najvulnerabilnije strukture sive mase koje prve pokazuju atrofiju u MS zapravo subkortikalne strukture sive mase: talamus i bazalne ganglije. Naime, atrofija ovih struktura mozga kod bolesnika od MS je pokazana kako u gore pomenutim studijama sa KIS tako i kod bolesnika sa pedijatrijskom MS (Mesaroš i sar., 2008b), koja se smatra biološki najbližom početku bolesti i gde je pokazana atrofija samo oba talamusa. Da su strukture subkortikalne sive mase veoma osetljive na patološki proces ukazuju i rezultati studija kod bolesnika sa ranom RRMS i PPMS (Audion

i sar., 2006, Sepulcre i sar., 2006), dok je topografija distribucije atrofije sive mase kod bolesnika sa dužim trajanjem bolesti daleko više rasprostranjena na sve kortikalne regione kao i na cerebelarni korteks čija atrofija se pokazala kao mogući značajan faktor u nepovoljnom razvoju bolesti (Ceccarelli i sar., 2008, Mesaroš i sar., 2008c).

Kod bolesnika sa RRMS je pokazano da atrofija sive mase zahvata uglavnom specifične regione mozga, pre svega senzomotorni ili samo motorni korteks (Prinster i sar., 2006, 2010, Sailer i sar., 2003, Ceccarelli i sar., 2008) ali i talamus (Audion i sar., 2006). Zanimljivi rezultati studije mapiranja atrofije mozga su dobijeni kod bolesnika sa RRMS gde je pokazano da atrofija sive mase kod ovih bolesnika zahvata predominantno frontoparijetalne strukture i strukture duboke sive mase, dok su infatentorijalni regioni pošteđeni, a da je atrofija bele mase mozga bila lokalizovana predominantno u posteriornim strukturama mozga uključujući mali mozak i moždano stablo (Riccitelli i sar., 2012), što još jednom potvrđuje da je topografija atrofije mozga kod bolesnika sa MS ima heterogenu distribuciju.

S obzriom na različite rezultate gore navedenih studija koje su, manje-više, ukazale na različitu topografiju atrofije sive mase kod različitih formi MS, urađena je meta analiza svih do sada sprovedenih studija koje su ispitivale topografiju i obrazac atrofije kod različitih onih formi MS koje imaju relapsni početak (KIS, RRMS, BMS). Naime, upotrebom novijeg statsističkog neuromidžing meta-analitičkog modela "Signed Differential Mapping" (SDM) (Radue i sar., 2012), ustanovljeno je da gubitak sive mase mozga pokazuje pre fokalan nego difuzan obrazac atrofije i da se najčešće detektuje bilateralno u talamusu, bazalnim ganglijama i u pre- i postcentralnim regionima mozga, kao i u cingulatnom girusu (Lansley i sar., 2013).

Dodatni doprinos značaja merenje regionalne atrofije sive mase daju i rezultati studije u kojoj je pokazano da bolesnici koji su razvili KSMS nakon KIS pokazuju progresivan razvoj atrofije talamusa, kao i celog mozga (Živadinov i sar., 2013a), zatim da kod bolesnika sa ranom RRMS progresija neurološke onesposobljenosti tokom petogodišnjeg praćenja pokazuje značajnu korelaciju sa razvojem atrofije kako celog mozga, tako i talamusa ali i ostalih struktura duboke sive mase (Živadinov i sar., 2013b), dok je u studiji sa bolesnicima koji su imali relapsni početak bolesti (KIS, RRMS i SPMS) i koji su bili praćeni 8 godina pokazano da je atrofija talamusa predstavljala značajan prediktivni faktor stepena neurološke onesposobljenosti (EDSS skora) (Kurtzke, 1983), nakon tog perioda praćenja (Rocca i sar., 2010). Osim toga, nedavno je pokazano da je depresija kod bolesnika sa MS povezana sa atrofijom frontotemporalnih regiona, kao i da težina depresije korelira sa atrofijom



entorinalnog korteksa (Pravata i sar., 2017). Takođe je pokazano da atrofija senzomotornog korteksa pokazuje korelaciju sa EDSS skorom (Prinster i sar., 2010).

Mehanizmi atrofije sive mase su složeni i samo se delimično mogu objasniti zapaljenskim promenama koje se odvijaju u sivoj masi mozga, odnosno kortikalnim plakovima. Svakako da kortikalna demijelinizacija dovodi do značajne redukcije gustine sinapsi, gubitka dendrita i daljeg gubitka neurona u odnosu na zone koje nisu demijelinizovane (Wegner i sar., 2006), ali to nije jedini mehanizam koji dovodi do gubitka tela neurona u sivoj masi. Naime u korteksu bolesnika sa MS su opisane i druge promene koje nisu direktno vezane za kortikalnu demijelinizaciju, kao što su apoptoza neurona, redukcija broja neurona i dendrita (Peterson i sar., 2001 i Bo i sar., 2003a). Ovim procesima verovatno doprinosi retrogradna i antereogradna transsinaptička degenaracija neurona na mestu transekcije aksona koji može biti udaljen od korteksa (Siffrin i sar., 2010)

Zahvaljujući razvoju tehnologije danas postoje brojne metode za utvrđivanje kako globalne, tako i regionalne atrofije mozga pomoću MR. Ove metode su podeljene u dve velike kategorije: studije preseka i longitudinalne studije. Studije preseka se rade u jednom vremenu i koriste za analizu jedan set snimaka dobijen (engl. Brain parenchymal fraction [BPF], Structural Image Evaluation using Normalization of Atrophy Cross-sectional [SIENAX], FreeSurfer i Voxel based morphometry). One su uglavnom zasnovane na poluautomatskoj ili automatskoj segmentaciji tkiva i kao rezultat imaju globalni ili regionalni volumen mozga u datom momentu (Giorgio i sar., 2008). Longitudinalne metode, kao što su SIENA i engl. *Brain Boundary Shift Integral* – BBSI, mere promenu u volumenu mozga tokom određenog vremenskog perioda, tako što kompariraju dva seta MR skenova, čija je akvizicija bila u dva različita vremena. Rezultati koji su dobijeni primenom različitih tehnika se uobičajeno ne mogu direktno komparirati (Durand-Dubief i sar., 2013). BPF i SIENA su najčešće primenjivane tehnike, kao u kliničkoj praksi, tako i u mnogobrojnim studijama koje su ispitivale efikasnost terapije u MS (DeStefano i sar., 2010).

Uzimajući u obzir sve gore navedeno, odnosno kompleksnost patologije u MS i činjenice da postoje različiti patološki procesi kako u beloju tako i u sivoj masi mozga kod ovih bolesnika, prilikom procenjivanja korelacije između kliničkih ispada i parametara oštećenja mozga preporuka je da se u MS koristi multiparametarski pristup u proceni oštećenja mozga pomoću MR koji obuhvata stepenovanje težine kako fokalnih tako i difuznih procesa ali i u beloju i u sivoj masi mozga, jer je to jedini način sveobuhvatne procene mogućeg korelata kliničkog ispada ali i terapijskog efekta (Preziosa i sar., 2016, Mesaroš i sar., 2013, Filippi i sar., 2014). Takođe, na taj način se dobijaju informacije o mogućem patogenetskom

mehanizmu nastanka različitih vrsta kliničkih oštećenja u MS, odnosno pokušava se da se dobije odgovor da je inflamatorni ili neurodegenerativni proces ili oba sinergistički odgovoran za razvoj deficita, što ima dalje terapijske implikacije.

### **1.3. KOGNITIVNI POREMEĆAJI KOD BOLESNIKA SA MS**

U pokušaju ispitivanja faktora koji utiču na progresiju bolesti, nepovoljan tok, kratkoročan ili dugoročan ishod bolesti, kao i pri ostvarivanju terapijskog efekta u MS, najveći broj studija se bazirao na merenju opšte prihvaćene skale i skora za procenu funkcionalne onesposobljenosti u MS, kao što je EDSS skala, koja je uglavnom bazirana na merenju stepena lokomotornog oštećenja bolesnika (Kurtzke, 1983). Međutim, ova skala nije senzitivna za merenje i drugih simptoma i ispada u MS, kao što su kognitivna oštećenja, seksualne disfunkcije, zamor, spasticitet, bol, psihičke izmene itd. Osim motornih ispada koji dovode do invalidnosti i koji značajno remete život bolesnika, pokazano je da 40-70% bolesnika sa MS ima i kognitivne poremećaje koji mogu u velikoj meri da remete njihovo svakodnevno funkcionisanje i kvalitet života i bez prisutnog lokomotornog oštećenja (Rao i sar., 1991, 1991a, Chiaravalloti i DeLuca, 2008, Amato i sar., 2001, 2006, Benedict i sar., 2006a, Dačković i sar., 2016, Cutajar i sar., 2000). Naime, ovi poremećaji značajno utiču na radnu sposobnost i efikasnost, na socijalne kontakte kao i emocionalni život, ali i na aktivnosti u svakodnevnom životu kod kuće, vozačke sposobnosti i sposobnosti korišćenja transportnih sredstava ali i na sposobnost bolesnika da učestvuju u procesu lečenja, da razumeju terapijske procedure kao i da se njih pridržavaju, što je veoma značajno za uspešan proces lečenja (Kordovski i sar., 2015, Benedict i sar., 2006a, Glanz i sar., 2010, Rogers i Panegyres, 2007, Patti, 2010, Nagy i sar., 2006, Grima i sar., 2010). Bolesnici od MS sa kognitivnim oštećenjima pokazuju veću socijalnu izolaciju, imaju manju verovatnoću da se zaposle, imaju velikih poteškoća da obavljaju osnovne poslove održavanja kuće, stana, i više su podložni pojavi psihijatrijskih poremećaja, nego bolesnici koji su kognitivno očuvani (Rao i sar., 1991). Takođe, kognitivna oštećenja mogu imati značajan negativan uticaj na odnose sa osobama koje žive sa ovakvim bolesnicima i neguju ih (Knight i sar., 1997). Osim toga je pokazano da prisustvo kognitivnih poremećaja može da ima i prediktivnu vrednost u naknadnom razvoju motorne onesposobljenosti merene EDSS skorom nakon 5 ili 7 godina (Deloire i sar., 2010).

Do pre dvadesetak godina se ovim simptomima i poremećajima u MS nije pridavao veliki značaj u rutinskoj svakodnevnoj klinički praksi, pre svega zato što se bolesnici od MS

najviše žale na poremećaje pokretljivosti, slabost i zamor, kao i druge klinički vidljive simptome sa jedne strane, a sa druge strane zbog nedostatka vremena da se ovim poremećajima posveti dovoljno pažnje, jer procena neuropsiholoških ispada, odnosno testiranje, dugo traje i zahteva edukovan kadar. Međutim, sa porastom kvantuma saznanja o kognitivnim oštećenjima u MS i njihovom značaju u proceni celokupnog oštećenja koje ova bolest donosi, istraživački rad je doživeo značajnu ekspanziju u poslednjih dvadesetak godina naročito u pokušaju objašnjenja mehanizama koji dovode do kognitivnih oštećenja ali i traženja najoptimalnijih baterija testova za njihovu procenu (Rao i sar., 1991, Benedict i sar., 2002, Strober i sar., 2009). Najčešće korišćene baterije testova za procenu kognitivnih oštećenja u MS su Rao-ova Kratka Ponovljiva Neuropsihološka Baterija (*Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests-BRBN*) i Minimalna Procena Kognitivnih Funkcija u MS (*Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis-MACFIMS*) (Rao i sar., 1991, Benedict i sar., 2002) koje zahtevaju dosta vremena za testiranje i edukovano osoblje da ih sprovede. U pokušaju da se skрати vreme testiranja kao i da ono postane dostupnije, konstruisane su i kratke baterije za brzu procenu kognitivnog statusa, od kojih je u praksi najviše zaživela BICAMS baterija (*Brief International Cognitive Assessment for MS*) (Langdon i sar., 2012). Korišćenje različitih baterija testova za procenu kognitivnih disfunkcija kod bolesnika od MS, kao i korišćenje različitih kriterijuma nakon testiranja koji se uzimaju u obzir da bi se proglasilo da li je bolesnik kognitivno očuvan ili oštećen, su među važnim razlozima velikog raspona u proceni prevalencije ovih oštećenja u MS u različitim studijama. Sa druge strane, velika varijabilnost u proceni učestalosti kognitivnih oštećenja u MS potiče i od činjenice da su kognitivni testovi obično specifični za kulturu i za jezik, te se veliki broj baterija testova razlikuju od zemlje do zemlje (Engel i sar., 2007, Sartori i Edan, 2006).

Istraživanja su pokazala da su najčešća kognitivna oštećenja u MS poremećaj pažnje, brzine obrade informacija, egzekutivnih funkcija, pamćenja i vizuospacijalnih funkcija, dok su jezičke funkcije relativno očuvane i najčešće se u praksi sreće kombinacija poremećaja nekoliko različitih funkcija (Chiaravalloti i DeLuca, 2008; Rao i sar., 1991, Langdon 2011). Demencija je retka i javlja se u oko 20-30% kognitivno oštećenih bolesnika (Fischer i sar., 2001).

Kod bolesnika sa MS dugoročno pamćenje predstavlja jednu od najčešće pogođenih kognitivnih funkcija, a učestalost se procenjuje na 40-65% obolelih (Chiaravalloti i DeLuca, 2008, Rao i sar., 1993, Rogers i Panegyres, 2007). Dok ranije studije ukazuju da je dominantan mehanizam oštećenje prizivanja informacija, dok su procesi kodiranja i

skladištenja informacija relativno očuvani (Rao i sar., 1989a), novije studije ukazuju da je problem u primarnom sticanju novih informacija (učenju) i sugerišu da je mehanizam prizivanja informacija očuvan (Chiaravalloti i DeLuca, 2008; Thorthon i sar., 2002, DeLuca i sar., 2013). Sa druge strane, kratkoročno pamćenje, semantičko znanje, implicitno učenje i prepoznavanje su uglavnom očuvani kod ovih bolesnika (Rogers i Panegyres, 2007). Faktori koji ometaju sticanje novih informacija kod obolelih od MS su i usporena brzina obrade informacija, nedovoljna supresija irelevantnih stimulusa, kao i perceptivni poremećaji (Chiaravalloti i DeLuca, 2008).

Poremećaj pažnje i koncentracije u MS se najbolje uočavaju prilikom rešavanja kompleksnih zadataka koji zahtevaju podeljenu pažnju i javljaju se u ranom stadijumu bolesti (Dujardin i sar., 1998, DeLuca i sar., 2004), često se ogledaju u „globalnoj usporenosti bolesnika“ (Lezak, 1995). Poremećaj pažnje utiče na postignuća na testovima za sve ostale kognitivne domene, naročito na proces učenja i apstraktnog rezonovanja.

Brzina obrade informacija je definisana ili kao količina vremena koje je potrebno za obradu zadate količine informacija ili, pak kao količina informacija koja se može obraditi u određenoj jedinici vremena (radna memorija) (DeLuca i sar., 2004, Chiavarlotti i sar., 2013). Usporena obrada informacija predstavlja jedno od najznačajnijih kognitivnih oštećenja kod obolelih od MS i javlja se u do 50% bolesnika, u ranim fazama bolesti i predstavlja jedan od prediktora progresije kognitivnog oštećenja (Denney i sar., 2005, Bergendal i sar., 2007, DeLuca i sar., 2004).

Egzekutivne funkcije (EF) predstavljaju skup kognitivnih sposobnosti, koji omogućavaju kontrolu i regulisanje drugih kognitivnih operacija, odnosno omogućavaju usmeravanje i kontrolu naše kognitivne aktivnosti, kao i kontrolu ponašanja i emocionalnih reakcija. Predstavlja heterogenu grupu poremećaja sa različitim definicijama i konceptima. Prema ranijem konceptu shvatanja egzekutivnih funkcija one su podrazumevaju sledeće: formulisanje cilja, planiranje, sprovođenje određene aktivnosti uz kontinuirano samoposmatranje, korigovanje i regulisanje sopstvenog ponašanja (kognitivna fleksibilnost) (Lezak, 1995). Novija teorija o EF smatra da postoje 3 komponente ovog sistema kao što su: a) Premeštanje - premeštanje pažnje sa jednog na drugi mentalni sadržaj, služi kao mera kognitivne fleksibilnosti, odnosno sposobnost promene kognitivnog seta; b) Ažuriranje - nadgledanje i ažuriranje reprezentacija u radnoj memoriji; podrazumeva konzistentan nadzor i brzu promenu sadržaja radne memorije i c) Inhibicija koja predstavlja namerno inhibiranje dominantnih, autonomnih odgovora kada je to potrebno (Miyake i sar., 2000). Poremećaji EF

se javljaju u 20%-80% bolesnika sa MS, a ovoliki raspon u prevalenciji je posledica zavisnosti od definicije ovog poremećaja kao i testova koji su primenjeni za njihovu procenu u različitim studijama i koje se ne mogu međusobno komparirati (Chiavaralotti i DeLuca, 2008; Rao i sar., 1991; Guimaraes i Sá., 2012 i Drew i sar., 2008, Foong i sar., 1997).

Kod bolesnika obolelih od MS verbalna fluentnost odnosno mogućnost produkovanja većeg broja rešenja je takođe često oštećena (Henry i Beatty 2006 i Drew i sar., 2008).

Vizuospacijalne i vizokonstruktivne funkcije su oštećene kod 20 do 26% bolesnika obolelih od MS (Rao i sar., 1993; Vleugels i sar., 2000 i Marasescu i sar., 2016). Poremećaj vizuospacijalnih funkcija dovodi do teškoća u prostornoj lokalizaciji i praćenju objekata. Vizokonstruktivni poremećaji, pak dovode do problema u prostornoj organizaciji vizuelnih informacija, do gubitka sposobnosti konstruisanja objekta i crtanja predmeta (Marasescu i sar., 2016).

Jezičke funkcije kod bolesnika obolelih od MS su relativno očuvane u pogledu imenovanja, razumevanja, gramatike i sintakse (Rao i sar., 1991).

Zanimljivo je da se kognitivni poremećaji javljaju veoma rano tokom bolesti, pa čak i kod bolesnika sa RIS (Okuda i sar., 2009), odnosno kod zdravih osoba sa akcidentalnim nalazom na MR mozga koji ukazuje na MS (prema kriterijuma Barkhofa i sar., 1997) a koji su potpuno asimptomatski i imaju normalan neurološki nalaz. To je tzv. predklinička faza MS iz koje 33% bolesnika može da razvije MS u narednom periodu praćenja (Lebrun i sar., 2009). Kognitivna oštećenja su ispitivana pomoću BRBN (Rao i sar., 1990) i u ovoj predkliničkoj fazi su detektovana kod čak 27,6% procenata bolesnika, gotovo u istom procentu kao i kod bolesnika sa RRMS koji su bili uključeni u tu istu studiju (Amato i sar., 2012). Takođe je profil kognitivnih oštećenja bio identičan onom koji je dobijen kod bolesnika sa RRMS. Ova studija je ukazala da se kognitivna oštećenja mogu javiti i pre motornih simptoma u MS i predložila da bolesnici sa RIS koji imaju kognitivna oštećenja mogu biti u većem riziku za razvoj MS u odnosu na one koji nemaju kognitivna oštećenja. Slični rezultati su dobijeni u još jednoj studiji (Lebron i sar., 2010), a dodatno su potkrepljeni rezultatima studije koja je pokazala da se kognitivna oštećenja javljaju u istom procentu i na isti način kao i kod bolesnika sa KIS (Labiano-Fontcuberta i sar., 2016). Da li prisutvo kognitivnih oštećenja kod subjekata sa RIS nosi zaista veći rizik od konverzije u KSMS ostaje da se vidi u budućim longitudinalnim studijama koje će pažljivo pratiti ovu grupu bolesnika. Za sada je predložena modifikacija definicije RIS, koja bi uključivala, osim odsustva neuroloških simptoma i

znakova na neurološkom pregledu, i normalan nalaz na rezultatima kognitivnih testova (Lovera i Kovner, 2012).

Da se kognitivna oštećenja javljaju rano u MS potvrđuju studije kod bolesnika sa KIS u kojima se učestalost kognitivnih oštećenja procenjuje na 20-50% (Potagas i sar., 2008, Zipoli i sar., 2010, Feuillet i sar., 2016, Reuter i sar., 2011, Dačković i sar., 2016), a ova diskrepanca se opet odnosi na testove i kriterijume koje se koriste za procenu kognitivnih oštećenja. Profil kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa KIS je sličan onome koje se vidi kod RRMS, sa tim da ima mišljenja da je kod bolesnika sa KIS relativno očuvano verbalno učenje i pamćenje (Potagas i sar., 2008). Izgleda i da prisustvo ovih oštećenja kod bolesnika sa KIS ima značajnu prediktivnu vrednost za konverziju u KSMS tokom kratkoročnog perioda praćenja (Zipoli i sar., 2010). Longitudinalnim praćenjem bolesnika sa KIS je pokazano da kognitivni poremećaji pokazuju značajnu dinamiku i da je nakon petogodišnjeg praćenja procenat bolesnika sa kognitivnim oštećenjem porastao skoro dvostruko (29 vs. 54%) (Reuter i sar., 2011). Sa druge strane, podaci iz ranijih retkih longitudinalnih studija o prirodnom toku kognitivnih oštećenja u MS su kontraverzni, od takvih da kada se jednom pojave ona se ne gube i imaju tendenciju da se pogoršavaju sve do stepena koji se zove demencija izazvana MS (Kujala i sar., 1997, Amato i sar., 2001, 2010), do takvih da su stabilna tokom dužeg vremena (Amato i sar., 1995, Hohol i sar., 1997, Camp i sar., 2005) ili da pokazuju blagu progresiju tokom 10 godina praćenja kod bolesnika sa RRMS (Amato i sar., 2010, Schwid i sar., 2007),

Kognitivni poremećaji su registrovani u svim formama MS, ali je pokazano da se ređe javljaju kod bolesnika sa RRMS i da zahvataju manje kognitivnih domena u poređenju sa progresivnim formama bolesti (Hujibregts i sar., 2004, Dačković i sar., 2016, Sepulcre i sar., 2006b, Ruet i sar., 2013). U najvećem broju studija prevalenca kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS se kreće od 22 do 40% (Patti i sar., 2009, Potagas i sar., 2008, Amato i sar., 2010, Rossi i sar., 2012, Dačković i sar., 2016). U jednoj od najvećih studija koja su ispitivala prevalencu kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS (461 bolesnik) pokazano je da 31% ovih bolesnika pokazuje kognitivna oštećenja, kod 15% njih je to oštećenje gradirano kao blago, kod 11.2% kao umereno, a kod 4.8% kao teško oštećenje. Najčešće su bili oštećeni brzina obrade informacija, a zatim i pamćenje (Nocentini i sar., 2006).

Zanimljivo je i da se sličan procenat, kao kod RRMS, održava i kod bolesnika sa benignom MS (dužina trajanja bolesti veća od 15 godina, sa blagim neurološkim oštećenjem) (Lublin i sar., 1996), zbog čega postoje preporuke da se, kada se razmatra benigna forma MS, svakako u kriterijume uključi i odsustvo kognitivnih oštećenja (Rovaris i sar., 2009) jer je

pokazano da bolesnici koji imaju BMS i kognitivna oštećenja pokazuju značajno veći stepen strukturalnog oštećenja mozga, kako fokalnog tako i globalnog (Rovaris i sar., 2008b, Amato i sar., 2006 i Mesaroš i sar., 2008c, 2009, Mesaroš, 2009).

Dok su ranije studije procenjivale učestalost kognitivnih oštećenja na oko 53%-65% kod bolesnika sa SPMS (Filippi i sar., 1994, Comi i sar., 1995), danas se ta prevalenca kreće i od 96,8% (Dačković i sar., 2016). Takođe se ranije smatralo da bolesnici sa PPMS retko imaju kognitivna oštećenja sa prevalencom koja se kretala od 7% (Comi i sar., 1995) do 29% (Camp i sar., 1999), ali danas postoje rezultati koji ukazuju na znatno veću prevalencu, čak i do 85,7%. (Dačković i sar., 2016). Savremene studije ukazuju je kod bolesnika sa SPMS stepen kognitivnog oštećenja nešto veći u odnosu na bolesnike sa PPMS (Hujibregts i sar., 2004, 2006, Potagas i sar., 2008, Dačković i sar., 2016), mada ima i drugačijih rezultata koji ukazuju na obrnuti odnos (Rosti-Otajärvi i sar., 2014), kao i rezultata koji pokazuju da je profil kognitivnih oštećenja u ove dve grupe bolesnika vrlo sličan (Foong i sar., 2000, Ukkonen i sar., 2009).

#### **1.4. Neuroimidžing korelati kognitivnih oštećenja kod bolesnika od MS**

U poslednjih dvadesetak godina je interesovanje za ovu vrstu ispada u MS značajno poraslo i velika pažnja istraživača je usmerena na pokušaje objašnjenja mehanizama koji dovode do kognitivnih ispada u MS. To se pre svega odnosi na studije sa primenom MR (neuroimidžing studije) koje pokušavaju da ustanove koji patološki procesi u mozgu bolesnika sa MS najviše doprinose nastanku i razvoju ovih, nemotornih, poremećaja. Mehanizmi koji dovode kognitivnog oštećenja kod bolesnika od MS su i dalje tema debata. Iako je veliki broj istraživanja na tom polju urađen zahvaljujući primeni kMR i različitih metoda nekonvencionalne MR sa ciljem da se ustanovi potencijalna povezanost između stepena oštećenja mozga i kognitivnog oštećenja u MS, nismo se približili preciznijem odgovoru o mehanizmima koji dovode do ovih oštećenja.

Davnih godina se smatralo da su kognitivna oštećenja u MS uslovljena usporenim provođenjem impulsa zbog oštećenja mijelina, pa je patologija BM bila smatrana ključnom u razvoju ovih simptoma u MS. Zbog toga je u najvećem broju studija ispitivana patologija BM, pre svega ukupna zapremina fokalnih promena detektovanih na T2 sekvenci MR (ZLT2) koja se detektuje u beloju masi. Iako su brojne studije pokazale veliki značaj ovog parametra MR, odnosno pokazale da bolesnici sa kognitivnim oštećenjem imaju značajno veću ZLT2 u

odnosu na one koji su kognitivno očuvani (Rao i sar., 1989b, Swirsky-Sacchetti i sar., 1992, Rovaris i sar 1998, 2000., Filippi i sar., 2000b, Bobholz i sar., 2006, Benedict i sar., 2006b, Amato i sar., 2008, Mesaroš i sar 2012, Rossi i sar., 2012, Preziosa i sar., 2016, 2017, Daams i sar., 2016), ima i suprotnih rezultata koji osporavaju ulogu ZLT2 (Živadinov i sar., 2001, Lin i sar., 2007, Mesaroš i sar., 2009, Calabrese i sar., 2009c, Ricciteli i sar., 2011, Hulst i sar., 2013). Kada je u pitanju korelacija regionalne zapremine lezija u beloj masi sa mogućim neuropsihološkim ispadima koji bi se očekivali zbog oštećenja određenog regiona, pokazano je davno da postoji značajniji stepen korelacije sa regionalnom zapreminom promena (Swirsky-Sacchetti i sar., 1992, Arnett i sar., 1994, Foong i sar., 1997, Comi i sar., 1999, Sperling i sar., 2001). Naime, Swirsky-Sacchetti i sar., (1992) su pokazali da je ukupna ZLT2 frontalnog režnja najbolji prediktor u disfunkciji apstraktnog rezonovanja, pamćenja i verbalne fluentnosti, dok je ZLT2 u levom parijetookcipitalnom režnju pokazala značajnu prediktivnu vrednost u verbalnom učenju i kompleksnim vizuelno-integrativnim sposobnostima u MS. Zatim, pokazana je značajna korelacija između ZLT2 u frontalnom režnju sa testovima koji eksplorišu funkcije frontalnog režnja (kao što je Wisconsin Card Sorting Test) (Arnett i sar., 1994), sa postojanjem „frontalne demencije“ (Comi i sar., 1999), kao i sa egzekutivnim funkcijama (Foong i sar., 1997). Takođe je pokazano da zapremina lezija u zadnjoj jami mozga značajno korelira sa brzinom obrade informacija (Archibald i sar., 2004), zatim i da zapremina promena u desnom frontalnom i levom posteriornom parijetalnom režnju utiču na postignuća na testovima za procenu egzekutivnih disfunkcija (Pujol i sar., 2001). Slično je pokazano i u studiji Lazerona i sar., (2005) gde je regionalna zapremina lezija u pojedinim režnjevima mozga pokazala korelaciju sa nekoliko subtestova Raove baterije.

O značaju fokalnih promena u beloj masi govore i studije u kojima je pokazana da ukupna ZLT2 predstavljan značajan prediktor postignuća na testovima kratkoročnog pamćenja, apstraktnog i konceptualnog rezonovanja, jezičkih funkcija i vizuospacijalne orijentacije (Rao i sar., 1989b), kao i da pokazuje korelaciju sa testovima brzine obrade vizuelnih informacija, pamćenja i testova verbalne fluentnosti (Papadopoulou i sar., 2013, Rovaris i sar., 2002), ali i drugim testovima (Camp i sar., 2005, Ukkonen i sar., 2009). Koristeći ekstenzivnu bateriju neuropsiholoških testova za procenu različitih domena u kognitivnom funkcionisanju kod bolesnika sa MS, Tiemann i sar. (2009) su pokazali korelaciju zapremine periventrikularnih lezija sa brzinom obrade informacija dok je ukupna ZLT2 je pokazala korelaciju sa 7 kognitivnih domena. Osim toga, u skorašnjoj studiji je



pokazano da ukupna ZLT2, pored ostalih parametara na MR, predstavljan značajan prediktor kognitivnog oštećenja u velikoj populaciji bolesnika sa MS (Preziosa i sar., 2017).

O ulozi lokalizacije lezija u nastanku kognitivnih oštećenja u MS govore rezultati studija koje su merile regionalnu zapremine promena u strateškim putevima bele mase za koje se smatra da učestvuju u kognitivnim funkcijama. U nekoliko studija je pokazano da se kod sa bolesnika sa MS i kognitivnim oštećenjem registruje značajno veća zapremina lezija u forceps majoru i splenijumu korpusa kalozuma (Rossi i sar., 2012), kao i u celom korpus kalozumu (Lin i sar., 2007; Mesaroš i sar., 2009), ali i da rezultati na pojedinačnim kognitivnim domenima pokazuju korelaciju sa regionalnom zapreminom lezija u očekivanim putevima bele mase za koje se pretpostavlja da učestvuju u postignućima u tim domenima (Lin i sar., 2007; Mesaroš i sar., 2009, Kinces i sar. 2011).

Jedina studija koja je ispitala uticaj prisustva aktivnih lezija na MR je pokazala da bolesnici sa RRMS pokazuju bolji rezultat na PASAT skoru (brzina obrade informacija) ukoliko nema aktivnih promena na MR mozga. Longitudinlanim praćenjem ovih bolesnika je pokazano da bolesnici, kod kojih su na početku postojale aktivne promene a tokom vremena se nisu javljale nove, su pokazali poboljšanje rezultata na PASAT skoru, što je ukazivalo na značaj inflamatornih procesa na ostvarenja u ovoj kognitivnoj funkciji (Bellmann-Strobl i sar., 2009).

Značaj hroničnih hipointenznih lezija, tzv. "crnih rupa" na T1 sekvenci (ZLT1) u nastanku kognitivnih oštećenja u MS je ispitivana u malom broju studija preseka. Pokazano je da ukupna ZLT1 može da bude najvažniji prediktor u razvoju „frontalne demencije“ (Comi i sar, 1998), zatim da ukupna ZLT1 korelira sa ukupnim indeksom kognitivnih oštećenja kod PPMS (Camp i sar., 1999), a da kod RRMS korelira sa potignućima na testovima brzine obrade vizuelnih informacija, pamćenja i testova verbalne fluentnosti (Rovaris i sar., 2002), ali i drugim testovima (Ukkonen i sar., 2009). Takođe je pokazano da zapremina ZLT1 veća kod bolesnika sa kognitivnom oštećenjam u odnosu na one bez kognitivnog oštećenja (Rovaris i sar., 2000, Filippi i sar., 2000b, Benedict i sar., 2006b, Amato i sar., 2008), mada ima i suprotnih mišljenja (Rocca i sar, 2015a).

Sve ove studije o značaju fokalnih promena u beloju masi u nastanku i razvoju kognitivnih oštećenja su osnova tzv „diksonekcione“ hipoteze o nastanku kognitivnih oštećenja u MS koja je bazirana na pretpostavci da multifokalne promene dovode do višestrukih prekida u komunikaciji, bilo anatomskih, bilo funkcionalnih, između korteksa i subkortikalne sive mase, odnosno između različitih delova mozga koji su uključeni u kognitivno procesiranje (Calabrese i Penner, 2007).

Za razliku od brojnih studija koje su ispitivale ulogu fokalnih promena u beloj masi u nastanku kognitivnih oštećenja u MS, mnogo manji broj istraživanja je na raspolaganju koje se odnose na ulogu i značaj kortikalnih plakova u nastanku ovih oštećenja. Jedna od prvih studija koja je pokazala da bi fokalna kortikalna patologija, odnosno kortikalni plakovi mogli da imaju ulogu u kognitivnoj disfunkciji u MS se odnosi na studiju sa bolesnicima sa RRMS u kojoj je pokazano da su bolesnici koji su bili kognitivno oštećeni imali značajno veću zapreminu i broj kortikalnih lezija u odnosu na kognitivno očuvane, dok se ukupna zapremina promena u beloj masi nije razlikovala između ove dve grupe ispitanika (Calabrese i sar., 2009c). U multivarijantnoj analizi u ovoj studiji, volumen kortikalnih lezija se pokazao kao snažan nezavisni prediktivni faktor u nastanku kognitivnih oštećenja u ovom istraživanju. Daams i sar., (2016) su pokazali da kognitivno oštećeni bolesnici imaju značajno povišen volumen kako kortikalnih lezija tako i ukupnu ZLT2 u velikoj grupi od 202 bolesnika sa različitim fenotipovima MS. Međutim, postoje i suprotni stavovi, koji ukazuju da kortikalne lezije nemaju značajnu ulogu u razvoju kognitivnih oštećenja u MS, bar u studijama preseka. Naime, pokazano je da kortikalne lezije i lezija bele mase nemaju ulogu u ranom razvoju kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa KIS (Diker i sar., 2016), Takođe, u skorašnjoj studiji kod bolesnika od MS sa relapsnim početkom bolesti koji pokazuju kognitivna oštećenja nije detektovan značajno veći volumen kortikalnih lezija u odnosu na one koji su bili kognitivno očuvan (Preziosa i sar., 2017).

U retkim longitudinalnim studijama koje su pratile dinamiku razvoja kortikalnih lezija i njihov uticaj na kliničku onesposobljenost izdvaja se studija Calabrese i sar. (2012a) koja je longitudinalno pratila, tokom 5 godina, veliku kohortu bolesnika sa različitim formama MS i pokazala da su značajni prediktivni faktori za razvoj kognitivnih oštećenja nakon 5 godina praćenja bili dužina trajanja bolesti, zapremina kortikalnih lezija, ukupna ZLT2 i zapremina sive mase na početku praćenja. U istoj toj studiji je pokazano da je veća ukupna zapremina KL i veća akumulacija tokom perioda praćenja bila značajno povezana sa progresijom kako ukupne neurološke invalidnosti, tako i naknadnog razvoja kognitivnog oštećenja (Calabrese i sar., 2012a). U mnogo manjoj longitudinalnoj studiji je pokazano da porast broja kortikalnih lezija, ali i broja promena u beloj masi tokom 3 godine praćenja korelira sa rezultatima na testovima vizuelnoprостorne memorije i brzine obrade informacija, dok je broj lezija u hipokampusu pokazao korelaciju sa vizuelnoprостornom memorijom (Roosendaal i sar., 2009).

U pokušaju da se preciznije definiše uloga kortikalnih lezija u nastanku kognitivnih oštećenja u MS, upotrebom 3T skenera je pokazano da ovim poremećajima najviše doprinose

mešoviti plakovi koji zahvataju i sivu i belu masu, a u manjoj meri pravi intrakortikalni plakovi (Nelson i sar., 2011). Slični rezultati su objavljeni i u studiji koja je koristila magnetno polje od 7T i koja je pokazala da su, kod bolesnika sa relapsnim početkom bolesti (KIS, RRMS i SPMS), mešoviti plakovi (bela/siva masa) i plakovi u beloj masi pokazali korelaciju sa većinom neuropsiholoških testova, dok je korelacija subprijalnih plakova sa kognitivnim testovima bila nešto ređa (Nielsen i sar., 2013). Sa druge strane, nije utvrđen značaj pravih intrakortikalnih plakova, kao ni plakova u strukturama duboke sive mase i debljine korteksa u kognitivnim oštećenjima u ovoj grupi bolesnika, što je navelo autore da zaključe da bi potencijalni i značajni biomarkeri kognitivnih oštećenja u MS bili mešoviti kortikalni i subprijalni plakovi.

#### **1.4.1. Difuzne promene u mozgu**

Kvantifikacija mikrostrukturalnih oštećenja u NNBM i NNSM koje se ne detektuju konvencionalnom MR je omogućeno tehnikama nekonvencionalne MR, a najčešće su u upotrebi MTR i DT, ali i analizama baziranim na obradi voxela. Nekoliko studija je pokazalo da bolesnici sa kognitivnim oštećenjima imaju veći stepen promena u NNBM i NNSM u odnosu na kognitivno očuvane, kao i da parametri difuznog oštećenja mozga koreliraju sa rezultatima na neuropsihološkim testovima kod različitih ispitanika od MS (Camp i sar., 1999, Filippi i sar., 2000b, Rovaris i sar., 2002, 2008b, Deloire i sar., 2005, Roca i sar., 2008, Zivadinov i sar., 2001). Osim toga je pokazano da stepen difuznih oštećenja, pogotovu sive mase ima prediktivni značaj za razvoj kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS i SPMS (Benedict i sar., 2007, Summers i sar., 2008b), ali i kod bolesnika sa KIS (Summers i sar., 2008a). Sa druge strane je pokazano da PASAT skor pokazuje korelaciju sa različitim difuznim parametrima u parijetalnoj, frontalnoj i temporalnoj beloj masi (Van Hecke i sar., 2010). Interesantni su rezultati multicentrične studije sa RRMS u kojoj je pokazano da se kognitivno oštećeni i kognitivno očuvani bolesnici nisu međusobno razlikovali u parametrima sveukupnog oštećenja NNSM i NNBM, međutim kada se primenila sofisticirana metoda analize voxel-po-voxel, pokazano je da te razlike zaista postoje u određenim regionima bele mase. Naime, bolesnici koji su bili kognitivno oštećeni su pokazali značajan stepen težine oštećenja u strukturama bele mase kao što su zadnji cingulum, posteriorna korona radiata, splenium korpus kalozuma (KK), gornji longitudinalni fascikulus, donji orbitofrontalni fascikulus, prednji cingulum, forceps minor, uncinatus i prednja talamička radijacija, a

dodatno je pokazano da su funkcije pažnje, vizuelnog pamćenja i egzekutivne disfunkcije pokazale značajnu korelaciju sa oštećenjima u navedinim regionima (Preziosa i sar., 2016). Sličan metodološki pristup u drugoj multiparametarskoj studiji je pokazao da se kod bolesnika sa MS koji su kognitivno oštećeni značajno veći stepen parametara difuznog oštećenja bele mase registruje u sledećim regionima: KK, gornji i donji longitudinalni fascikulus, kortikospinalni trakt, forceps major, cingulum i fornix, u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike, ali i u talamusu, malom mozgu, uncinatusu i moždanom stablu, dok razlika u parametarima oštećenja sive mase nije detektovana između ove dve grupe bolesnika (kotikalne lezije, regionalna atrofija sive mase, itd.) (Hulst i sar., 2103).

Mogućnost da „in vivo“ trasiramo puteve bele mase pomoću DT traktografije nam je donela veoma značajna saznanja o mehanizmima kognitivnih oštećenja u MS. U prvoj studiji koja je ispitivala oštećenja u KK kao najvažnijoj interhemisferičnoj komisuri koja povezuje dve polovine mozga i kao takva ima važnu ulogu u komunikaciji između dve hemisfere što je neophodno za odvijanje kognitivnih procesa je pokazano da kod bolesnika sa RRMS koji imaju kognitivna oštećenja postoji značajn stepen atrofije KK u poređenju sa bolesnicima koji su bili kognitivno očuvani (Lin i sar., 2008). Sa druge strane, PASAT skor je pokazao značajnu korelaciju sa parametrima difuznog oštećenja unutar KK, kao i sa ukupnom ZLT2 ali ne i sa zapreminom lezija unutar KK. Druga studija koja je pokazala značaj oštećenja KK u kognitivnim oštećenjima u MS je bila studija Mesaroš i sar., (2009) kod bolesnika sa benignom MS i u kojoj je pokazano da su bolesnici koji su imali kognitivna oštećenja imali značajno veću zapreminu lezija unutar KK, ali ne i ukupnu ZLT2 u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike, zatim da su imali i značajno veći stepen oštećenja KK u smislu oštećenja NNBM u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike. Dodatno, PASAT skor je pokazao značajnu korelaciju kako sa ukupnom ZLT2, tako sa ukupnom zapreminom promena unutar KK, ali i sa stepenom unutrašnjeg oštećenja unutar detektovanih lezija u KK kao i sa difuzionim parametrima oštećenja NNBM u KK (Mesaroš i sar., 2009), ukazujući zapravo da stepen kako difuznog oštećenja ove strukture tako i fokalnih lezija u njoj utiče na nastanak kognitivnih oštećenja. U prilog značaja oštećenja KK u kognitivnoj funkcionisanju bolesnika sa MS govore i rezultati studije u kojoj je pokazano da atrofija ove strukture predstavlja značajan marker progresivnog pada kod bolesnika sa SPMS (Papathanasiou i sar., 2017). Ovi rezultati svakako govore u prilog diskonekcione hipoteze o nastanku kognitivnih oštećenja u MS. Dodatni doprinos toj hipotezi su dali i rezultati studije koja je koristila nešto drugačiji metodološki pristup u trasiranju puteva bele mase za koje se smatra da mogu da imaju ulogu u kognitivnim procesima i pokazali da je PASAT skor pokazao korelaciju sa frakcionalnom

anizotropijom (difuzionim parametrom) u splenium KK, forceps majora, levog cinguluma, desnog donjeg longitudinalnog fascikulusa i levog gornjeg longitudinalnog fascikulusa (traktove koji povezuju prefrontalne kortikalne regione), dok za druge ispitivane neuropsihološke testove ova korelacija nije pokazana (Dineen i sar., 2009).

Veoma značajna studija koja je ispitivala moguće MR korelate kognitivnih oštećenja u MS je koristila multiparametarski pristup u izdvajanju najvažnijih MR parametara kako globalnog (ukupna ZLT2, zapremina mozga, zapremina sive mase mozga, zapremina bele mase mozga, parametri difuznog oštećenja NNBM i NNSM), tako i stepena regionalnog oštećenja tkiva u 8 selektovanih traktova bele mase za koje se smatra da imaju važnu ulogu u kognitivnim procesima (Mesaroš i sar., 2012). Koristeći savremeni statsitički pristup („random forest“ analizu), istraživači su pokazali da najveći značaj u diferenciranju ko će imati kognitivno oštećenje a ko ne, i to u svim ispitivanim domenima, imao stepen destruktivnog procesa unutar lezija detektovanih u cingulumu, opet ukazujući da mere oštećenja unutar strateških puteva bele mase mogu da pruže daleko veći doprinos razjašnjenju mehanizama nastanka kognitivnih oštećenja u MS, nego mere globalnog oštećenja mozga. Dodatno, rezultati ove studije su ukazali još jednom da diskonekciona hipoteza u nastanku kognitivnih oštećenja u MS ima ozbiljnu podlogu. Treba spomenuti i studiji koja je pokazala da su testovi na pojedinim domenima pokazali korelaciju sa regionalnom zapreminom promena u strukturama bele mase za koje se smatra da su uključene u određene kognitivne funkcije, ali su autori zaključili da se samo jedan mali deo varijacija u kognitivnim ispoljavanjima može objasniti ovom korelacijom (Kincses i sar., 2011).

Koliki je značaj oštećenja u putevima bele mase za kognitivno funkcionisanje u MS govori i nedavna meta analiza 12 studija, koja se bavila ovom problematikom a u kojima je integritet puteva bele mase ispitivan metodom TBSS (engl. „tract-based spatial statistics“) (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fsl4.0/tbss/index>). Ovih 12 studija je obuhvatilo 495 bolesnika sa MS a glavni rezultat meta-analize pokazuje da oštećenja puteva bele mase može više da doprinosi nastanku kognitivnih nego fizičkih oštećenja u MS, a da se tu posebno izdvajaju poremećaji difuzionih parametara u prednjem segmentu KK i talamusu (Welton i sar., 2015).

Kada su u pitanju difuzne promene u sivoj masi, pokazano je da ove promene kvantifikovane pomoću MTR indeksa mogu da imaju značajnu prediktivnu vrednost u naknadnom razvoju kognitivnih oštećenja nakon 13 godina praćenja bolesnika sa MS (Filippi i sar., 2013).

Drugi, veoma važan pristup u ispitivanju mehanizama koje doprinose razvoju kognitivnih oštećenja, su pokazale brojne studije u kojima je pokazano da atrofija mozga predstavlja važan paraklinički marker kognitivnih oštećenja u MS, odnosno da ima snažnu prediktivnu vrednost, daleko jaču u odnosu na zapreminu ZLT2 u nastanku ovih oštećenja u MS (Benedict i sar., 2004a, Sanfilipo i sar., 2006, Summers i sar., 2008b). Ranije studije su pokazale da atrofija bele mase doprinosi razvoju kognitivnih oštećenja (Rao i sar., 1985, Edwards i sar., 2001, Christodoulou i sar., 2003, Bermel i sar., 2002, Benedict i sar., 2004b), i da ima značajnu prediktivnu ulogu u brzini obrade informacija i radnoj memoriji (Sanfilipo i sar., 2006). Međutim, u ovoj poslednjoj studiji je pokazano da atrofija i sive mase predstavlja značajan prediktor verbalne memorije (Sanfilipo i sar., 2006). Uskoro su usledile studije koje su ukazale na mnogo veći značaj atrofije sive mase u nastanku kognitivnih oštećenja kod bolesnika od MS. U jednoj studiji preseka je pokazano da bolesnici sa RRMS koji su imali kognitivna oštećenja su imali značajnu manju zapreminu korteksa u odnosu na one koji su bili kognitivno očuvani, kao i da su postignuća na testovima verbalne memorije, pažnje/koncentracije i verbalne fluentnosti pokazali korelaciju upravo sa zapreminom korteksa (Amato i sar., 2004). Longitudinalnim praćenjem iste ove grupe bolesnika je pokazano da je progresivan gubitak volumen korteksa registrovan samo kod bolesnika koji su se kognitivno pogoršali, ukazujući ponovo na značaj kortikalne zapremine u nastanku kognitivnih oštećenja (Amato i sar., 2007).

O značajnu kortikalne atrofije u razvoju kognitivnih oštećenja u MS govori i rad Calabrese i sar. (2011) koji su pokazali da bolesnici sa RRMS koji su imali kognitivna oštećenja, osim što su imali veću zapreminu kortikalnih lezija takođe su imali i značajno manju zapreminu kako celog mozga tako i sive mase mozga u odnosu na bolesnike koji su bili kognitivno očuvani. Ova studija je pokazala da su dva nezavisna značajna prediktora kognitivnih oštećenja: zapremina kortikalnih lezija i zapremina sive mase mozga. Ispitujući debljinu korteksa kod 100 bolesnika sa RRMS, pokazano je da bolesnici bez kognitivnih oštećenjem pokazuju atrofiju korteksa u frontoparijetalnim regionima, dok bolesnici sa blagim kognitivnim oštećenjem pokazuju veoma rasprostranjenu, difuznu atrofiju celog korteksa u svim regionima (Calabreses i sar., 2010c). U istoj studiji je pokazana korelacija između kognitivnog skora i zapremine korteksa. Longitudinalnim praćenjem bolesnika sa MS tokom 5 godina isti autori su pokazali da su značajni prediktori u nastanku kognitivnih oštećenja zapremina kortikalnih lezija i zapremine sive mase uz ukupnu ZLT2 i dužinu trajanja bolesti (Calabrese i sar., 2012a).

Sa druge strane, kod bolesnika koji su uključenu u ovu doktorsku disertaciju (RRMS), razlika u atrofiji korteksa između kognitivno očuvanih i oštećenih bolesnika detektovana je samo u temporalnim regionima korteksa i to veoma suptilna, a skorovi verbalne memorije su pokazali korelaciju sa atrofijom u insuli dok je skor vizuelne memorije pokazao korelaciju sa atrofijom korteksa u parijetalnim regionima (Tillema i sar., 2016). Međutim kada se uradila sofisticiranija analiza mapiranja regionalne atrofije sive mase kod iste ove grupe bolesnika, upotrebom analize voksel po voksel, pokazano je da su bolesnici sa kognitivnim oštećenjem imali značajniji stepen atrofije sive mase bilateralno u postcentralnom girusu, levom talamusu, levom supramarginalnom girusu i desnom hipokampusu (Preziosa i sar., 2016). Sličnom metodologijom je pokazan i značaj zapremine sive mase u nastanku kognitivnih oštećenja, takođe kod bolesnika sa RRMS. Bolesnici od MS sa lošim rezultatom na PASAT skoru su pokazivali i izraženiju redukciju zapremine sive mase u desnom gornjem i levom srednjem frontalnom girusu, kao i bilateralno u oba donja frontalna girusa, bilateralno u gornjima i srednjim temporalnim girusima, insuli i bilateralno u donjim parijetalnim regionima u odnosu na uparene zdrave ispitanike, dok su bolesnici koji su pokazali normalan nalaz na PASAT testu nisu pokazali značajnu atrofiju u bilo kom regionu SM u odnosu na zdrave ispitanike (Morgen i sar., 2006). Osim toga, u ovoj studiji, PASAT skor je pokazao korelaciju sa zapreminom regiona sive mase koji su povezani sa pamćenjem i egzekutivnim funkcijama, kao što su bilateralni prefrontalni korteks, precentralni girus i gornji parijetalni korteks, kao i cerebelum. Dodatno je pokazano da se kod bolesnika sa različitim fenotipovima MS i kognitivnim oštećenjem registruje rasprostranjena atrofija kako fronto-parijetalnih regiona korteksa tako i struktura duboke sive mase, ali se kao najbolji prediktor nastanka kognitivnih oštećenja u ovoj studiji izdvojila debljina desnog prekuneusa i veća zapremina ZLT2, dok je težina kognitivnih oštećenja korelirala sa atrofijom talamusa i levog entorinalnog korteksa (Pravata i sar., 2017), još jednom potvrđujući ulogu atrofije kortikalnih i subkortikalnih neuronskih krugova koji učestvuju u kognitivnim procesima.

Dokazi o ulozi oštećenja dubokih struktura sive mase u nastanku neuropsiholoških, poremećaja u MS, pored gore navedenih, postoje odavno. Među prvim studijama koja je ukazala na ulogu talamusa u kognitivnim oštećenjima u MS je bila studija Houtchens i sar. (2007) koja je demonstrirala značajnu korelaciju postignutih rezultata u svim kognitivnim domenima sa zapreminom talamusa, kao i da se zapremina talamusa pokazala kao značajan prognostički faktor u svim regresionim modelima u predikciji kognitivnih oštećenja u MS (2007). Nakon toga su usledile brojne studije koje su dalje potvrđivale značaj atrofije talamusa ili difuznih promena u njemu sa kognitivnim oštećenjima u MS (Schoonheim i sar.,

2012, Batista i sar., 2012, Benedict i sar., 2013, Papathanasiou i sar., 2015, Preziosa i sar., 2016), pa i kod bolesnika sa KIS koji imaju kognitivna oštećenja (Diker i sar., 2016, Štecková i sar., 2014).

Kao posebno značajne se izdvajaju studije o ulozi hipokampusa u kognitivnim oštećenjima u MS. Poznato je da je hipokampus sedište ekstenzivne demijelinizacije u MS (Geurts i sar., 2007) i da ova struktura pokazuje atrofiju kod bolesnika MS (Sicotte i sar., 2008, Roosendaal i sar., 2010, Longoni i sar., 2015), što može da utiče na poremećaje pamćenja kod ovih bolesnika (Sicotte i sar., 2008). Interesantni rezultati koji ukazuju na rano oštećenje hipokampusa u MS su dobijeni kod bolesnika sa KIS gde je pokazano da difuzioni parametri registrovani u hipokampusu pokazuju korelaciju sa poremećajima epizodičnog pamćenja, a takođe da mogu da imaju značajnu diskriminatornu ulogu u predviđanju koji će bolesnici sa KIS imati kognitivni ispad a koji ne (Planche i sar., 2016). Dodatni doprinos ulozi hipokampusa u kognitivnim procesima je dokazan u pedijatrijskoj populaciji MS gde je utvrđeno da kognitivno oštećeni bolesnici pokazuju ne globalnu atrofiju hipokampusa, već lokalizovanu u subikulumu i dentatnom girusu desnog hipokampusa (Rocca i sar., 2016b). Dodatno, kod bolesnika sa KIS je pokazano postojanje korelacije između testova vizuelne memorije i zapremine hipokampusa kao i drugih subkortikalnih struktura sive mase (Diker i sar., 2016).

U razmatranju nastanka kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa MS moramo da uzmemo u obzir i značaj moždane rezerve, kao nezavisnog faktora koji štite od kognitivnog propadanja i redukuje uticaj bolesti na istu (Sumowski i Leavitt, 2013). Ovaj protektivni efekat objašnjavaju visoku interindividualnu varijabilnost u kognitivnom deficitu i limitiranu korelaciju sa MR nalazima (Satz, 1993). Moždana rezerva je biološka mera, zavisi od genetskih faktora, predstavlja kvantitativnu meru neuronskog integriteta i mase, odnosno označava se kao maksimalna zapremina mozga koja je postignuta tokom života, a kao njena mera se koristi intrakranijalni volumen (Maximal brain growth – MLBG) (Sumowski i sar., 2013). Pokazano je da kognitivna rezerva može da štiti bolesnika od MS od intelektualnog propadanja u oblasti kognitivne efikasnosti, ali ne i pamćenja (Sumowski i sar., 2014).

Sa druge strane postoji i kognitivna rezerva koja predstavlja bihevioralnu adaptaciju stečenu iskustvom, odnosno zavisi od faktora spoljašnje sredine, kao što su intelektualno obogaćujuća iskustva, koja se stiču obrazovanjem, aktivnosti u slobodnom vremenu i profesionalna dostignuća (Sumowski i sar., 2010). Korelacija visokog stepena obrazovanja sa manjim rizikom od pojave kognitivnih oštećenja, se objašnjava hipotezom da kognitivna stimulacija i trening, pomažu u održavanju dobrog kognitivnog funkcionisanja, čak i u slučaju



postojanja moždanog oštećenja, zbog bolesti (Sumowski i sar., 2013). Zanimljivo je da je pokazana korelacija između većeg intelektualnog obogaćivanja i boljih memorijskih funkcija i veće zapremine hipokampusa kod bolesnika obolelih od MS-a (Sumowski i sar., 2016). U longitudinalnoj studiji kod bolesnika sa MS je pokazano da kognitivna rezerva može da deluje protektivno i na razvoj poremećaja kognitivne efikasnosti ali i na progresiju poremećaja pamćenja (Sumowski i sar., 2014).

Uzimajući u obzir sve prethodno navedeno i rezultate svih dosadašnjih istraživanja koji ukazuju na značaj kako promena u beloj masi, tako i na oštećenja sive mase mozga u nastanku kognitivnih oštećenja u MS, čak i kada su primenjivani i multiparametarski modeli istraživanja koji su uzimali u obzir različite komponentne patoloških procesa i pokušavali da od njih izdvoje najznačajnije MR parametre, opet su dobijeni kontradiktorni rezultati koji su ukazali ili na značaj promena u beloj masi (Hulst i sar., 2013, Sanfilipo i sar., 2006) ili pak, na značaj oštećenja sive mase i subkortikalnih struktura sive mase (Benedict i sar., 2006b, Amato i sar., 2004, Daams i sar., 2016), ili su pak ukazivali na podjednak značaj oštećenja oba moždana kompartmenta, odnosno njihov sinergistički efekat (Preziosa i sar., 2016). Ukoliko uzmemo u obzir da se kao dva glavna igrača u scenariju nastanka kognitivnih oštećenja u MS mogu lako meriti u multicentričnom scenariju (ukupna ZLT2 i zapremina mozga), onda bi bilo jako značajno da se izvrši validiranje mogućnosti multicentričnog i multiparametarskog pristupa koji bi pomogao sagledavanje i terapijskih efekata dostupnih ili novih lekova na dinamiku ove dve vrste patologije kao i njihov uticaj na razvoj kognitivnih oštećenja u velikom broju bolesnika koji su uključeni u kliničke studije.

Zbog toga je tema ove doktorske disertacije obuhvatala istraživanje mogućnosti multiparametarskog pristupa u istraživanju različitih komponenti patološkog procesa koji se vidaju u mozgu bolesnika od MS (oštećenja sive/bele mase, fokalna/difuzna patologija), a koji su dobijeni u okviru precizno dizajnirane multicentrične studije iz različitih zemalja, odnosno 7 centara, sa ciljem validacije ovakvog istraživanja u multicentričnoj postavi, a koji se u prethodne dve publikacije pokazao kao moguć kada je u pitanju istraživanje difuznih promena u beloj i sivoj masi (Preziosa i sar., 2016), ali i u istraživanju debljine korteksa kod ovih bolesnika (Tillema i sar., 2016).

Za razliku od većine prethodnih istraživanja koje se odnose na kognitivna oštećenja u MS, a koje su uglavnom obuhvatale različite forme MS, u ovu studiju je uključena relativno homogena grupa bolesnika sa RRMS sa ciljem da se evaluiraju mehanizmi koji doprinose nastanku kognitivne disfunkcije u ovoj formi bolesti.

## 2. CILJEVI

1. Analiza ukupne zapremine fokalnih lezija bele (na T2 i T1 sekvenci MR) i sive mase (kortikalni plakovi) kod bolesnika sa RRMS sa kognitivnim oštećenjima i poređenje tih nalaza sa onim dobijenim kod bolesnika bez kognitivnih oštećenja.
2. Analiza atrofije sive i bele mase mozga u navedene dve grupe bolesnika, kao i poređenje ovih parametara sa vrednostima dobijenim kod zdravih ispitanika.
3. Analiza atrofije subkortikalnih struktura sive mase (talamus, putamen, kaudatus, hipokampus, amigdaloidna jedra, nc. accumbens) kod bolesnika sa MS i utvrđivanje eventualnih razlika u volumenu ovih struktura između bolesnika sa i bez kognitivnih oštećenja, kao i poređenje sa podacima dobijenim kod zdravih ispitanika.
4. Identifikacija seta MR varijabli nakon multiparametarske analize, koje najbolje koreliraju sa kognitivnim oštećenjima, primenom multivarijantne analize, a u cilju identifikacije da li inflamatorni (zapremina fokalnih lezija u BM i SM mozga) ili pak, neurodegenerativni procesi (atrofija mozga, sive i bele mase, kao i atrofija subkortikalnih struktura ukupna ili parcijalna) više doprinose nastanku kognitivnih ispada kod RRMS.
5. Ispitivanje validnosti dobijenih podataka u okviru mutlicentrične studije koja će uključiti 7 Evropskih centara.

### 3. BOLESNICI I METOD

#### 3.1. Bolesnici

Bolesnici od MS koji su uključeni u istraživanje su regrutovani u sedam Evropskih centara, u okviru velikog multicentričnog Evropskog projekta MAGNIMS (engl. "Magnetic Resonance in Multiple Sclerosis") grupe ([www.magnims.eu](http://www.magnims.eu)) od 01.01.2009. do 01.05.2012. godine: a) Department of Radiology, VU University Medical Centre, Amsterdam (Holandija); b) CEM-Cat, Hospital Vall d'Hebron, Barselona (Španija); c) Medical University Graz, Grac (Austrija); d) Queen Square Imaging Centre, Institute of Neurology, University College London, London (UK); e) Neuroimaging Research Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan (Italija); f) MRI Center "SUN-FISM", Second University of Naples, Napulj (Italija); i g) Department of Neurological and Behavioural Sciences, University of Siena, Siena (Italija).

Kriterijumi koji su morali da budu ispunjeni za uključivanje bolesnika u studiju su bili sledeći:

1. potvrđena dijagnoza relapsno remitentne MS prema modifikovanim McDonaldovim kriterijumima (Polman i sar., 2005 i 2010)
2. životna dob: 20-65 godina
3. bolest je morala da bude u fazi remisije, kortikostreoidna terapija nije primenjivana u periodu od najmanje mesec dana pre snimanja MR
4. trajanje bolesti  $\leq 15$  godina (da bi se isključili bolesnici sa benignom formom MS)
5. bolesnici su morali da budu desnoruki.

Isključujući kriterijumi su bili sledeći:

1. smetnje sa motorikom desne ruke koje bi mogle uticati na postignuće na neuropsihološkim testovima
2. anamneza o zloupotrebi lekova i alkohola
3. anamneza o psihijatrijskim poremećajima, uključujući i "major depresiju"

Klinička evaluacija je obuhvatala uzimanje detaljne istorije bolesti i neurološki pregled sa utvrđivanjem skora Kurtzkeove Proširene skale stepena onesposobljenosti (eng. *Expanded Disability Status Scale=EDSS*) (Kurtzke, 1983) unutar tri dana od pregleda MR.

U studiju su uključeni i zdravi ispitanici (ZI) koji nisu imali istoriju bilo kakve neurološke bolesti, a koji se nisu razlikovali od bolesnika od MS po polnoj distribuciji.

Istraživanje je obavljeno uz saglasnost Lokalnih Etičkih komiteta svakog pojedinačnog centra i po principima i standardima važećim u Evropskoj Uniji, uz pismenu saglasnost svakog učesnika u studiji.

### 3.2. Neuropsihološko testiranje

Neuropsihološka evaluacija, koja je urađena u svakom od navedenih centara, od strane iskusnog neuropsihologa, a koji nije imao uvid u rezultate MR, je obavljena unutar 48h od snimanja MR. Kognitivni status je procenjivan korišćenjem validiranog prevoda Rao-ove Kratke Ponovljive Neuropsihološke Baterije (Rao i sar. 1990), koja je prevedena na odgovarajući maternji jezik. Ova baterija testova obuhvata:

1. Test selektivnog podsećanja (*Selective Reminding Test - SRT*) za procenu verbalne memorije (auditivnog verbalnog pamćenja);
2. 10/36 Test prostornog sećanja (10/36 SRT), za procenu vizuelnog pretraživanja, praćenja i motorne brzine (vizuelno pamćenje);
3. Test Verbalnog serijskog sabiranja (*Paced Auditory Serial Addition Test –PASAT 2” and 3”*) za procenu pažnje i brzine obrade auditivnih informacija;
4. Test analogije simbola i brojeva (*Symbol Digit Modalities Test - SDMT*) služi za procenu vizuelnog pretraživanja, praćenja i motorne brzine tj. brzine obrade vizuelnih informacija;
5. Test Generisanja liste reči (WLG) za procenu verbalne fluentnosti.

Za procenu postojanja kognitivnog oštećenja, za svaki pojedinačni kognitivni domen kreiran je Z skor: Z skor za verbalno pamćenje ( $Z_v$ ), Z skor za vizuelno pamćenje ( $Z_{vi}$ ), Z skor za pažnju i egzekutivne funkcije ( $Z_a$ ) i Z skor za fluentnost ( $Z_f$ ), a prema preporukama Sepulcre i sar. (Sepulcre i sar., 2006b). Globalna kognitivna funkcija je dobijena računanjem srednje vrednosti navedena četiri kognitivna domena.

Dodatno, kod svakog bolesnika uključenog u studiju je urađen i Wiskonsin test sortiranja karata (WCST) (Heaton, 1993) kako bi se bolje procenile egzekutivne funkcije. Postignuće na ovom testu je procenjivano izračunavanjem skora koji se odnosi na ukupan broj grešaka, zatim na broj perseverativnih grešaka i broj perseverativnih odgovora (Heaton, 1993). Bolesnici koji su imali rezultat testiranja  $\geq 2$  standardne devijacije (SD) ispod normativnih vrednosti na najmanje jednom od navedenih skorova, su smatrani da imaju kognitivni deficit u domenu koje testira WCST.

Ispitanici su smatrani kognitivno oštećenim ako su imali postignuća od 2 SD ispod normativnih vrednosti na najmanje dva testa iz Rao-ove Kratke Ponovljive Neuropsihološke

Baterije (Rao i sar. 1990), (Boringa i sar. 2001). Procena kognitivnog oštećenja korišćenjem WCST je obavljen prema preporučenim propozicijama (Heaton, 1993).

### 3.3. Pregled mozga magnetnom rezonancom

Pregled mozga MR je obavljen na aparatima jačine magnetnog polja od 3.0 Tesla u svim centrima uključenim u studiju a na sledećim MR skenerima: Centar I i VI: *Signa, GE, Milwaukee, USA*; Centar II, III i IV: *Trio, Siemens, Erlangen, Nemačka*; Centar V i VII: *Intera, Philips, Best, Holandija*).

Pregled je urađen korišćenjem sledećih sekvenci:

1) **Dual-eho turbo spin-eho (DE TSE)** sekvenca sa sledećim parametrima: vreme repeticije (TR)=opseg 4000-5380 ms, vreme eha ili echo time (TE)<sub>1</sub>=opseg 10-23 ms, TE<sub>2</sub>=opseg 90-102 ms, dužina eho voza (ETL)=opseg 5-11, broj aksijalnih preseka=44, debljina preseka=3-mm, debljina matriksa=256x192 i polje snimanja (FOV)=240x180 mm<sup>2</sup> (recFOV=75%),

2) **Sagitalna 3D T1W (weighted)** sekvenca sa sledećim parametrima: TR=opseg 5,5-8,3 ms (za skenere *GE/Philips*) ili 1900-2300 ms (za skenere *Siemens*); TE=opseg 1,7-3,0 ms; ugao obrta=opseg 8-12°, broj preseka: 176 do 192, debljine=1 mm; rezolucije u ravni 1x1 mm<sup>2</sup>.

3) **„Double inversion recovery“ (DIR)** sekvenca sa sledećim parametrima: TR=opseg 7500-16000 ms; TE=opseg 25-317 ms; TI<sub>1</sub>=opseg 325-500 ms; TI<sub>2</sub>=opseg 2100-3870 ms; ETL=opseg 10-13; broj preseka= 44, debljina preseka=3-mm, debljina matriksa=256x192 i FOV=240x180 mm<sup>2</sup> (recFOV=75%). Ovi parametri su korišćeni u svim centrima osim u Centru I, gde je korišćena 3D DIR sekvenca (140 sagitalnih preseka, debljine=1,2 mm, debljina matriksa=224x224 i FOV=220 x 220 mm<sup>2</sup>).

Za DE i DIR sekvence preseki su bili pozicionirani tako da su u pratili paralelenu liniju koja povezuje najkaudalnije polove (prednji i zadnji) korpus kalozuma (Miller i sar.1991).

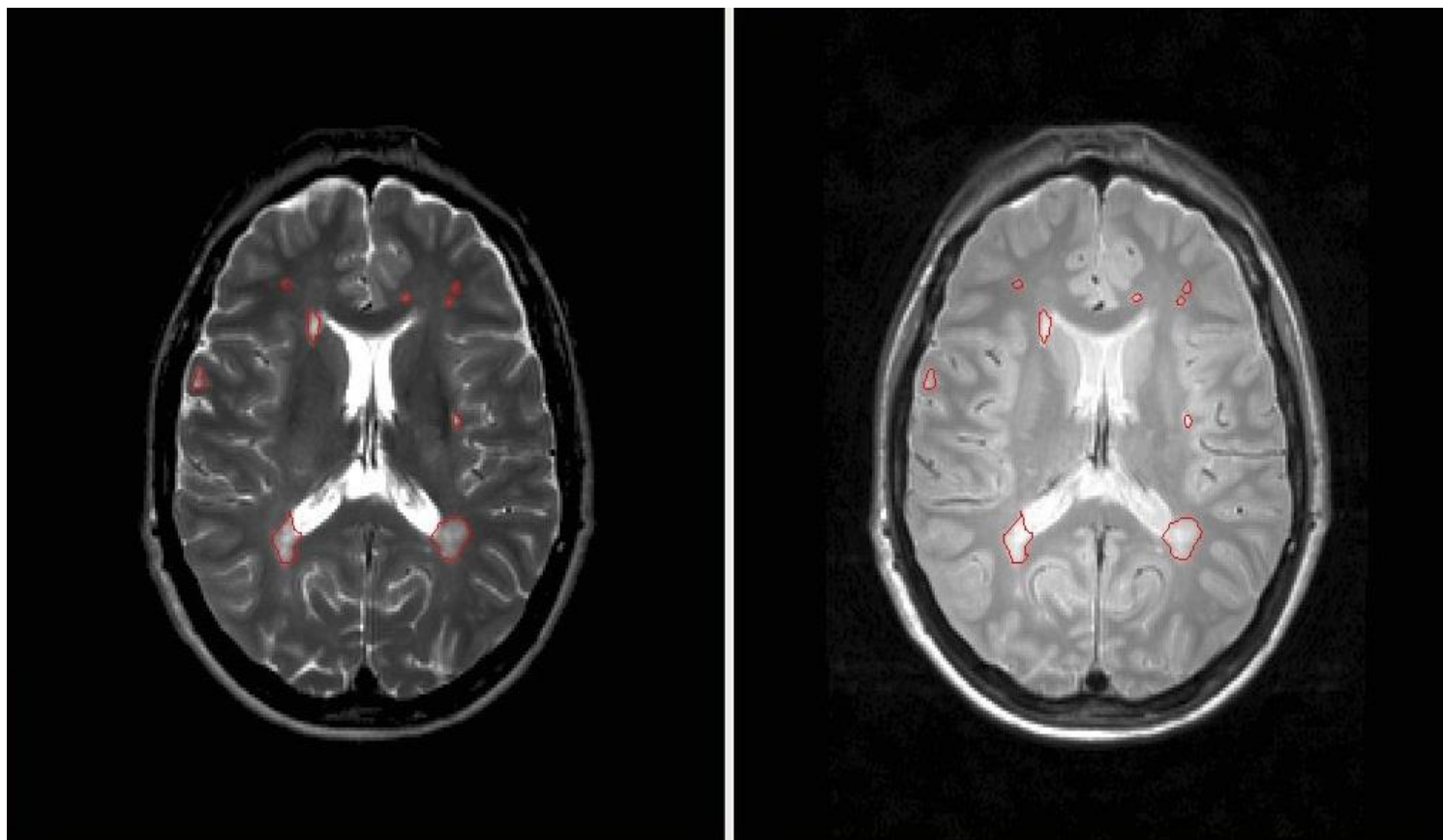
### **3.3.1. Analiza snimaka MR (postprocessing)**

Analiza snimaka je obavljena u Odseku sa Neuroimidžing istraživanja, Naučnog Instituta i Univerzitetske bolnice San Raffaele, Milano, Italija, korišćenjem specijalizovane kompjuterske radne stanice (Sun Sparcstation, Sun Microsystems, Mountain View, CA, USA). Postupak analize snimaka je podrazumevao sledeće:

#### **1. Merenje ukupne zapremine promena u mozgu kod bolesnika od MS na T2, T1 i DIR sekvenci.**

Identifikaciju lezija u beloju (BM) i sivoj masi (SM) mozga je obavljao iskusan radiolog (DD, 10 godina iskustva) koga je nadgledao neurolog (MAR, 20 godina iskustva). Identifikacija lezija u BM je podrazumevala detekciju hiperintenznih (HIZ) promena u beloju masi mozga na DE sekvenci (slika 1), kao i detekciju hipointenznih lezija na 3D T1-ponderisanoj sekvenci korišćenjem tehnike lokalne segmentacije praga (*Jim 6.0, Xinapse Systems, Kolčester, Velika Britanija*). Ovaj softver istovremeno omogućava i merenje zapremine identifikovanih lezija, tako da je kod svih bolesnika izmerena zapremina HIZ lezija detektovanih na T2 sekvenci (ZLT2), kao i ukupna zapremini hipontenznih lezija detektovanih na T1 sekvenci (ZLT1).

**Slika 1. Prikaz detektovanih T2W hiperintenzivnih lezija na DE sekvenciji, upotrebom Jim 6.0 softvera.**



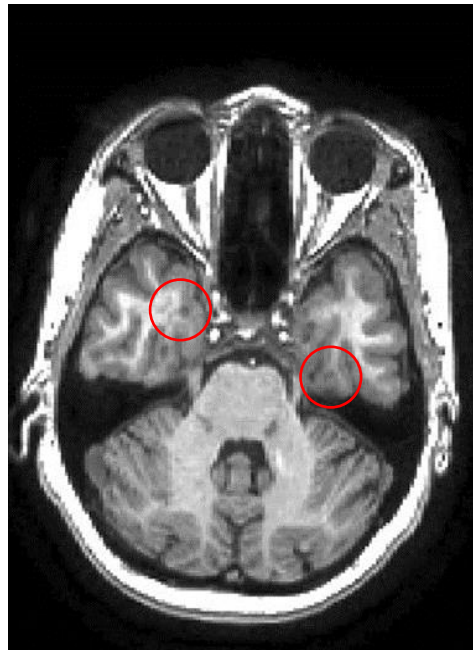
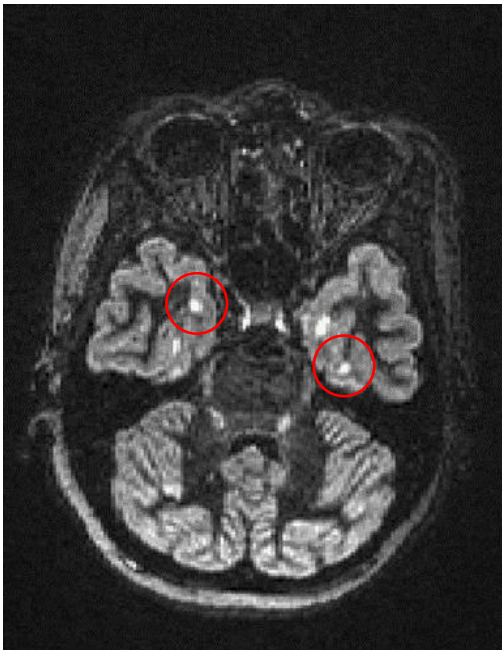


Identifikacija lezija u SM, odnosno kortikalnih lezija (KL) je obavljena korišćenjem DIR sekvence. Da bi se standardizovao pregled DIR sekvencima dobijenim iz različitih centara snimci su prvo bili reformatizovani u aksijalnu ravan, a onda su ponovo podešeni na preseke debljine od 3 mm. Identifikacija KL je vršena prema preporukama Konsenzusa grupe eksperata za primenu MR u MS (engl. *MAGNIMS group*) (Geurts i sar., 2011). Prema ovim preporukama KL se na DIR sekvenci prikazuju kao fokalni hiperintenziteti u odnosu na okolnu naizgled normalnu SM i njihova veličina mora zauzimati najmanje 3 piksela (u najmanjoj ravni rezolucije od 1 mm<sup>2</sup>). Radi potvrde prisutva kortikalnih lezija, prema preporukama Geurts i sar., 2011, sve HIZ lezije za koje su se smatrale da pripadaju korteksu na DIR sekvenci su morale da budu potvrđene detekcijom i na 3DT1W sekvenci radi što veće sigurnosti da se ne radi o artefaktima (slika 2).

Kortikalnim lezijama su smatrane: 1) lezije koje se lokalizovane u samom korteksu (bez uključivanja subkortikalne BM), tzv. „čiste intrakortikalne lezije“; i 2) „mešovite lezije“ koje su obuhvatale i susednu BM ali su dominantno bile lokalizovane u SM (75% ili više). Korišćenja softvera *Jim* izračunata je ukupna zapremina KL (ZKL), kao i zapremina čistih intrakortikalnih lezija i zapremina mešovitih kortikalnih lezija.

Slika 2. Prikaz dve vrste kortikalnih lezija kod bolesnika sa multiplom sklerozom korišćenjem „double inversion Recovery“ sekvence (aksijalni presek, levo) i koji su potvrđeni i na korespodnetnim snimcima na 3D T1W snimcima (desno). A: detekcija mešovite kortikalne lezije insularno levo (radiološka konvencija) i B. Detecija dve prave intakortikalne lezije u temporalnom koretsku levo i desno, kao i mešovite lezije temporalno levo.

a)

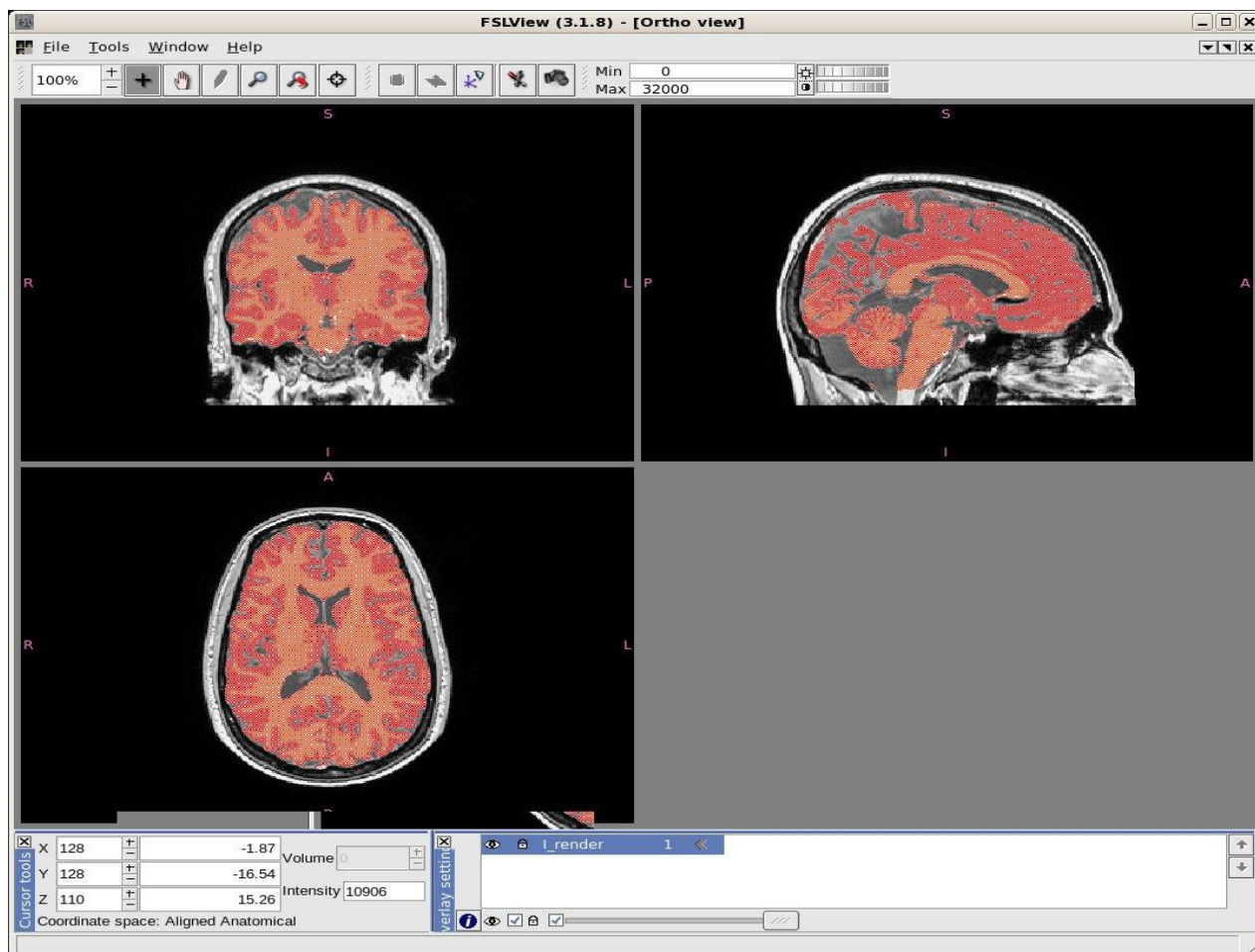


## 2. Merenje zapremine intrakranijalnih struktura.

Kod svakog učesnika u studiji je merena ukupna zapremina mozga, zatim zapremina SM i BM mozga, kao i kortikalne sive mase (KSM). Za ovu analizu korišćene su snimci dobijeni pomoću 3D T1W sekvence, a zapremine su izračunavane korišćenjem potpuno automatizovanog softver SIENAx (Structural Image Evaluation of Normalized Atrophy) (Smith i sar., 2002) koji omogućava izračunavanje tzv. "normalizovanih vrednosti zapremine" pojedinačnih kompartmenta mozga. Ovaj softver prvo vrši odvajanje parenhima mozga od struktura lobanje i drugih struktura kao što su oči, optički živac, likvorski prostor i komore i ostalih drugih tkiva koja ne pripadaju mozgu, korišćenjem metode koji se zove BET (engl. *Brain Extraction Tool*) (Smith, 2002) i time formira mapu signala koje sa velikom verovatnoćom odgovara mozgu (Slika 3). Zatim, SIENAx vrši registraciju tkiva mozga i lobanje u standardizovani 3D probabilistički prostor (neuroanatomski atlas), koji je formiran za snimke mozga i lobanje i zove se Montreal Neurological Institute (MNI) 152 standardizovani prostor (Evans i sar 1992, Mazziotta i sar, 1995). Time se omogućava izračunavanje "normalizovane" vrednosti ukupne zapremine mozga (NZM), deljenjem apsolutnih mera zapremine mozga sa ukupnom intrakranijalnom zapreminom (postupak normalizacije). Kao rezultat se dobijaju normalizovana zapremina mozga (NZM), normalizovana zapremina SM mozga (NZSM) i normalizovana zapremina BM mozga (NZBM) kao i normalizovana zapremina kortikalne SM (NZKSM) (slika 4).

Zbog moguće pogrešne klasifikacije hipointenznih T1 lezija kao dela likvorskog prostora ili dela SM, kod svakog bolesnika je napravljena mapa T1-hipointenzivnih lezija koja je korišćena u daljoj softverskoj obradi (Chard i sar., 2010) (slika 5).

**Slika 3. Prikaz mape pokrivenosti moždanog tkiva proizvedene pomoću SIENAX softvera (isključivanje očiju, komorskog sistema i tkiva lobanje) iz probabilističke mape moždanog tkiva.**



**Slika 4. Prikaz osnovnih informacije koja se dobija upotrebom SIENAX softvera za svakog subjekta pojedinačno: normalizovana zapremina bele, sive mase i celog mozga, ukupna intrakranijalna zapremina**

```
mar@cab1:/hal/home3/mara/HC_STRUTTURALE/zambon_alberto_20140409/mpr/m3DT1_sienax
File Edit View Terminal Tabs Help
-----
SIENA - Structural Image Evaluation, using Normalisation, of Atrophy
part of FSL www.fmrib.ox.ac.uk/fsl
running cross-sectional atrophy measurement: sienax version 2.6
sienax

----- extract brain -----
bet options 1 -s -m -f 0.3

----- register to standard space using brain and skull -----
(do not worry about histogram warnings)
VSCALING 1.1597346746

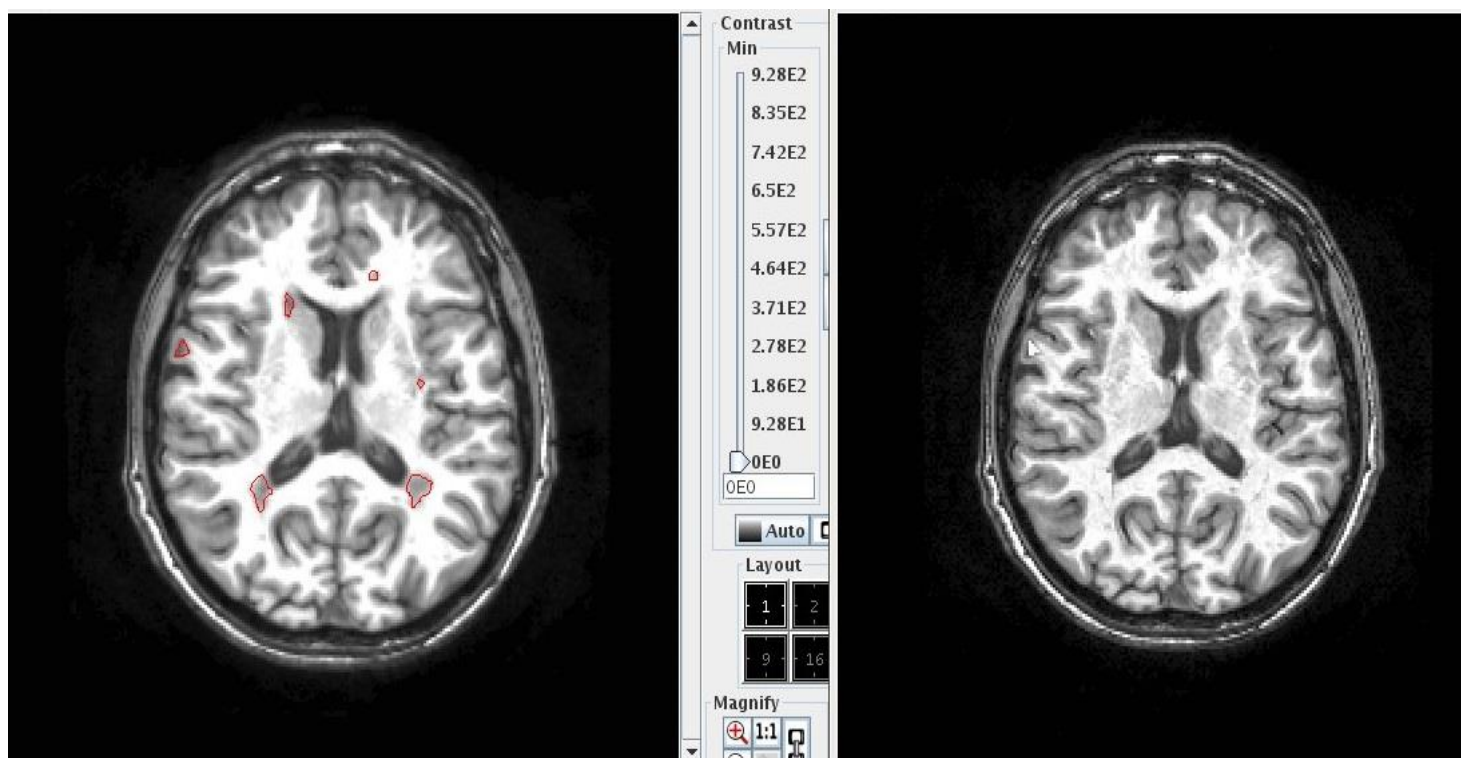
----- mask with std mask -----

----- segment tissue into types -----

----- convert brain volume into normalised volume -----

tissue      volume  unnormalised-volume
pgrey       633994.16  546671.73 (peripheral grey)
vcsf        42402.32  36562.09 (ventricular CSF)
GREY        778758.11  671496.79
WHITE       840013.11  724314.91
BRAIN       1618771.22  1395811.70
~
~
~
~
~
~
~
"report.sienax" 26L, 987C                                     1,1    All
```

Slika 5. Mapa T1W hipointenznih lezija, dobijena košišćenjem Jim 6.0 softvera.

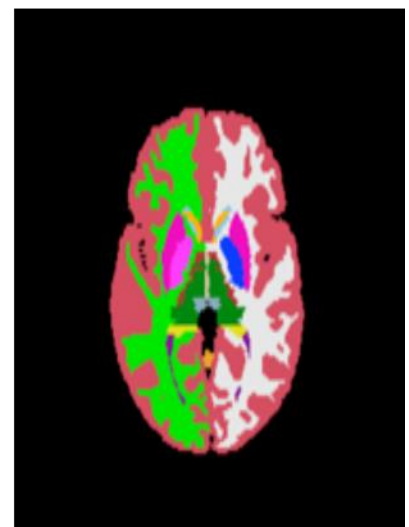
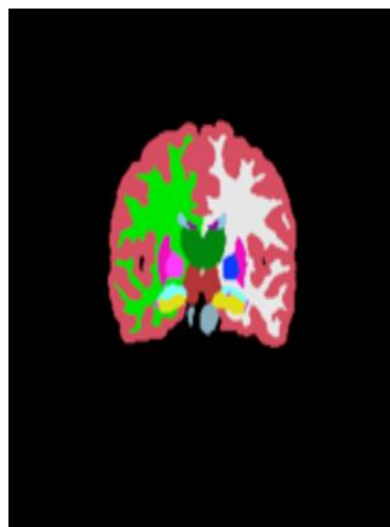
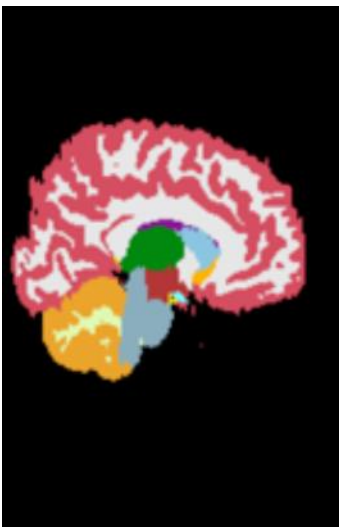


### 3. Segmentaciju subkortikalnih struktura SM.

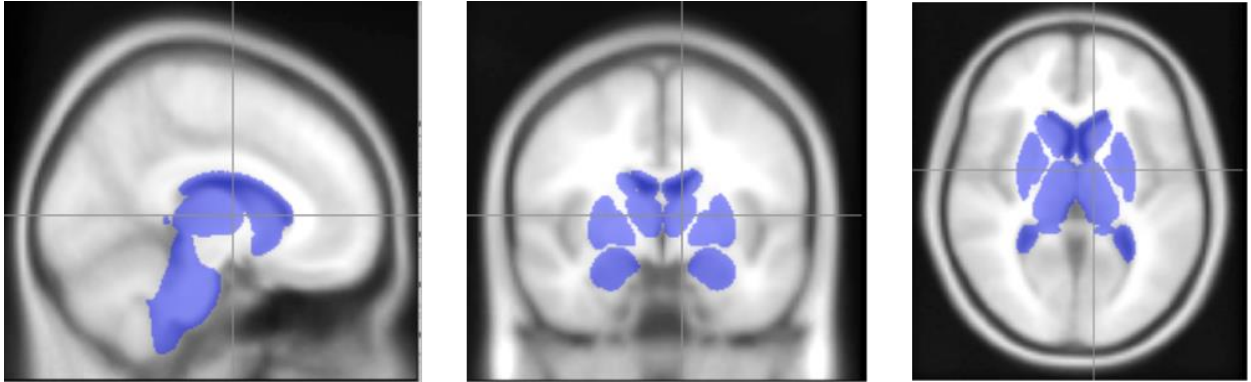
Automatska segmentacija subkortikalnih struktura SM: talamusa, kaudatusa, putamena, paliduma, hipokampus, amigdale i akumbensa obavljena je na 3D T1W sekvencama koristeći softver FSL FIRST (Patenaude i sar., 2011). FIRST (FMRIB's Integrated Registration & Segmentation Tool (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FIRST>) je softver koji vrši segmentaciju i registraciju subkortikalnih struktura SM i zasnovan je na komparaciji sa modelima koji su dobijeni manuelnom segmentacijom 336 snimaka subkortikalnih struktura, obezbeđenih od strane Centra za Morfometrijsku Analizu (CMA), MGH, Boston ([cbmi.catalyst.harvard.edu/cores](http://cbmi.catalyst.harvard.edu/cores)) (slika 6).

Navedena baza obuhvata kolekciju snimaka šest različitih grupa ispitanika, od zdravih kontrola do patoloških stanja, kao što su shizofrenija ili Alzheimerova bolest (slika 7).

**Slika 6. Prikaz manuelne segmentacija subkortikalnih struktura sive mase mozga i moždanog stabla kod jednog subjekta u bazi podataka "David Kennedy, Center for Morphometric Analysis (CMA)" Boston. (preuzeto sa [https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc\\_seg.pdf](https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc_seg.pdf))**



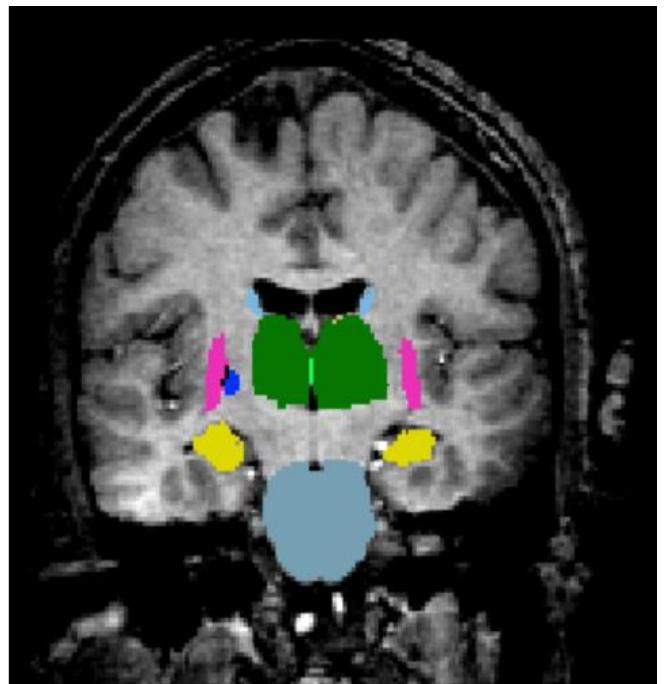
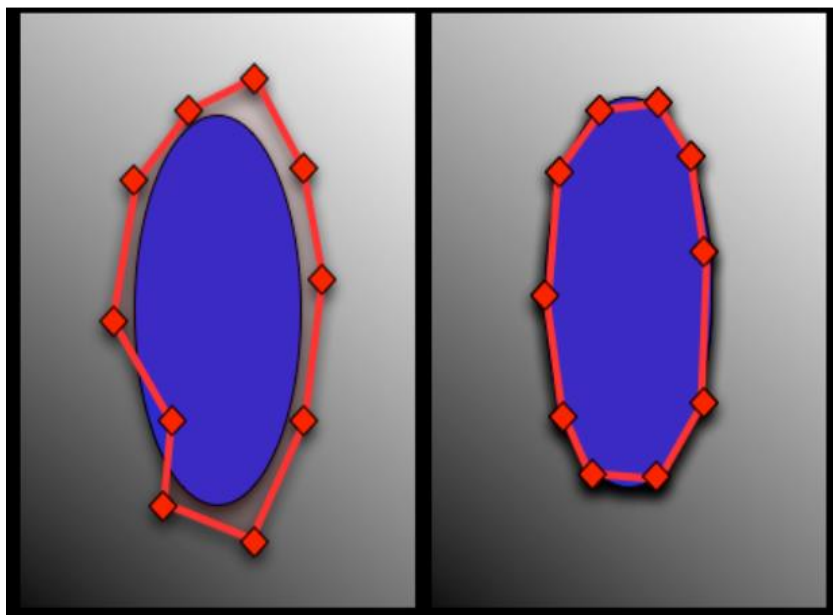
**Slika 7. Gotovi šabloni segmentovanih subkortikalnih struktura sive mase mozga i moždanog stable u bazi od 336 ispitanika (preuzeto sa [https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc\\_seg.pdf](https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc_seg.pdf))**



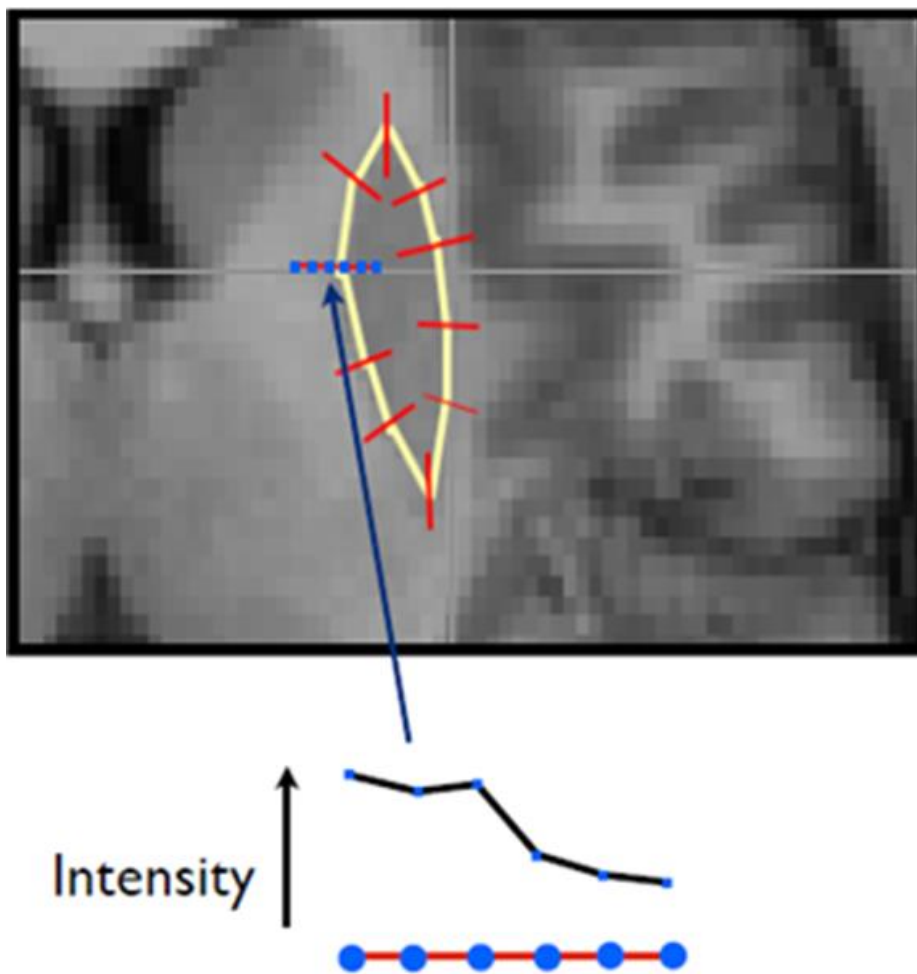
Softverom su definisani i oblik i intenzitet koji bi ove strukture trebalo da imaju. Koregistracijom ovih šablona i snimaka bolesnika od MS detektuju se odstupanja u obliku i intenzitetu struktura subkortikalne SM u odnosu na postojeći šablone, koristeći Bajesov model (slika 8 i 9).



**Slika 8. Model koji vrši izračunavanje volumena segmentovane strukture na osnovu dobijenog oblika te strukture u poređenju sa oblikom te iste strukture na referentnim snimcima u šablonu (preuzeto sa [https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc\\_seg.pdf](https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc_seg.pdf))**

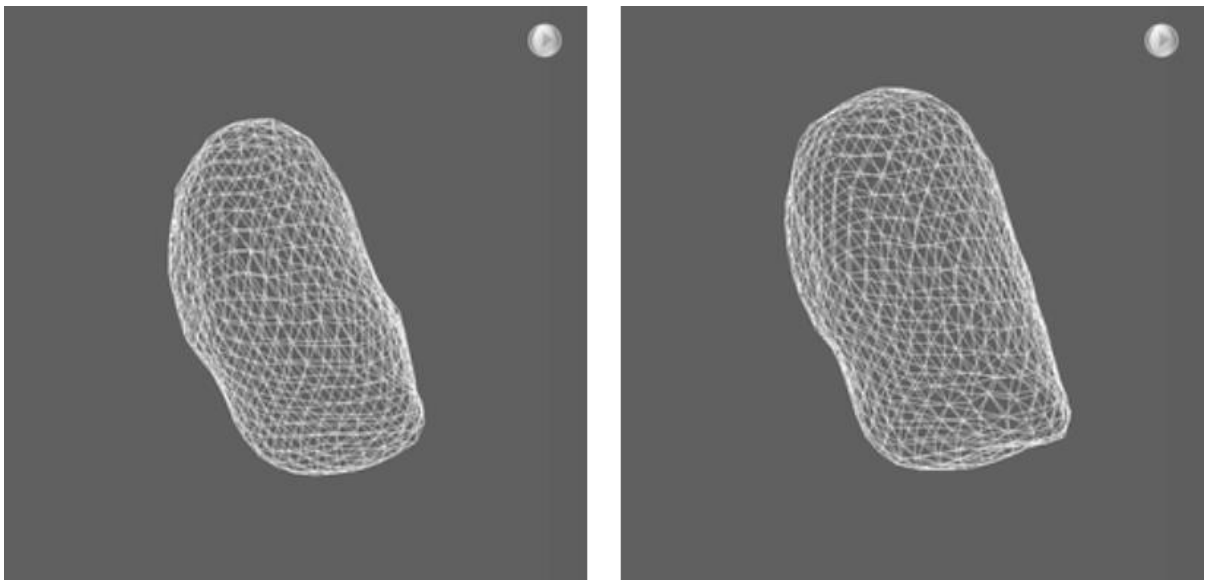


Slika 9. Model koji vrši izračunavanje volumena segmentovane strukture na osnovu dobijenog intenziteta signala u poređenju sa intenzitetom signala referentnih snimaka u šablonu (preuzeto sa [https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc\\_seg.pdf](https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc_seg.pdf))



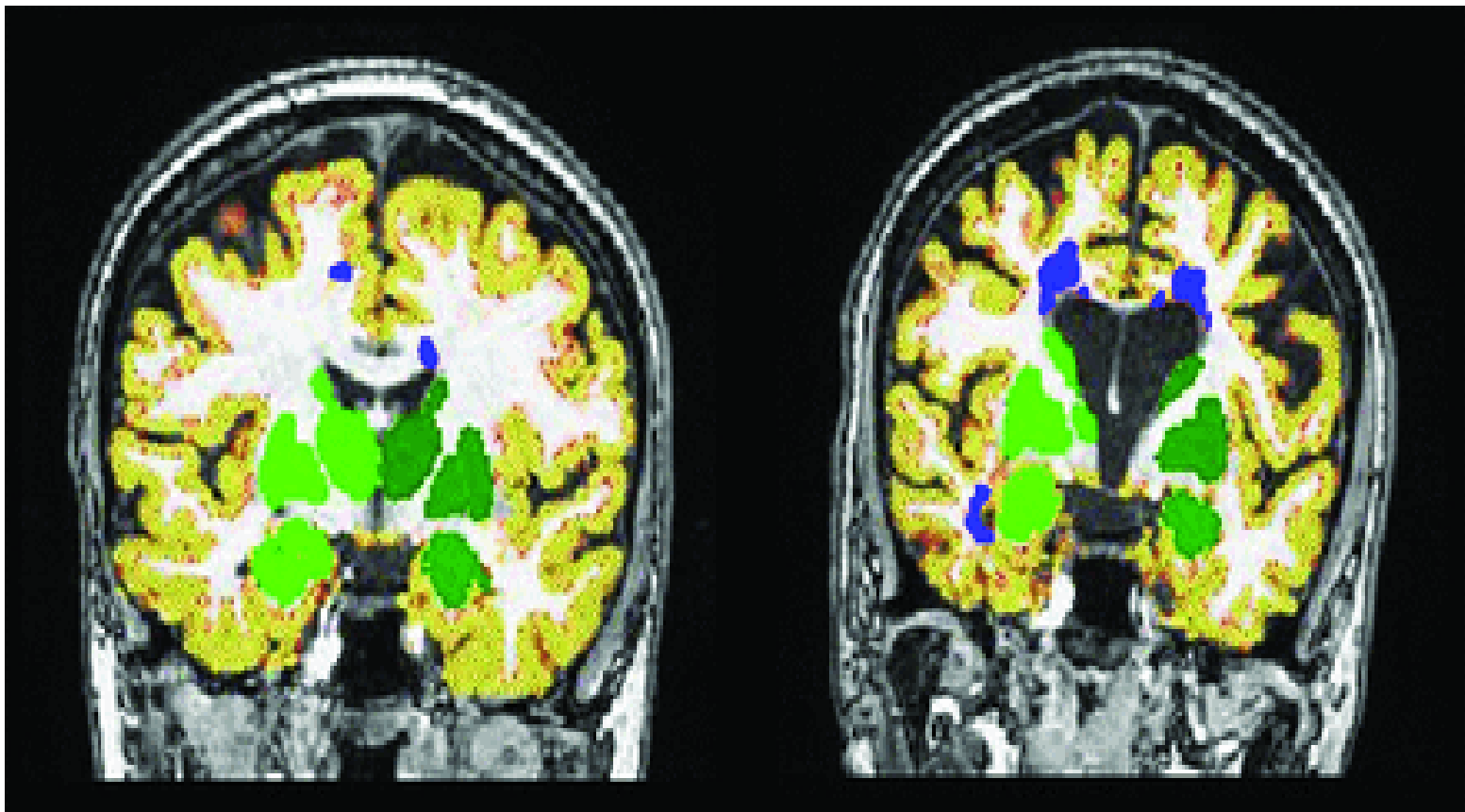
Na osnovu svih dobijenih parametara softver formira konačnu predstavu o zapremini subkortikalnih struktura, tako što formira tzv. parametarsku mrežu podataka (slika 10).

**Slika 10. Mreže podataka dobijene iz prethodnih koraka FIRST softvera koji daju podatak o zapremini željene segmentovane strukture (preuzeto sa [https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc\\_seg.pdf](https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/struc_seg.pdf)).**

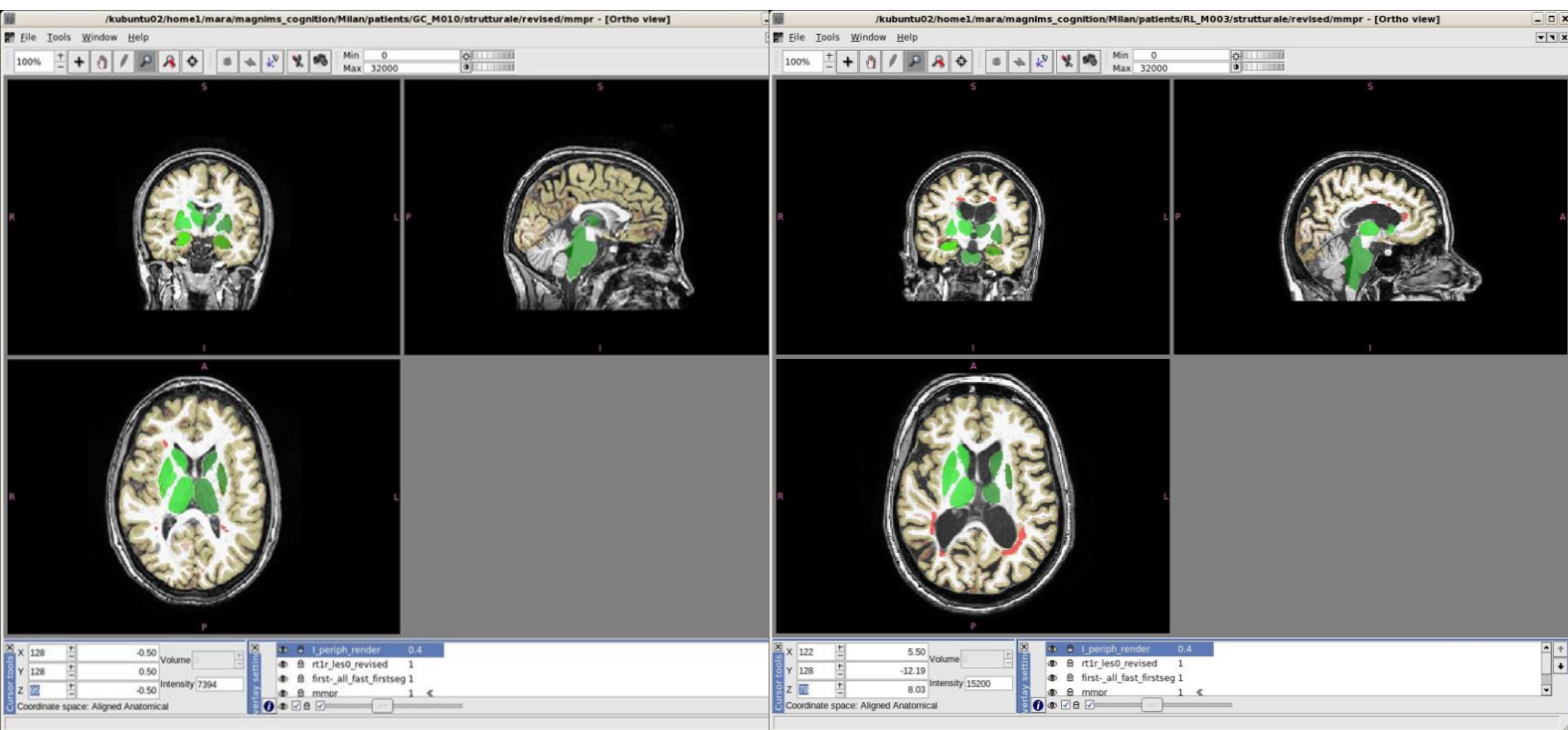


Nakon završene procedure dobijaju se vrednosti zapremine za sve ispitivane subkortikalne strukture SM koje se izražavaju u ml (Slika11, 12 i 13).

**Slika 11. Ilustrativni primeri segmentacije volumena kortikalne sive mase (žuto) (SIENAx), volumena subkortikalne sive mase (zeleno) (FIRST), superponovano sa prikazom hiperintenznih lezija u beloј masi mozga (crveno) kod bolesnika od multiple skleroze bez kognitivnog oštećenja (A) i kod pacijenta sa kognitivnim oštećenjem (B). Snimci su urađeni u radiološkoј orijentaciji (konvenciji).**



**Slika 12. Ilustrativni primeri segmentacije volumena subkortikalne sive mase (zeleno) i lezije bele mase (crveno) kod bolesnika sa multiplom sklerozom bez (A) i sa kognitivnim oštećenjem (B). Snimci su urađeni u radiološkoj orijentaciji (konvenciji).**



### Slika 13. Numerički output FIRST softvera, sa prikazanim zapreminama subkortikalnih struktura.

1 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/101_L_A583/strutturale/revise/	9780	4362	6743	2064	26402	4073	1306	732	9933	4392	6871	2094	4017	1823	609
2 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/108_L_A756/strutturale/revise/	8875	4944	6083	2037	30102	4202	976	505	8791	5156	6837	2141	4119	1533	300
3 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/111_L_A760/strutturale/revise/	9380	4414	6045	2070	25220	4246	1555	606	9463	4309	5620	1936	4515	1219	463
4 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/110_L_A740/strutturale/revise/	6652	2830	4149	1323	18101	2988	1145	473	6418	3000	4182	1337	3429	1022	204
5 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/107_L_A749/strutturale/revise/	7724	4099	4684	1745	21879	3099	1138	314	8039	4553	4434	1728	3820	631	464
6 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/104_L_A719/strutturale/revise/	8380	3629	4790	1833	25006	4030	1226	552	7960	3782	4786	1968	4211	1390	338
7 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/105_L_A720/strutturale/revise/	8989	4338	4757	3561	26123	3918	1584	588	9144	4305	4851	3419	4484	1329	460
8 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/106_L_A737/strutturale/revise/	7607	3952	5696	1848	22095	3642	1145	552	7405	4047	5171	1795	4065	1486	588
9 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/109_L_A739/strutturale/revise/	9284	4331	5571	2067	25810	4268	1521	661	8902	4460	5404	1863	4546	1629	352
10 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/109_L_A739/strutturale/revise/	9284	4331	5571	2067	25810	4268	1521	661	8902	4460	5404	1863	4546	1629	352
11 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/109_L_A739/strutturale/revise/	9284	4331	5571	2067	25810	4268	1521	661	8902	4460	5404	1863	4546	1629	352
12 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/otherFiles/ctrl02_ML20100616/strutturale/revise/sienax/	8142	3880	5526	1889	22041	4158	1387	675	8108	3988	5111	1785	4202	1547	580
12 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/controls/otherFiles/ctrl03_TD-A599-20100630/strutturale/revise/sienax/	9690	4190	5686	1967	27969	4525	1927	687	9576	4448	5745	1941	4671	2045	504
13 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/patients/006_L_MT02476/strutturale/revise/	8173	3608	5118	1835	23586	3313	999	512	8188	3811	5124	1562	3367	665	454
14 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/patients/007_L_MT02475/strutturale/revise/	8146	4029	4636	1749	20697	3469	1012	628	7666	3946	4340	1405	3760	758	546
15 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/patients/003_L_A750/strutturale/revise/	6846	2729	4372	1908	21312	3091	1225	326	6750	2645	4190	1885	3201	1571	339
16 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/patients/004_L_A755/strutturale/revise/	8026	3223	4654	1730	22380	3884	1251	561	8128	3250	4609	1732	3910	1302	568
17 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/patients/002_L_A733/strutturale/revise/	5515	2665	2623	1130	19333	2895	1132	329	5599	2557	3085	1148	2684	758	267
18 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/london/patients/001_L_A732/strutturale/revise/	5474	2025	3225	1171	18434	3130	1059	357	5534	2467	3781	1323	3403	1033	262
19 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/ED-A-107/strutturale/revise/	7915	4025	4617	1694	22373	3108	1089	379	7756	4200	4777	1756	3448	986	335
20 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/HN-A-102/strutturale/revise/	8556	3769	5033	1912	24231	4006	1413	547	8481	3895	4733	1926	3979	1430	368
21 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/AB-A-109/strutturale/revise/	7972	3448	5121	2348	21488	4097	1409	413	7756	3488	5070	2657	4070	1336	349
22 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/MB-A-106/strutturale/revise/	8034	3959	5235	1839	22085	4245	1399	616	8032	3782	5067	1836	4284	1176	559
23 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/MM-A-108/strutturale/revise/	7568	3599	4668	1652	21117	3351	1037	679	7652	3740	4769	1780	3840	1202	515
24 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/VP-A-101/strutturale/revise/	8292	3788	5506	1747	21552	4581	1219	540	7941	3951	5333	1892	2924	1023	537
25 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/AS_A-104/strutturale/revise/	8058	3222	4197	1594	22375	3813	1201	544	7791	3371	3892	1664	3903	1193	565
26 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/RJ-A-105/strutturale/revise/	8814	3625	5643	1944	23565	4115	1218	711	8658	3943	5822	1871	4292	1129	363
27 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/controls/EH-A-103/strutturale/revise/	8681	3562	5870	2057	25000	4403	1608	722	8449	3720	5690	2117	4784	1695	498
28 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/NL-A-002/strutturale/revise/	6493	3698	3989	1564	19299	3551	1017	452	6509	3580	3913	1553	3529	987	385
29 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/AV-A-006/strutturale/revise/	6494	2390	4143	1666	22195	3174	1285	360	6603	2651	3845	1680	3729	1384	374
30 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/HF-A-001/strutturale/revise/	7354	3329	4530	1642	20295	3618	1324	569	7286	3405	4789	1602	3749	1319	486
31 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/CB-A-003/strutturale/revise/	7903	3704	4720	1809	21929	4050	1578	444	7878	3917	4670	1815	4009	1516	378
32 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/JB-A-008/strutturale/revise/	8710	3503	5121	1556	25089	4219	1399	647	8224	3799	5305	1974	2851	1434	510
33 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/OE-A-007/strutturale/revise/	4910	2256	3183	1105	17773	2738	841	159	4715	2351	2663	1180	2855	600	227
34 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/JV-A-004/strutturale/revise/	8910	3612	5243	1730	26452	3722	1279	528	8587	3580	5231	1951	3428	1591	472
35 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/amsterdam/patients/JE-A-005/strutturale/revise/	5791	2576	4361	1737	22706	3334	1176	455	6041	2659	4013	1506	3715	888	167
36 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/JSG_B-1002_funz/nii_3d/revise/	9558	4094	5112	2085	24889	4224	1596	732	9335	4063	4962	2218	4005	1461	571
37 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/JSG_B-1002_strutt/nii_3d/revise/	4651	1817	2666	1049	12759	1616	1313	266	4775	2027	2533	1038	1692	959	122
38 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/SWR_B-1003/nii_3d/revise/	4189	1211	868	617	11094	1681	514	351	5292	2666	1580	357	1426	235	55
39 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/AG_B-1005/strutturale/revise/	3741	869	1500	359	6034	618	480	59	3329	1233	1570	1089	1217	397	103
40 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/AT_B-1004/nii_3d/revise/	8473	3183	4070	1596	20282	3611	1273	490	8415	3588	4117	1619	3871	1421	394
41 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/EAC_B-1001/nii_3d/revise/	7106	3600	5204	1680	29602	3146	1040	469	8080	2812	4556	1707	3076	1312	478
42 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/AV_B-1006/nii_3d/revise/	3292	777	1098	633	7713	997	238	103	3160	956	921	495	1227	410	95
43 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/controls/ctrl04/nii_3d/revise/	1514	545	482	300	2583	374	290	81	1549	510	757	321	393	106	94
44 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/patients/RG-Bar-006/strutturale/revise/	8187	3830	5486	1831	24413	4108	1317	682	8095	3954	5351	2036	4278	1461	567
45 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/patients/IP-Bar-002/strutturale/revise/	7611	3156	4506	1774	23998	3688	1617	538	7655	3267	4464	1830	3545	1316	354
46 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/patients/MP-Bar-010/strutturale/revise/	7028	3058	3548	1415	18828	3268	1571	450	6843	3148	3576	1558	3126	1371	342
47 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/patients/AF-Bar-001/strutturale/revise/	8190	3398	5094	1975	22638	4156	1499	614	8126	3459	5248	1915	4101	1749	483
48 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/patients/RM-Bar-009/nii_3d/revise/	7869	3172	4709	1630	18154	2936	1179	421	7762	3471	4374	1668	2820	1184	429
49 /kubuntu02/home/mara/magnims_cognition/barcellona/patients/JM-Bar-003/strutturale/revise/	8263	3652	5214	1737	23578	4154	1599	396	8191	4030	5155	1699	3959	1568	461

### 3.4. Statistička analiza

Demografske i kliničke karakteristike, veličina lezija i volumetrijske varijable dobijene MR pregledom predstavljene su kao srednje vrednosti i opseg, učestalosti i procenti, za kontinuirane ili kategorijalne varijable, respektivno. T2 i T1 VL bili su logaritamski transformisani zbog raspodele koja je različita od normalne. Imajući u vidu slično ponašanje desnih i levih jezgara duboke SM, pre statističke analize uprosečeni su volumeni duboke SM u obe hemisfere. Ovim je izbegnuta multikolinearnost i smanjen broj poređenja. Takođe je dobijen i normalizovani volumen jezgara duboke SM (NDGMV, tj., zbir talamusa, kaudata,

putamena, paliduma, amigdale i akumbensa). Heterogenost MRI varijabli je testirana između centara korišćenjem Analize varijanse za kontinuirane i Pirsonovog hi-kvadrat testa za kategorijalne varijable (osim za broj KL, koji su uneseni u negativne binomne modele).

Poređenja lezijskih i volumetrijskih MR parametara, između zdravih ispitanika (ZI) i bolesnika obolelih od MS-a, kao i između ZI, kognitivno očuvanih bolesnika obolelih od MS-a i kognitivno oštećenih bolesnika obolelih od MS-a, obavljena su korišćenjem generalizovanih linearnih modela slučajnih efekata, kontrolisano za uzrast, uz grupisanje (npr., subjekti u okviru jednog centra), korišćenjem slučajnih odsečaka i nestrukturisane matrice kovarijanse.

Univarijantne korelacije između kliničkih, neuropsiholoških i lezijskih/volumetrijskih MR varijabli su takođe procenjene koristeći generalizovani linearni model slučajnih efekata korišćenjem slučajnih odsečaka i nestrukturisane matrice kovarijanse, uz kontrolisanje za uzrast. Veličina efekta korelacija procenjena je korišćenjem standardizovanih regresionih koeficijenata. Ista strategija modelovanja koristila se i da bi se ustanovile MR varijable koje su nezavisno povezane sa kognitivnim i EDSS skorovima uz korišćenje postupne selekcije varijabli. Za ulazak u model varijable su selektovane na nivu značajnosti od 0,10 i nivu značajnosti od 0,05 za ostajanje u multivarijantnom modelu.

P-vrednost  $<0,05$  smatrala se statistički značajnom (softver *SAS Release 9.1.3*). Svi rezultati su kontrolisani za višestruka poređanja uz korišćenje pristupa stope lažnih otkrića (Benjamini Y, 1995).

P-vrednost  $<0,05$  smatrala se statistički značajnom (softver *SAS Release 9.1.3*). Svi rezultati su podešeni za višestruka poređanja uz korišćenje pristupa lažna stopa otkrića (Benjamini Y, Hochberg, Y, 1995).

## 4. REZULTATI

### 4.1. Demografske i kliničke karakteristike bolesnika i ZI

U studiju je uključeno 62 bolesnika sa RRMS, 22 muškog pola dok je 40 bolesnika bilo ženskog pola (žene/muškarci: 1.8/1). Prosečna životna dob na nivou cele grupe je iznosila 39.5 godina (SD=8.5, raspon=21-56 godine), dok je prosečna dužina trajanja bolesti bila 8.2 godina (SD=6,4, raspon=2-33 godine). Medijana EDSS skor je iznosila 2.0, raspon EDSS=0.0-6.0. Najveći broj bolesnika (87%) je primao terapiju koja modifikuje prirodni tok MS: interferon beta-1b i interferon beta-1a (50%), copaxon (18%), fingolimod (0.03%) i natalizumab (0.09%).

U istraživanje je uključeno i 65 zdravih ispitanika (ZI), 27 muškog pola, dok je 38 bilo ženskog pola (žene/muškarci: 1.4/1). Prosečna starost ZI je iznosila 35.8 godina, (SD=9.4), raspon: 24-51 godina. Bolesnici i ZI se nisu razlikovali po polnoj distribuciji, međutim ZI su bili mlađi od bolesnika sa MS ( $p=0.006$ ), zbog čega je starost uključena kao “kovarijabla smetnje” u svim statističkim modelima.

Tabela 1 rezimira glavne demografske i kliničke karakteristike ispitanih subjekata u svim centrima ove multicentrične studije. Nije ustanovljena heterogenost vezana za pol i trajanje bolesti između centara, međutim prosečna životna dob i EDSS su bili heterogeni među lokacijama (Tabela 1).



**Tabela 1. Demografske i kliničke karakteristike bolesnika sa multiplom sklerozom i zdravih ispitanika uključenih u studiju u sedam evropskih centara.**

	Centar I		Centar II		Centar III		Centar IV		Centar V		Centar VI		Centar VII		p*	p**	p <sup>+</sup>
Grupa	ZI	MS	ZI	MS	ZI	MS	ZI	MS	ZI	MS	ZI	MS	ZI	MS			
M/Ž	3/6	4/4	2/5	6/3	9/3	5/2	4/5	3/4	4/6	3/7	3/5	3/8	2/8	1/9	0,2 <sup>§</sup>	0,2 <sup>§</sup>	0,7
Prosečna životna dob (SD) [godine]	45,2 (6,7)	49,3 (4,5)	28,2 (6,7)	35,0 (8,2)	34,6 (6,3)	37,8 (9,5)	32,2 (5,0)	39,4 (9,7)	33,8 (8,2)	37,4 (8,3)	34,8 (10,5)	38,8 (7,9)	39,7 (12,5)	39,7 (6,2)	0,004	0,01	0,006
Medijana EDSS skora (opseg)	-	3,5 (2,0-4,0)	-	1,5 (1,0-4,0)	-	2,5 (0,0-3,5)	-	2,0 (1,0-4,0)	-	1,5 (1,0-4,0)	-	1,5 (1,0-6,0)	-	1,5 (1,0-4,0)		0,01	
Prosečna dužina trajanja bolesti (SD) [godine]	-	7,3 (4,4)	-	6,3 (2,6)	-	10,0 (7,3)	-	4,4 (2,4)	-	7,3 (9,1)	-	12,3 (7,9)	-	8,1 (4,3)		0,17	

ANOVA modeli za heterogenost lokacije \*kod zdravih ispitanika; \*\*kod bolesnika sa multiplom sklerozom; <sup>+</sup>glavni efekat grupe (tj., razlika između kontrola i bolesnika sa MS)

Skraćenice: SD=standardna devijacija; M=muškarci; Ž=žene; ZI=zdravi ispitanici; EDSS=Proširena skala funkcionalne onesposobljenosti.

Dvadeset i tri (37%) bolesnika je ispunilo kriterijume za kognitivno oštećenje. Distribucija učestalosti kognitivnog oštećenja kod bolesnika od MS između centara uključenih u studiju je bila heterogena, ali se statistički nije bitno razlikovala: Centar I=50% kognitivno oštećenih, Centar II=11%, Centar III=29%, Centar IV= 57%, Centar V=60%, Centar VI=45%, Centar VII=10% (Pirsonov Chi kvadrat test,  $p=0.1$ ).

U odnosu na bolesnike koji su bili kognitivno očuvani, bolesnici sa kognitivnim oštećenjem su bili značajno stariji ( $p=0.007$ ). Nije uočena značajna razlika u distribuciji polova između ove dve grupe, kao ni u vrednosti EDSS skora, dužini trajanja bolesti i godina obrazovanja (tabela 2). U grupi bolesnika koja je bila kognitivno očuvana 33 bolesnika (84%) je primalo terapiju koja modifikuje prirodni tok bolesti, dok je kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem ovu terapiju primalo 91% ( $p\geq 0.05$ ).

Domeni u kognitivnom funkcionisanju koji su najčešće bili oštećeni su: pažnja i brzina obrade informacija (43% bolesnika), verbalno pamćenje (27% bolesnika), prostorno pamćenje (21% bolesnika) i na kraju verbalna fluentnost (16%). Dvadeset i četiri procenata bolesnika su pokazali oštećenje na WCST (15 bolesnika) odnosno oštećenje egzekzivnih funkcija. Ovi bolesnici su takođe klasifikovani kao kognitivno oštećeni i upotrebom Raove baterije testova.

**Tabela 2. Prikaz osnovnih demografskih i kliničkih karaktersitika bolesnika od multiple skleroze sa i bez kognitivnog oštećenja.**

	<b>Kognitivno očuvani</b>	<b>Kognitivno oštećeni</b>	<b><i>p</i></b>
Prosečna životna dob (SD) [godine]	37.3 (7.9)	43.4 (8.4)	0.007
Pol (Ž/M)	24/15	16/7	0.2
Prosečna dužina trajanja bolesti (SD) [godine]	7.2 (4.8)	9.9 (8.2)	0.4
Prosečna dužina obrazovanja (SD) [godine]	13.7 (3.1)	13.5 (3.4)	0.8
Medijana EDSS skora	1.9	2.5	0.3

Skraćenice: SD=standardna devijacija; EDSS=Proširena skala funkcionalne onesposobljenosti.

#### **4.2. Nalaz na konvencionalnoj MR mozga**

Nije postojala značajna heterogenosti u vrednostima zapremine HIZ lezija detektovanih na T2 sekvenci ( $p=0,17$ ), kao ni zapremine hipointenznih promena detektovanih na T1W sekvenci između centara uključenih u studiju T1 ( $p=0,22$ ) (Tabela 3). Takođe se ni ukupna zapremina kortikalnih lezija nije značajno razlikovala među centrima ( $p=0,09$ ) (Tabela 3). Međutim, postojala je značajna heterogenost između centara u ukupnom broju KL, kako mešovitih tako i „čistih intrakortikalnih lezija“ (Tabela 3).

U poređenju sa bolesnicima koji su bili kognitivno očuvani, oni bolesnici su bili kognitivno oštećenje su imali značajno veću zapreminu HIZ lezija detektovanih na T2 sekvenci, kao i značajno veću zapreminu hipointenznih promena detektovanih na T1W, dok se ukupna zapremina i broj KL nije značajno razlikovala između ove dve grupe bolesnika (Tabela 3).

U grupi ZI svi subjekti uključeni u studiju se imali normalan nalaz na konvencionalnoj MR mozga.

**Tabela 3. Prikaz različnih parametrov dobijenih analizom konvencionalne magnetne rezonanci mozga kod zdravih ispitanika i bolesnika sa multiplom sklerozom sa i bez kognitivnog oštećenja.**

	ZI	MS	p*	Kognitivno očuvani	Sa kognitivnim oštećenjem	p*
ZLT2 [ml] (SD)	-	10,6 (13,9)	-	7,1 (9,6)	16,5 (17,8)	0,01
ZLT1 [ml] (SD)	-	5,5 (5,8)	-	3,6 (3,5)	8,7 (7,6)	0,01
ZKL [ml] (SD)	-	0,4 (0,7)	-	0,40 (0,9)	0,44 (0,4)	0,4
Medijana ukupnog broja KL (opseg)	-	3 (0-33)	-	2,0 (0-33)	6,0 (1-16)	0,5 <sup>+</sup>
Medijana broja čistih KL (opseg)	-	1 (0-14)	-	0,5 (0-14)	1,5 (0-11)	0,8 <sup>+</sup>
Medijana broja mešovutih KL (opseg)	-	2 (0-19)	-	1,0 (0-19)	4,0 (0-9)	0,9 <sup>+</sup>

\*model mešovutih efekata sa slučajnim odsečcima za mesto pacijenata, kontrolisano za starost i mesto

+negativni binomni model mešovutih efekata sa slučajnim odsečcima za mesto pacijenata, kontrolisano za starost (korigovano za stope lažnih otkrića)

Skraćenice: ZI=zdravi ispitanici; MS=multipla skleroza; SD=standardna devijacija; ZLT2=ukupna zapremina promena u mozgu na T2 sekvenci; ZLT1 ukupna zapremina promena u mozgu na T1 sekvenci; ZKL ukupna zapremina kortikalnih lezija; KL=kortikalne lezije.

### **4.3. Volumetrija analiza na MR mozga**

Vrednosti NZM, NZSM, NZBM i NZKSM su bili značajno heterogeni među centrima uključenim u studiju ( $p$  u opsegu od  $<0,001$  do  $0,04$ ), dok ovo nije bio slučaj kod volumena jezgara duboke SM, osim kod amigdale ( $p<0,001$ ). Volumeni jezgara duboke SM bili su slični onima koji su dobijeni u prethodnim studijama (Debernard i sar 2015, Uddin i sar 2016).

Sve navedene strukture su pokazale značajnu atrofiju kod bolesnika od MS u odnosu na ZI ( $p<0,001$ ) (tabela 4). Takođe, bolesnici koji su bilo kognitivno oštećeni su imali značajno manji volumen ispitivanih struktura u odnosu na one koji nisu bili kognitivno očuvani, osim u slučaju amigdala i palidusa gde je registrovan samo trend ka manjem volumenu ovih struktura kod bolesnika koji su bili kognitivno oštećeni (Tabela 4).

**Tabela 4. Prikaz zapremina različitih struktura mozga kod bolesnika od multiple skleroze (MS) i zdravih ispitanika, kao i kod bolesnika od MS sa i bez kognitivnog oštećenja.**

	ZI	MS	p*	Kognitivno očuvani	Sa kognitivnim oštećenjem	p*
NZM [ml] (SD)	1533 (79)	1436 (145)	<0,001	1460 (98)	1395 (113)	0,006
NZSM [ml] (SD)	826 (56)	776 (67)	0,0002	793 (68)	748 (57)	0,02
NZKSM [ml] (SD)	638 (48)	599 (53)	0,0004	612 (55)	578 (43)	0,02
NZBM [ml] (SD)	706 (40)	659 (68)	<0,001	667 (54)	645 (88)	0,03
Ukupni normalizovani volumen subkortikalne SM [ml] (SD)	28,1 (1,7)	24,7 (3,1)	<0,001	25,8 (2,4)	23,0 ( 3,5)	<0,001
Prosečan normalizovani volumen talamusa [ml] (SD)	11,1 (0,7)	9,7 (1,3)	<0,001	10,1 (1,0)	9,0 (1,4)	0,0007
Prosečan normalizovani volumen kaudatusa [ml] (SD)	5,0 (0,5)	4,4 (0,7)	<0,001	4,5 (0,6)	4,1 (0,7)	0,02
Prosečan normalizovani volumen putamena [ml] (SD)	6,8 (0,6)	6,1 (0,9)	<0,001	6,5 (0,7)	5,5 (0,9)	<0,001

Prosečan normalizovani volumen palidusa [ml] (SD)	2,5 (0,3)	2,2 (0,2)	<0,001	2,3 (0,1)	2,1 (0,3)	0,05
Prosečan normalizovani volumen hipokampusa [ml] (SD)	5,3 (0,4)	4,8 (0,6)	<0,001	5,0 (0,5)	4,5 (0,7)	0,004
Prosečan normalizovani volumen amigdale [ml] (SD)	1,8 (0,3)	1,6 (0,3)	0,001	1,7 (0,3)	1,5 (0,3)	0,05
Prosečan normalizovani volumen akumbensa [ml] (SD)	0,7 (0,1)	0,6 (0,1)	0,004	0,6 (0,1)	0,5 (0,1)	0,01

Skraćenice: ZI=zdravi ispitanici; MS=multipla skleroza; SD=standardna devijacija;  
 NZM= normalizovana zapremina mozga; NZSM= normalizovana zapremina SM mozga;  
 NZKSM = normalizovana zapremina kortikalne SM; NZBM= normalizovana zapremina BM  
 mozga.



#### 4.4. Korelacija kliničkih i MR parametara

ZLT2 i ZLT1 je pokazala značajnu negativnu korelaciju sa globalnim i parcijalnim kognitivnim skorovima (Z skorom pažnje i Z skorom verbalnog pamćenja), ali ne i sa rezultatima postignutim na WCST (broj perseveracija) kao ni sa EDSS skorom (Tabela 5). Niže vrednosti NZM su bile povezani sa lošijim postignućima na globalnim i parcijalnim kognitivnim testovima, ali ne i sa rezultatima WCST. Ova struktura pokazala značajnu korelaciju i sa većim stepenom invaliditeta (EDSS skorom). Slične rezultate smo dobili prilikom ispitivanja korelacije ZBM sa navedenim varijablama, dok nije pokazana korelacija ZBM sa WCST.

Kada je ispitavana povezanost volumena svih subkortikalnih struktura SM i ZKSM, pokazano je da postoji značajna korelacija sa globalnim kognitivnim skorom i sa Z skorom pažnje, dok sa Z skorom verbalnog pamćenja, zatim rezultatima WCST i EDSS skorom nije pokazana povezanost (Tabela 3). Smanjeni volumeni svih jezgara duboke SM i hipokampusu bili su značajno povezani sa globalnim neuropsihološkim skorovima i neuropsihološkim skorovima koji su se odnosili na pažnju. Volume ovih struktura kao i volume talamusa i putamena su dodatno pokazali korelaciju sa vizuelnim pamćenjem. Niži volumeni putamena i talamusa su imali korelaciju sa višim EDSS skorom. Nije pokazana značajnih korelacija između navedenih MR mera i trajanja bolesti, verbalnog sećanja ili Z-skorova verbalne flunetnosti. Šta više, nije ustanovljena nikakva korelacija između volumena i broja KL i kliničkih/neuropsiholoških varijabli.

U modelu multivarijantne analize odžao se prosečni hipokampalni volumen (objašnjava varijansu=15%,  $p=0,0002$ ) kao najbolji prediktor globalnog kognitivnog Z skora, zatim ukupni normalizovani volumen subkortikalne SM (objašnjava varijansu=19%,  $p<0,001$ ) kao najbolji predskazivač Z skora pažnje, i NZM (objašnjena varijansa=10%,  $p=0,006$ ) kao najbolji predskazivač Z skora vizuelnog pamćenja i NZBM (objašnjena varijansa=8%,  $p=0,008$ ) kao najbolji predskazivače EDSS skora.

**Tabela 5. korelacija volumena struktura mozga sa globalnim kognitivnim Z skorom, Z skorom pažnje i vizuelnog pamćenja, kao i sa WCST testom i EDSS skorom**

<b>MR parametri</b>	Globalni kognitivni Z skor	Z skor pažnje	Z skor vizuelnog pamćenja	Egzekutivne funkcije (WCST pr)	EDSS
T2 LV (p)	-0,35 (0,01)	-0,33 (0,008)	-0,34 (0,03)	-0,25 (0,06)	NS
T1 LV (p)	-0,31 (0,02)	-0,31 (0,01)	-0,33 (0,03)	-0,28 (0,05)	NS
NZM (p)	0,44 (0,01)	0,44 (0,001)	0,35 (0,03)	NS	-0,33 (0,01)
NZSM (p)	0,36 (0,01)	0,31 (0,01)	NS	NS	NS
NZKSM (p)	0,42 (0,01)	0,36 (0,01)	NS	NS	NS
NZBM (p)	0,37 (0,01)	0,40 (0,004)	0,35 (0,03)	NS	-0,35 (0,008)
Ukupni normalizovani volumen subkortikalne SM (p)	0,40 (0,001)	0,47 (<0,001)	0,33 (0,04)	NS	-0,29 (0,03)
Prosečan normalizovani volumen talamusa (p)	0,36 (0,002)	0,41 (0,0005)	0,30 (0,05)	NS	NS
Prosečan normalizovani volumen kaudatusa (p)	0,40 (0,001)	0,50 (<0,001)	NS	NS	NS
Prosečan normalizovani volumen putamena (p)	0,40 (0,001)	0,46 (0,0001)	0,37 (0,03)	NS	-0,30 (0,03)

Prosečan normalizovani volumen palidusa (p)	0,25 (0,03)	0,34 (0,003)	NS	NS	-0,35 (0,01)
Prosečan normalizovani volumen hipokampususa (p)	0,39 ,001)	0,34 (0,003)	NS	NS	NS
Prosečan normalizovani volumen amigdale (p)	0,33 (0,01)	0,33 (0,01)	NS	NS	NS
Prosečan normalizovani volumen akumbensa (p)	0,32 (0,009)	0,36 (0,003)	NS	NS	NS

Skraćenice: MR= magnetna rezonanca; WCSTpr=Viskonsin test sortiranja karata, broj perseverivnih odgovora; EDSS=T2LV=ukupna zapremina promena u mozgu na T2 sekvenci (ml); T1LV ukupna zapremina promena u mozgu na T1 sekvenci (ml); NZM=normalizovana zapremina mozga; NZSM=normalizovana zapremina sive mase; NZKSM= normalizovana zapremina kortikalne sive mase; NZBM= normalizovana zapremina bele mase.

## 5. DISKUSIJA

### 5.1. Kliničke i demografske karakteristike bolesnika sa RRMS uključenim u studiju

Sprovedena studija predstavlja jednu od retkih multiparametarskih studija koje je vršila sveobuhvatnu analizu svih segmeneta oštećenja tkiva u mozgu bolesnika sa RRMS a u cilju ispitivanja mehanizama koji bi mogli biti odgovorni za nastanak kognitivnih oštećenja u ovoj formi MS. Uključeni su parametri koji kvantifikuju stepen multifokalnog oštećenja bele mase (ZLT2, ZLT1) i sive mase (KL), zatim ukupna zapremina mozga, sive i bele mase, a posebno je eksplorisano volumen dubokih subkortikalnih struktura sive mase. Za razliku od većine prethodnih istraživanja koje se odnose na kognitivna oštećenja u MS a koje su uglavnom obuhvatale različite forme MS, u ovu studiju je uključena relativno homogena grupa bolesnika sa RRMS sa ciljem se evaluiraju mehanizmi koji doprinose nastanku kognitivne disfunkcije u ovoj formi bolesti.

U skladu sa rezultatima ranijih studija o prevalenci kognitivnih oštećenja u RRMS, koja se kreće od 22 do 40%, u ovom istraživanju je kognitivno oštećenje detektovano kod 37% bolesnika (Nocentini i sar., 2006, Patti i sar., 2009 i Potagas i sar., 2008, Calabrese i sar., 2009c, Amato i sar., 2010, Rossi i sar., 2012, Dačković i sar., 2016). Demografski i klinički podaci pokazuju da bolesnici sa kognitivnim oštećenjem nisu pokazali razliku u odnosu na kognitivno očuvane bolesniku ni u polnoj distribuciji, ni u vrednosti EDSS skora, kao i u dužini trajanja bolesti i godinama obrazovanja. U dostupnoj literaturi, nijedna potvrda jasan uticaj bilo koje od navedenih varijabli na nastanak kognitivnih oštećenja u MS (Rao i sar., 1991, Chiaravalloti i DeLuca, 2008), tako da rezultati ove studije ukazuju da navedeni faktori nisu značajni za nastanak kognitivnih oštećenja. Sa druge strane obe grupe bolesnika su primale različite vidove imunomodulatorna (IMD) terapije, čak su bolesnici koji su bili kognitivno oštećeni u nešto većem procentu bili lečeni (91% vs. 84%) što ukazuje i da primena IMD nije uticala na razlike u učestalosti pojave kognitivnih oštećenja u ovoj ispitivanoj grupi. Kada su u pitanju rezultati dostupni u dosadašnjoj literaturi o uticaju IMD na razvoj kognitivnih oštećenja, studije ukazuju da ova terapija može da ima blagi pozitivan efekat u razvoju kognitivnih poremećaja, i to se odnosi pre svega lekove iz grupe interferon-beta (Fischer i sar., 2000, Barak i sar., 2002), ali treba imati u vidu da je u kliničkim studijama efekat IMD na kognitivna oštećenja uvek bio sekundarni parametar efikasnosti

terapije i da se više informacija dobilo u postmarkteniškim studijama koje su obuhvatale mali broj bolesnika i imale dosta metodoloških problema (Comi, 2010, Mückschel i sar., 2016). Rezultate ove studije ukazuju da imunomodulatorna terapija nije imala uticaja na parametre oštećenja mozga koji su detektovani u većoj meri kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem.

Jedina razlika između ove dve grupe bolesnika u kliničkim parametrima se odnosila na značajno veću životnu dob kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem što je pokazano u još nekoliko studija sa RRMS (Amato i sar., 2004, Rossi i sar., 2012), ali i u studiji gde su osim bolesnika sa RRMS bili uključeni i bolesnici sa „relapsnim početkom bolesti“ (Lublin i sar., 2013), odnosno i bolesnici sa SPMS (Hulst i sar., 2013) ali i benignom MS (Preziosa i sar., 2017). Sa druge strane, ovi rezultati su u skladu sa studijama koja su ukazala da životna dob bolesnika od MS predstavlja nezavisan prediktivni faktor za nastanak kognitivnih oštećenja u MS (Patti i sar., 2009, Calabrese i sar., 2009c).

Za procenu kognitivnog oštećenja, osim Rao-ove Kratke Ponovljive Neuropsihološke Baterije (Rao i sar. 1990), u ovoj studiji je dodatno testiranje obavljeno i upotrebom Wiskonsin test sortiranja karata (WCST) (Heaton, 1993) kako bi se bolje procenile egzekutivne funkcije. Iako je uočena velika heterogenost u učestalosti kognitivnih poremećaja između centara uključenih u studiju (od 10%-60%), ona nije bila statistički značajna, a ovakve varijacije se mogu objasniti pre svega različitim jezičkim i kulturološkim aspektima kao i socioekonomskim razlikama među ispitanicima, ali se ne sme zanemariti i mogući uticaj depresije i zamora na postignuća na kognitivnim testovima. Iako je isključujući kriterijum bilo prisustvo „major depresije“, ne može se isključiti da je određen broj bolesnika imao blaže simptome depresije koji nisu evaluirani u ovoj studiji odgovarajućim tetsovima. Naime, poznato je da oko 50-85% bolesnika sa MS ima neku vrstu depresiju (Sadovnick i sar., 1996) ali da ona ostaje često neotkrivena i nelečena. Pokazano je da prisustvo depresije može uticati na kognitivna postignuća kod bolesnika sa MS (Sa, 2008) ali postoje i suprotna mišljenja (Karadayi i sar., 2014). Takođe ni zamor nije kvantifikovan u ovoj studiji, a bolesnici se često žale da zamor utiče na njihovo kognitivno funkcionisanje (Langdon, 2011), mada o uticaju zamora na kognitivno funkcionisanje u MS takođe postoje kontroverzni rezultati (Holtzer i sar., 2009, Bailey i sar., 2007 Krupp i sar., 2010, Andreasen i sar., 2010). Sa druge strane, na nastanak kognitivnih oštećenja svakako utiče i moždana i kognitivna rezerva koje takođe mogu objasniti različitu prevalencu ovih ispada kod testiranih bolesnika (Sumowski i sar., 2010, 2014, Sumowski i Leavitt, 2013).

U svakom slučaju obrazac kognitivnih disfunkcija koji je dobijen u ovoj studiji pokazuje da su domeni koji su najčešće bili oštećeni: pažnja i brzina obrade informacija,

zatim verbalno pamćenje, potom egzekutivne funkcije, prostorno pamćenje i na kraju verbalna fluentnost, što predstavlja uobičajeni profil kognitivnih oštećenja kod bolesnika od MS (Chiaravalloti i DeLuca, 2008; Rao i sar., 1991, Langdon, 2011), zbog čega ovaj uzorak testiranih bolesnika predstavlja i reprezentativni uzorak za ispitivanje uzroka njihovog nastanka.

## **5.2. Razlike u nalazima strukturalnog oštećenja mozga kod bolesnika sa i bez kognitivnog oštećenja**

Rezultati ove studije ukazuju da nastanku kognitivnih oštećenja u MS doprinose kako oštećenja BM, tako i oštećenja SM mozga, odnosno pokazano je da su bolesnici koji su bili kognitivno oštećeni pokazali veći stepen oštećenja kako BM, tako i SM, u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike i pored činjenice da je stepen neurološkog oštećenja bio sličan u obe grupe, što ukazuje da u nastanku kognitivnih oštećenja u MS učestvuju različiti patološki procesi i da je njihov nastanak, zapravo, multifaktorijalan da se svakako ne može reći da samo jedna vrsta procesa, bilo inflamatorna bilo degenerativna, ili sao fokalna ili samo difuzna doprinosi njihovom razvoju već je razvoj kognitivnih oštećenja verovatno posledica sinergističkog dejstva svih patoloških procesa koji se odvijaju u mozgu kod bolesnika sa MS.

Kognitivno oštećeni bolesnici su imali značajno veću ukupnu ZLT2 nego ono koji su bili kognitivno očuvani, što je u saglasnosti sa velikim brojem do sada sprovedenih studija kod bolesnika sa MS koje su većinom uključivale više različitih formi MS (Rao i sar., 1989b, Swirsky-Sacchetti i sar., 1992, Rovaris i sar 1998, 2000., Filippi i sar., 2000b, Bobholz i sar., 2006, Benedict i sar., 2006b, Amato i sar., 2008, Mesaroš i sar 2012, Rossi i sar., 2012, Preziosa i sar., 2017, Daams i sar., 2016). Međutim, istraživanja koja su sprovedena samo na populaciji bolesnika sa RRMS, koja je bila i tema ove disertacije su pokazala kontradiktorne rezultate kada je u pitanju ZLT2. Slično kao u našoj studiji, bolesnici sa kognitivnim oštećenjem su imali veću ZLT2 u nekoliko studija sa RRMS (Rossi i sar., 2012, Sacco i sar., 2015, Preziosa i sar., 2017), ali ima i suprotnih rezultata koji osporavaju značajnu ulogu ZLT2 u nastanku kognitivnih oštećenja u ovoj formi MS (Živadinov i sar., 2001, Rovaris i sar., 2002, Amato i sar., 2004, Lin i sar., 2007, Calabrese i sar., 2009c, Hulst i sar., 2013). Međutim, kada je reč o studiji Preziosa i sar. (2017) koja je prokazala značajno veću ZLT2 kod bolesnika sa „relapsnim početkom boleštom“, ova studija je uključila bolesnike i sa

RRMS i SPMS i BMS (trajanje bolesti više od 15 godina), što značajno utiče na rezultate procene uloge ZLT2 jer je poznato da bolesnici sa SPMS imaju i češća kognitivna oštećenja i veću ZLT2, dok bolesnici sa BMS imaju veliku dižinu trajanja bolesti što takođe može da doprinese većem volumenu lezija detektovanih u beloj masi. Diskrepance u značaju ZLT2 u nastanku kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS, ali i kad su pitanju kognitivna oštećenja u MS uopšte, mogu da se jednim delom protumače i različitim baterijama testova i kriterijuma na tim testovima koje su se koristile za procenu toga ko će se klasifikovati kao kognitivno očuvan a ko ne, kao i kulturološkim i edukativnim razlikama ispitanika, njihovim kliničkim karakteristikama ali i različitim metodološkim aspektima merenja promena na MR i različitim statističim pristupima u tumačenju rezultata. U svakom slučaju, rezultati ove studije ukazuju da zapremina lezija u beloj masi sigurno da doprinese nastanku kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS, podupirući već poznatu hipotezu o multilpom diskonekcioniom sindromu kao mehanizmu nastanka kognitivnih poremećaja u MS. Ova hipoteza se zasniva na pretpostavci da su kod bolesnika od MS multipli domeni kognitivnog funkcionisanja oštećeni (a ne samo jedan) i da tim oštećenjima doprinose multifokalne lezija bele mase mozga koje dovode do prekida u prenošenju signala u različitim važnim putevima i mrežama bele mase koje omogućavaju komunikaciju između kortikalnih regiona iste i suprotne hemisfere, a samim tim i u putevima koji omogućavaju adekvatno kognitivno funkcionisanje. Takođe ova hipoteza naglašava da lezije mogu da dovedu kako do oštećenja eferentnih tako i do oštećenja eferentnih neuronskih krugova koje učestvuju u specifičnim kognitivnim procesima (Calabrese i Penner, 2007).

Značajno veća ZLT1 kod kognitivno oštećenih bolesnika u ovoj studiji je u skladu sa malim brojem studija koji su se uopšte bavile značajem perzistentnih „crnih rupa“ u nastanku kognitivne disfunkcije u različitim formama MS (Filippi i sar., 2000b, Benedict i sar., 2006b, Amato i sar., 2008), dok se samo jedna od njih odnosila na ulogu ovog tipa oštećenja u nastanku kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS i pokazala slične rezultate kao što su naši (Rovaris i sar., 2000). Rezultat naše studije ukazuje da nije samo broj i zapremina lezija u beloj masi, već i stepen destrukcije unutar njih (gubitak askona i mijelina) značajan u razvoju kognitivnog deficita, pre svega prouzrokujući trajnija i teža oštećenja u prekidu, kako funkcionalnom, tako i u strukturalnom smislu u prenošenju signala u putevima koji su važni za kognitivno funkcionisanje. Ovaj rezultat je u korelaciji sa rezultatima nekoliko studija koje su pokazale da stepen unutrašnjeg oštećenja unutar lezija detektovanih na T2 sekvenci ima značaja za razvoj kognitivnih oštećenja ali u svim formama MS i u svim domenima

kognitivnog oštećenja i globalnom kognitivnom funkcionisanju (Mesaroš i sar., 2012). Osim toga, ovakav rezultat može da ukaže da su bolesnici sa kognitivnim oštećenjem skloniji formiranju tzv. „crnih rupa“ za koje se o nedavno smatra da mogu da budu i genetski determinisane (Sahraian i sar., 2010).

U ovoj studiji bolesnici sa kognitivnim oštećenjem nisu imali značajnu veću ZKL, kao ni broj detektovanih KL, kako mešovitih tako i čistih intrakortikalnih lezija, u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike. Ovo je u suprotnosti sa dosadašnjim studijama preseka koje su ispitivale ulogu KL u nastanku kognitivnih oštećenja i pokazale da bolesnici sa RRMS i kognitivnim oštećenjem imaju veći broj i zapreminu KL (Calabrese i sar. 2009c), ali i sa studijama koje su uključivale različite kliničke forme i kojoj su bolesnici sa kognitivnim oštećenjem imali veći stepen opterećenja KL (Daams i sar., 2016, Roosendaal i sar. 2009). Međutim, rezultati ove studije jesu u skladu sa rezultatima dve studije preseka koje su takođe pokazale da se kod bolesnika sa relapsnim početkom bolesti (Preziosa i sar., 2017), kao i kod bolesnika sa KIS (Diker i sar., 2016) volumen KL ne razlikuje između bolesnika sa i bez kognitivnog oštećenja. Dodatno, nije uočena razlika u broju KL koje su klasifikovane kao prave intrakortikalne lezije, kao ni u broju tzv mešovitih KL između dve grupe ispitanika, što je u suprotnosti sa nedavno objavljenim rezultatima studija koje su ukazale da bi kognitivna oštećenja u MS mogla da budu u korelaciji, pre svega sa brojem mešovitih KL, dok je korelacija sa pravim intrakortikalnim plakovima ali i subpialnim plakovima bila nešto slabija (Nelson i sar., 2011, Nielsen i sar., 2013). Iz tehničkih razloga, u ovoj studiji nije korišćen aparat MR jačine 7T, kao u studiji Nielsen i sar., (2013), koji bi omogućila ovako sofisticiranu analizu podvrsta KL (pre svega detekciju subpialnih plakova), ali i sa aparatom 3T je mogla da se napravi distinkcija između pravih intrakortikalnih i mešovitih KL koja se, međutim, nije pokazala kao determinišući faktor u nastanku kognitivnih disfunkcija kod RRMS.

Ova kontradiktornost sa prethodno urađenim studijama može biti objašnjena na dva načina. Prvo, standardizacija sekvence „DIR“ (engl. *double inversion recovery*) koja se koristi za detekciju KL, između različitih sajtova i vendora u koji su korišćeni u ovoj studiji može biti veoma tehnički zahtevna. U našoj studiji pojedini centri su ovu sekvencu snimali u 2D, dok su pojedini centri istu snimali u 3D, odnosno sa različitim geometrijskim parametrima. Ove razlike su doprinele razlikama u broju KL između različitih centara. Za razliku od DIR sekvencije, ostale standardne sekvence, kao što su DE (engl. *double echo*) i 3D T1 sekvence su snimljene standardnim protokolom, koji je bez bitnih razlika između



sajtova. Drugi razlog je to što je DIR sekvenca, izuzetno osetljiva na artefakte, više nego npr. T1 i T2 sekvence, što takođe može uticati na detekciju KL. Zbog toga su u našoj studiji korišćene preporuke za detekciju kortikalnih lezija donete od strane eksperata MAGNIMS grupe, koje se pre svega odnose na to da se poštuje preporučena veličina lezije kao i da se postojanje lezije na DIR sekvenci mora potvrditi na korespondentnom snimku 3DT1W sekvence (Geurts i sar. 2011), što je moglo da uzrokuje manju senzitivnost u detekciji KL, ali je povećalo sigurnost nalaza.

U celoj grupi bolesnika sa MS pokazana je, očekivano, atrofija kako celog mozga, tako i bele mase i sive mase (korteksa i svih struktura duboke bele mase) u odnosu na zdrave kontrole. Bolesnici koji su bili kognitivno oštećeni su imali značajno veći stepen atrofije svih navedenih struktura osim paliduma i amigdala. Izraženija atrofija mozga kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem je pokazana u nekoliko studija sa različitim formama MS (Daams i sar., 2016), kao i kod bolesnika sa „relapsnim početkom bolesti“ koje su uključivale i bolesnike sa RRMS, SPMS i/ili BMS (Filippi i sar., 2000b, Benedict i sar., 2006b, Amato et al., 2008, Hulst i sar., 2013, Preziosa i sar., 2017), ali kada je u pitanju samo RRMS postoji veoma mali broj studija koje su ispitivale razlike u zapremini mozga kod bolesnika sa i bez kognitivnog oštećenja i dale kontradiktorne rezultate. Zapravo, samo nekoliko studija (Živadinov i sar., 2001, Calabrese i sar., 2009c) je pokazalo da bolesnici sa RRMS i kognitivnim oštećenjem imaju manju ukupnu zapreminu mozga u odnosu na one koji su kognitivno očuvani, što nije pokazano i u studiji Amato i sar. (2004) ali ni u studiji Hulst i sar. (2012) koja je uključivala različite forme MS.

U našoj studiji je pokazano da bolesnici koji su kognitivno oštećeni imaju izraženiju atrofiju i sive i bele mase mozga u odnosu na kognitivni očuvane, što ukazuje da oba kompartmenta mozga imaju ulogu u nastanku kognitivnih disfunkcija. Mali broj studija koji je ispitivao razlike u atrofiji i bele i sive mase kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem u MS je dao kontradiktorne rezultate. Slično našim rezultatima, dve studije su pokazale da bolesnici sa kognitivnim oštećenjima pokazuju značajnu atrofiju kako bele tako i sive mase (Hulst i sar., 2013; Daams i sar., 2016) u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike. Oba ove studije su imale multiparametaraski pristup kao i naša studija i koristile istu metodu merenja atrofije mozga i segmentacije sive i bele mase koja je korišćena i u našem istraživanju (SIENAx). Međutim populacija ispitanika se razlikuje jer je u studiji Hulst i sar. (2013) bili uključeni bolesnici sa RRMS i SPMS, a u studiji Daams i sar. (2016) bolesnici sa svim kliničkim formama MS čija je dužina trajanja bolesti bila daleko veća nego u našem istraživanju

(uključujući kriterijum je bila dužina trajanja bolesti od najmanje 10 godina). Takođe se razlikuje i baterija testova koja je korišćena za procenu neuropsiholoških funkcija između naše i druge dve studije. Suprotno prethodno navedenom, rezultati jedne studije su pokazali između kognitivno očuvanih i oštećenih bolesnika nema razlike u zapremini ni sive ni bele mase mozga u grupi bolesnika sa različitim formama MS (Hulst i sar., 2012).

Za razliku od rezultata naše studije, u studiji koja uključivala bolesnike sa „relapsnim početkom bolesti“ (RRMS, SPMS, BMS), pokazano je da se volumen bele mase nije razlikovao između kognitivno oštećenih i očuvanih bolesnika (Preziosa i sar., 2017). Razlika u rezultatima u odnosu na ovu studiju se ne može objasniti različitim metodološkim pristupom jer je i ova studija koristile isti metod za merenje zapremine mozga (SIENAx), ali i istu bateriju testova kao našoj studiji, međutim populacija bolesnika je obuhvatala i SPMS i BMS, za razliku od naše studije koja je uključila samo RRMS. Suprotno tome, u studiji sa RRMS, Sacco i sar. (2015) su pokazali da su kognitivno oštećeni bolesnici imalu izraženiju atrofiju samo bele, ali ne i sive mase, a koristili su isti metod merenja atrofije i modifikovanu Raovu bateriju za procenu kognitivnih oštećenja. Moguće objašnjenje za razliku u odnosu na ovu poslednju studiju može da leži u različitim demografskim karakteristikama bolesnika koji su bili uključenu u studiju (u našoj studiji je dužina trajanja bolesti bila kraća), ali najverovatnije da odgovor leži i u različitoj moždanoj rezervi koja je genetski determinisana.

Nekoliko studija je bilo fokusirano samo na istraživanje značaja atrofije sive mase kod bolesnika sa MS i kognitivnim oštećenjem i pokazalo, slično našim rezultatima, značajnu atrofiju neokorteksa kod bolesnika sa RRMS i kognitivnim oštećenjem (Amato i sar., 2004, Calabrese i sar., 2009c), kao i kod bolesnika sa benignom MS i kognitivnim oštećenjem (Amato i sar., 2008). Sa druge strane, na istoj populaciji bolesnika koja je obuhvaćena u ovoj disertaciji, iznenađujuće, nije pokazano da je volumen neokorteksa značajno manji kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem ali upotrebom softvera FreeSurfer (Tillema i sar., 2016). Naime, kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem, detektovana je atrofija neokorteksa samo u temporalnim regionima korteksa i to veoma suptilna, dok je u našoj studiji merenje neokorteksa zapravo dobijeno softverom SIENAx iz koje je izdvojena NZKSM. Očigledno je da različit metodološki pristup merenju zapremine korteksa sive mase nosi i različite rezultate, što ukazuje da treba sa predostrožnošću prihvatati rezultate dobijene različiti postupkom postprocessinga.

Rezultati naše studije koja ukazuje na značaj oštećenja bele mase mozga kod bolesnika od MS u nastanku kognitivnih disfunkcija su u skladu sa nekoliko studija koje su selektivno trasirale važne puteve bele mase za koje se pretpostavlja da učesvuju u kognitivnim funkcijama i pokazale da postoji značajno oštećenje ovih puteva unutar bele mase kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem u MS (Dineen i sar., 2009, Mesaroš i sar., 2009, 2012, Hulst i sar., 2013, Welton i sar., 2015). U prilog tome govore i rezultati studija funkcionalne MR koje su pokazale oštećenje funkcionalne konektivnosti kako i miru tako i prilikom vršenja određenih kognitivnih zadataka kod bolesnika sa MS i kognitivnim oštećenjem (Bonavita i sar., 2011, Rocca i sar., 2010, Sumowski i sar., 2013). Sve ove studije, kao i naša ukazuju da u nastanku kognitivnih oštećenja u MS bela masa mozga ima veliki značaj, pre svega s obzirom na činjenicu da je sastavljena od strateški važnih puteva koji učestvuju u kognitivnom funkcionisanju, a koja učestvuju u povezivanju različitih kortikalnih i kortiko-subkortikalnih regiona čime se omogućava normalan proces kognicije. Međutim, kako rezultati ove studije ukazuju i na važnost atrofije sive mase mozga, najverovatnije je da oštećenja obe strukture mozga doprinose razvoju kognitivnih oštećenja u MS sinergistički ili nezavisno. U prilog značaja oštećenja obe strukture mozga u nastanku kognitivnih oštećenja govore i rezultate starije studije koja koja je pokazala da atrofija i bele mase i sive mase zajedno značajno doprinose nastanku kognitivnih oštećenja u MS, doduše u različitim domenima funkcionisanja (Sanfilipo i sar., 2006).

Ovo istraživanje je pružilo i sveobuhvatnu analizu struktura subkortikalne SM (talamusa, kaudatusa, putamena, paliduma, hipokampusa, amigdale i akumbensa) sa idejom da se ispita uloga njihove atrofije u nastanku kognitivnih oštećenja u MS. Korišćen je softver FSL FIRST (Patenaude i sar., 2011) koji preračunava zapreminu svake od navedenih struktura pojedinačno nakon prethodne manuelne segmentacije na dostupnim 3D snimcima. Rezultati našeg istraživanja ukazuju da se sve ove strukture pokazuju značajnu atrofiju u poređenju sa zdravim ispitanicima što je u skladu sa rezultatima nekoliko studija koje su korišćenjem istog softvera kao i u ovoj studiji pokazali iste rezultate. Prva studija se odnosi na bolesnike sa RRMS u kojoj je pokazano da postoji atrofija svih navedenih struktura u odnosu na zdrave ispitanike, ali i da se atrofija ovih struktura razlikuje među polovima, odnosno da je izraženija kod pacijenata muškog pola (Schoonheim i sar., 2012), dok su druge dve studije uključivale mešovitu populaciju bolesnika sa MS (Batista i sar., 2012, Daams i sar., 2016). Međutim, atrofija subkortikalnih struktura sive mase u MS je odavno pokazana u velikom broju studija koje su koristile metodu „morfometriju baziranu na vokselima“,

(Mesaroš i sar., 2009, Mesaroš, 2009, Henry i sar., 2009, Audion i sar., 2006, Sepulcre i sar., 2006, Riccitelli i sar. 2011, Lansley i sar., 2013), a dokazano je da se javlja čak i u najranijim stadijumima bolesti kao što su KIS (Audoin i sar., 2010, Diker i sar., 2016) i pedijatrijska MS (Mesaroš i sar., 2008b).

Razvoju atrofije subkortikalnih struktura SM svakako doprinose demijelinizacione lezije koje se detektuju u ovim strukturama, o čemu najbolje svedoče histopatološke studije koje su pokazale prisustvo plakova u svim strukturama duboke SM (Vercellino i sar., 2009), naročito u nc. caudatusu i hipotalamusu, ali i u drugim strukturama duboke SM (talamusu, globus pallidus, putamenu) u manjoj meri (Heider i sar., 2014), ali i studije sa MR koje mogu, mnogo ređe, ali ipak mogu da detektuje HIZ promene u ovim strukturama. To direktno oštećenje od strane zapaljenjskog procesa je veoma moguće s obzirom da su talamus i bazalne ganglije bogate mijelinom (Lumsden 1970) i mogu biti meta autoimunskog procesa. Tako je kod bolesnika sa pedijatrijskom MS pokazano da se detektuju vidljivi plakovi na konvencionalnoj MR mozga kod čak 32% bolesnika (Mesaroš i sar., 2008b). Sa druge strane, u nekoliko studija je pokazano da stepen atrofije subkortikalnih struktura SM, pokazuje snažnu korelaciju sa ukupnom ZLT2 u mozgu što ukazuje da je uloga plakova u beloj masi izuzetno značajna za razvoj atrofije struktura SM koje su lokalizovane periventrikularno, kao što su talamus i bazalne ganglije (Wyelizinska i sar., 2003, Audion i sar., 2006, Sepulcre i sar., 2006, Mesaros i sar., 2008a, Mesaroš 2009), i istovremeno ukazuje na nekoliko mehanizama koji dovode do atrofije talamusa i bazalnih ganglija u MS: retrogradna neuroaksonalna degeneracija i anterogradna degeneracija aksona koja počinje na mestu aksonalne transekcije u plakovima. Naime, talamus i bazalne ganglije imaju periventrikularnu lokalizaciju, zatim poseduju ekstenzivne aferentne i eferentne veze sa korteksom (Alexander i Crutcher 1990), koji prolaze kroz periventrikularnu BM pa mogu biti direktno oštećeni lezijama u BM. Međutim, u studiji sa dečijom MS (Mesaros i sar., 2008a), gde je pokazana atrofija talamusa u odnosu na ZI, kao i da je učestalost detekcije plakova u talamusu u ovoj populaciji bolesnika neočekivano velika, čak kod 32% bolesnika, nije uočeno da su bolesnici koji su imali lezije u talamusu imali i veći stepen atrofije talamusa, što govori o većem značaju drugih gore navedenih mehanizama u atrofiji talamusa nego što je to direktno oštećenje demijelinizirajućim procesom. Taj drugi segment oštećenja u subkortikalnim strukturama se pripisuje neurodegenerativnom procesom koji se odvija nezavisno od zapaljenjskog i koji je takođe dokazana histopatološkim studijama, a najverovatnije se ogleda

u dejstvu oksidativnog stresa i depozicija gvožđa koji vodi ka apoptozi neurona, oligodendrocita, gubitku sinapsi, i prekidu aksona (Heider i sar., 2014).

Međutim, kakva je uloga atrofije ovih struktura u nastanku kognitivnih oštećenja nije do sada bilo mnogo poznato niti je ispitivano na ovakav način. U našoj studiji bolesnici sa kognitivnim oštećenjem su imali izraženiju atrofiju svih subkortikalnih struktura SM osim paliduma i amigdala, za koje je razlika bila na ivici statističke značajnosti. U studiji Daams i sar. (2016) koja je koristila isti softver kao i u našoj studiji, su sve navedene strukture pokazale izraženiju atrofiju kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem u odnosu na kognitivno očuvane bolesnike, sa tim, što opet treba napomenuti, da je ta studija uključivala bolesnike za različitim kliničkim formama MS i sa velikom dužinom trajanja bolesti. Sa druge strane, na populaciji bolesnika koji su bili uključenu u ovu disertaciju (RRMS), drugačijom metodom procene atrofije sive mase, odnosno korišćenje metode bazirane na vokselima, je pokazano da bolesnici sa kognitivnim oštećenjem imaju izraženiju atrofiju samo levog talamusa i desnog hipokampusa, uz parijetalne kortikalne regione (Preziosa i sar., 2016). U drugoj studiji koja je ispitala atrofiju sive mase kod bolesnika sa različitim formama MS, metodom analize vokselu, je pokazano da se kod bolesnika sa RRMS, osim izraženije atrofije nekoliko kortikalnih regiona, kod bolesnika sa kognitivnim oštećenjem detektuje izraženija atrofija talamusa, ali ne i drugih subkortikalnih struktura SM, dok je kod bolesnika sa SPMS koji su bili kognitivno oštećeni detektovana izraženija atrofija hipokampusa pored nekoliko kortikalnih regiona (Riccitelli i sar. 2011). U prethodno navedenoj studiji nije uočena razlika u atrofiji subkortikalnih struktura SM kod bolesnika sa PPMS sa i bez kognitivnih oštećenja. Očigledno je da različiti metodološki pristupi („region od interesa“ vs. „a priori“ pristup) daju različite informacije o oštećenju struktura mozga što treba imati u vidu prilikom tumačenja rezultata. Naš pristup u analizi atrofije subkortikalnih struktura je bio „region od interesa“, upotrebom softvera koji se smatra metodom izbora kada je u pitanju analiza zapremine subkortikalnih struktura SM (Patenaude i sar., 2011).

U skladu sa rezultatima naše studije, atrofija hipokampusa u MS je pokazana u velikom broju studija, koristeći različite segmentacione metode. Merenje hipokampusa u celini je pokazalo atrofiju desnog hipokampusa u grupi bolesnika koju su uglavnom činili bolesnici sa RRMS (Roosendaal i sar., 2010), zatim levog hipokampusa u studiji sa heterogenom grupom bolesnika od MS (Ramasamy i sar., 2009), dok je u studiji Anderson i sar. (2010) registrovana bilateralna atrofija hipokampusa koja je bila prisutna u istoj meri kod bolesnika sa RRMS i PPMS. Osim toga, atrofija hipokampusa je pokazana i kod bolesnika sa

progresivnom formom bolesti (Papadopoulos i sar., 2009). Među prvim studijama koje su detaljno merile zapreminu pojedinih delova hipokampusa pokazana je atrofija u CA1 regionu ove strukture kod bolesnika sa RRMS, dok je kod bolesnika sa SPMS atrofija hipokampusa bila rasprostranjenija i zahvatala šire područje hipokampusa (Sicotte i sar., 2008). U drugoj studiji sa detaljnom analizom segmenata hipokampusa u heterogenoj populaciji bolesnika od MS (koja je uključivala sve kliničke forme MS) pokazana je atrofiju CA1 regiona i subikuluma bilateralno, kao i desnog dentatnog girusa (Longoni i sar., 2015), ukazujući da nisu svi delovi hipokampusa podjednako osetljivi na patološki proces u MS. Kod bolesnika sa KIS, rezultati su kontradiktorni, u jednoj studiji nije detektovana atrofija hipokampusa u poređenju sa zdravim ispitanicima, za razliku od ostalih struktura subkortikalne SM čija je atrofija bila značajna (Diker i sar., 2016), dok je u drugoj studiji sa KIS pokazana značajna atrofija hipokampusa u odnosu na zdrave ispitanike (Audoin i sar., 2010). Razlozi za razvoj atrofije hipokampusa u MS, pre svega leže u činjenici da ova struktura pokazuje ekstenzivnu demijelinizaciju u MS, naročito u CA1 regionu (Geurts i sar., 2007), ali je dokazano da demijelinizacija u značajnoj meri zahvata i ostale regione hipokampusa (Papadopoulos i sar., 2009, Vercellino i sar., 2009), ali i znake neurodegeneracije nezavisno od demijelinizacionih lezija u vidu poremećaja aksonalnog transporta, poremećaja sinaptičke plastičnosti, glutamatne homeostaze i preživljavanja neurona (Dutta i sar., 2011).

Za razliku od naše studije, dve studije nisu pokazale razlike u zapremini hipokampusa između kognitivno oštećenih i očuvanih bolesnika sa RRMS (Sacco i sar., 2015), i sa različitim kliničkim formama MS (Hulst i sar., 2012). Međutim, poređenje sa rezultatima Sacco i sar. (2015) je otežana pre svega zbog upotrebe drugačije metode segmentacije hipokampusa, dok je poređenje sa drugom studijom otežano, ne samo različitim metodološki pristupom u merenju zapremine hipokampusa, već i populacijom bolesnika koja je bila uključena u studiji ali i primenjenim baterijama testova koji su korišćeni za detekciju kognitivnog oštećenja. U prilog tačnosti rezultata naše studije govori i studija koja je ispitivala atrofiju SM upotrebom metode bazirane na vokselim, na istoj populaciji ispitanika koja je uključena u ovu disertaciju i pokazala da kognitivno oštećeni bolesnici imaju značajniju atrofiju desnog hipokampusa i da je ta atrofija bila među najznačajnijim prediktivnim faktorima u diskriminaciji ko će biti kognitivno oštećen a ko ne (Preziosa i sar., 2016).

O mogućoj ulozi hipokampusa u kognitivnim procesima u MS govore i rezultati studije González Torre i sar., (2017) koji su pokazali da bolesnici sa MS koji imaju oštećenje

epizodične memorije, pokazuju redukovani volumen u nekoliko regiona hipokampusa, a što je interesantnije oni bolesnici koji nisu imali ove smetnje su pokazali povećanu konektivnost u nekoliko puteva koje povezuju hipokampus sa kortikalnim regionima, ukazujući da se promene u konektivnosti ovih krugova dešavaju i pre nastanka klinički manifestnog poremećaja. Dodatno, u drugoj studiji kod bolesnika sa RRMS je pokazana značajna atrofija hipokampusa, talamusa i putamena koja je bila povezana sa poremećajima deketovanim u funkcijama brzine obrade informacija ali i sa suptilnim prekidima u neuronskim mrežama koje učestvuju u kognitivnim procesima (Debernard i sar., 2015). Suprotno tome, postoje i rezultati koji ukazuju da se kod bolesnika od MS registruje povećan volumen hipokampusa i da taj volumen pokazuje korelaciju sa ukupnom ZLT2 i boljim postignućima na neuropsihološkim testovima kod bolesnika sa RRMS a pokazuje i korelaciju sa lošijim postignućima na neuropsihološkim testovima kod bolesnika sa SPMS i benignom MS (Rocca i sar., 2015b). Autori su zaključili da povećan volumen hipokampusa može da predstavlja kompenzatorni proces za održavanje funkcionalne kompetentnosti hipokampalnih krugova.

### **5.3. Korelacija neuropsiholoških postignuća sa merama strukturalnog oštećenja mozga na MR**

Globalan Z skor neuropsihološkog postignuća na testovima koji su ispitivali kognitivno oštećenje u našoj studiji je pokazao korelaciju sa svim ispitivanim parametrima kako fokalnog (ZLT2, ZLT1), tako i globalnog oštećenja mozga (NZM, NZSM, NZBM i NZKSM), a naročito sa zapreminom svih pojedinačnih struktura subkortikalne sive mase (talamusa, kaudatus, putamen, palidum, hipokampusa, amigdala i akumbens) ( $p < 0.03$  do  $p < 0.001$ ). Sličan rezultat je dobijen kada je u pitanju ispitivanje funkcije pažnje. Skorovi vizuelne memorije su pokazali korelaciju sa ZLT2, ZLT1, NZM, NZBM, ukupnim volumenom svih subkortikalnih SM, kao i zapreminom talamusa i putamena. Egzekutivne funkcije su pokazale korelaciju samo sa ZLT2, ZLT1. Nije utvrđena korelacija za ostale ispitivane kognitivne domene sa MR parametrima.

Ovi rezultati ukazuju, još jednom, da svi postojeći patološki procesi koji se mogu kvantifikovati MR su relevantni za nastanak globalnog kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS. Poređenje sa rezultatima iz literature je otežano jer su dosadašnja istraživanja korelirala uglavnom pojedinačne kognitivne domene sa određenim strukturnim oštećenjima

na MR, odnosno mali broj studija je ispitivao ovaliki broja parametara strukturnog oštećenja mozga kod bolesnika sa MS u korelaciji sa ukupnim skorom kognitivnog oštećenja.

Rezultati ove studije ukazuju na značaj ukupne ZLT2 za nastanak kako globalnog kognitivnog oštećenja, tako i oštećenja funkcije pažnje, vizuelne memorije i egzekutivnih disfunkcija. O značaju fokalnih promena u belojoj masi u nastanku kognitivnih oštećenja govore brojne studije u kojima je pokazana da ukupna ZLT2 predstavlja značajan prediktor postignuća na testovima kratkoročnog pamćenja, apstraktnog i konceptualnog rezonovanja, jezičkih funkcija i vizuospacijalne orijentacije (Rao i sar., 1989b), kao i da pokazuje korelaciju sa testovima brzine obrade vizuelnih informacija, pamćenja i testova verbalne fluentnosti (Papadopoulou i sar., 2013, Rovaris i sar., 2002), PASAT testom (Mesaroš i sar., 2009, Papadopoulou i sar., 2013), ali i drugim testovima (Camp i sar., 2005, Ukkonen i sar., 2009). Sa druge strane, Tiemann i sar. (2009) su pokazali korelaciju zapremine periventrikularnih lezija sa brzinom obrade informacija dok je ukupna ZLT2 pokazala korelaciju sa 7 kognitivnih domena kod bolesnika sa RRMS. Slično rezultatima naše studije, kod bolesnika sa RRMS je pokazana korelaciju ZLT2 sa postignućima na testovima pažnje, verbalne memorije i egzekutivnih funkcija (Sacco i sar., 2015), ali i sa ukupnim kognitivnim skorom oštećenja, brzinom obrade vizuelnih informacija kao i testovima verbalnog i vizuelnog pamćenja (Calabrese i sar., 2009c). Osim toga, u skorašnjoj studiji je pokazano da ukupna ZLT2 može biti značajan prediktor kognitivnog oštećenja u velikoj populaciji bolesnika sa „relapsnim početkom“ MS (Preziosa i sar., 2017).

Suprotno tome, u longitudinalnim studijama ukupna ZLT2 i promena ove zapremine je pokazala da ne utiče na razvoj kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS (Amato i sar., 2010). Međutim sasvim suprotno je pokazano kod bolesnika sa PPMS, odnosno u ovoj grupi bolesnika se ukupna ZLT2 pokazala kao najbolji prediktor prisustva kognitivnog oštećenja nakon 5 godina praćenja (Penny i sar., 2010). U retkim longitudinalnim studijama koje su pratile moguće MR biomarkere kognitivnih oštećenja u MS, pokazano je da ukupna ZLT2 na početku praćenja korelirala sa postignućima na testovima za neverbalnu memoriju, brzinu obrade informacija i pažnju, a da je tokom godinu dana porast volumena ovih lezija korelirao sa promenama u brzini obrade informacija, kao i sa promenama u funkciji pažnje u heterogenoj grupi bolesnika sa MS (Hohol i sar., 1997). U drugoj longitudinalnoj studiji koja je pratila MR biomarkere je pokazana značajna korelacija između zapremine promena u frontalnom i parijetalnom režnju i postignuća na testovima održavanja pažnje, brzine obrade informacija i verbalne memorije, kako na početku praćenja, tako i nakon 1. i 4. godine praćenja, takođe heterogene grupe bolesnika od MS (Sperling i sar., 2001).



U manjini su studije u kojim nije registrovana korelacija između ZLT2 i rezultata na neuropsihološkim testovima (Benedict i sar., 2004a, Živadinov i sar., 2001, Amato i sar., 2004)

Rezultati ove studije ukazuju na značaj ukupne ZLT1 za nastanak kako globalnog kognitivnog oštećenja, tako i oštećenja funkcije pažnje, vizuelne memorije i egzekutivnih disfunkcija. O značaju hroničnih hipointenznih lezija, tzv. “crnih rupa” na T1 sekvenci (ZLT1) u nastanku kognitivnih oštećenja u MS govore malobrojne studije preseka u kojima je pokazano da ukupna ZLT1 korelira sa ukupnim indeksom kognitivnih oštećenja kod PPMS (Camp i sar., 1999), a da kod RRMS korelira sa potignućima na testovima brzine obrade vizuelnih informacija, pamćenja i testova verbalne fluentnosti (Rovaris i sar., 2002), ali i drugim testovima (Ukkonen i sar., 2009). Zanimljivo je da je pokazano kod bolesnika sa KIS, ukupna zapremina ZLT1 promena ima prediktivni značaj za razvoj oštećenja egzekutivnih funkcija nakon 7 godina praćenja ovih bolesnika (Summers i sar., 2008a). Sličan rezultat o značaju ukupne zapremine ZLT1 promena na početku praćenja je pokazan i kod bolesnika sa RRMS gde je ovaj parametar MR pokazao prediktivni značaj za razvoj poremećaja pažnje nakon 5 godina praćenja (Summers i sar., 2008b). Interesantno je da je napomenuti da je i kod bolesnika sa RIS pokazana korelacija između zapremine hipointenznih T1 lezija i atrofije korteksa sa lošim postignućima na neuropsihološkim (NPS) testovima (Amato i sar., 2012). S obzirom da hronične hipointenzne promene na T1 sekvenci predstavljaju promene u beloj masi sa težim stepenom destrukcije matriksa u odnosu na HIZ lezije na T2 sekvenci, moguće je da one time doprinose razvoju kognitivnih oštećenja.

U ovoj studiji nije pokazana razlika u broju i ZKL između bolesnika sa i bez kognitivnog oštećenja, a takođe nije pokazana korelacija na neuropsihološkim testovima sa ZKL ukazujući da oba vrsta patologije nema značaja u nastanku kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS. Ovi rezultati su u suprotnosti sa rezultatima studije Calabrese i sar. (2009c) u kojoj je pokazano, da kod bolesnika sa RRMS broj i zapremina KL pokazuje korelaciju sa ukupnim kognitivnim skorom, ali i sa testovima pamćenja, pažnje i brzine obrade informacija i verbalne fluentnosti. U multivarijantnoj analizi u toj studiji, volumen KL lezija se pokazao kao snažan nezavisni prediktivni faktor u nastanku kognitivnih oštećenja kod bolesnika sa RRMS. Sa druge strane su i rezultati studije Daams i sar. (2015) koji su pokazali korelaciju volumena kortikalnih lezija sa ukupnim kognitivnim skorom kod bolesnika sa MS i velikom dužinom trajanja bolesti. Međutim, naši rezultati ne potvrđuju prethodno navedene.

Globalan Z skor neuropsihološkog postignuća i testovi pažnje u ovoj studiji su pokazali korelaciju sa svim ispitivanim parametrima globalnog oštećenja mozga (NZM, NZSM, NZBM i NZKSM), dok su skorovi vizuelne memorije pokazali korelaciju NZM i NZBM. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima mnogih studija koje su pokazale korelaciju između postignuća na NPS testovima sa zapreminom mozga u celini, zatim korteksa i bele mase (Amato i sar., 2004, 2007, Christodoulou i sar 2003, Daams i sar., 2015, Morgen i sar., 2006; Calabrese i sar., 2007, 2009c, Riccitelli i sar., 2011, Batista i sar., 2012, Tillema i sar. 2016).

Posebno se izdvajaju rezultati korelacije globalan Z skora i funkcije pažnje sa atrofijom subkortikalnih struktura SM u celini kao i sa svakom od ispitivanih struktura pojedinačno što ukazuju na veliki značaj integriteta ovih struktura u kognitivnom funkcionisanju u MS. Slični rezultati se mogu videti i u studiji Daams i sar. (2015) gde je pokazano, takođe, da zapremina svih ovih struktura pokazuje korelaciju sa globalnim kognitivnim oštećenjem u grupi bolesnika sa MS i velikom dužinom trajanja bolesti. U skladu sa tim su i rezultati nekoliko studija koje su pokazale značajnu ulogu talamusa u kognitivnim ispadima u MS. Naime, kod bolesnika sa RRMS je pokazano da atrofija talamusa (ali ne i ostalih struktura subkortikalne SM) ima značajnu prediktivnu ulogu u nastanku globalnog kognitivnog oštećenja (Schoonheim i sar., 2012), kao i da stepen oštećenja talamusa (atrofija i difuziona oštećenja) korelira sa težinom kognitivnog oštećenja u heterogenoj populaciji bolesnika sa MS (Schoonheim i sar., 2015). Sa druge strane, kod bolesnika sa RRMS je pokazano atrofija talamusa i putamena značajno koreliraju sa postignućima na testovima brzine obrade informacija, odnosno da je atrofija talamusa predstavljala značajan prediktivni faktor u nastanku poremećaja pažnje i brzine obrade informacija (Bisecco i sar., 2017), što je pokazano i u grupi bolesnika sa RRMS i SPMS (Batista i sar., 2012). Do sada je, u još nekoliko studija pokazano da oštećenje talamusa ima značaj u održavanju funkcije pažnje i brzine obrade informacija u MS (Houtchens et al. i sar., 2007; Minagar i sar., 2013; Bergsland i sar., 2016; Benedict i sar., 2013), a pokazano je i da oštećenje putamena i talamusa koreliraju sa deficitima i na testovima pamćenja (Cavallari i sar., 2014). Dodatno, u populaciji bolesnika sa pedijatrijskom MS je pokazano da volumen talamusa ima značajnu prediktivnu ulogu u kada je u pitanju globalni IQ ali i brzina obrada informacija (Till i sar., 2011).

Poznato je da talamus ima značajnu funkciju u kanalisanju informacija koje dolaze do korteksa i značajno je povezan sa kortikalnom aktivnosti. Osim toga, njegova unikatna struktura koja se sastoji iz velikog broja subjedinica mu omogućava komunikaciju sa drugim

subkortikalnim strukturama. Neuroanatomski, kao “relejni organ,” talamus je uključen i široki spektar neuroloških funkcija uključujući i motorne, senzorne, integrativne i više kortikalne funkcije. Osim toga, talamus ima ulogu i u drugim funkcijama kao što su regulacija spavanja i buđenja, pamćenja, emocija, stanja svesti i pažnje i egzekutivnih funkcija. Njegova lokacija, unikatna funkcija i posebna vulnerabilnost na MS patologiju ga svrstava u kritične barometre difuznih patoloških procesa u MS. Aksoni talamusa prenose informacije između brojnih subkortikalnih struktura i specifičnih kortikalnih regija što ukazuje da njegovo oštećenje može da dovede do širokog spektra neuroloških disfunkcija u među koje spada i brzina mentalnog procesiranja, što sve objašnjava značajnu ulogu oštećenja talamusa u nastanku kognitivnih oštećenja u MS (Minagar i sar., 2013).

Kada je u pitanju korelacija oštećenja hipokampusa sa kognitivnim disfunkcijama u MS, pokazano je da globalna atrofija hipokampusa korelira poremećajem funkcija pamćenja kod bolesnika sa RRMS i SPMS (Sicotte i sar., 2006, Kiy i sar., 2011), verbalne memorije (Sacco i sar., 2015), kao i da atrofija CA1 regiona hipokampusa i subiculum korelira sa postignućima na testovima pamćenja i vizuoprostornog učenja kod bolesnika sa različitim formama MS (Longoni i sar., 2015). Međutim ima i suprotnih mišljenja, odnosno rezultata studije koji nisu pokazali korelaciju između atrofije hipokampusa i postignuća na NPS testovima (Anderson i sar., 2010). Osim toga je pokazano da difuzioni parametri registrovani u hipokampusu pokazuju korelaciju sa poremećajima epizodičnog pamćenja, a takođe da mogu da imaju značajnu diskriminatornu ulogu u predviđanju koji će bolesnici sa KIS imati kognitivni ispad a koji ne (Planche i sar., 2016). U skladu sa rezultatima ove disertacije koja je pokazala da atrofija hipokampusa ima značajnu ulogu u globalnom kognitivnom oštećenju kod bolesnika sa RRMS su i rezultati studije Daams i sar. (2015) koja je došla do istih saznanja. Pored toga, u našoj studiji atrofija hipokampusa je uticala i na postignuća na skorovima pažnje.

U modelu multivarijantne analize od svih ispitivanih parametara, pokazano je da se prosečni hipokampalni volumen (objašnjava varijansu=15%,  $p=0,0002$ ) pokazao kao najbolji prediktor globalnog kognitivnog Z skora, dok je ukupni normalizovani volumen subkortikalne SM (objašnjava varijansu=19%,  $p<0,001$ ) isakazao kao najbolji predskazivač Z skora pažnje, dok je NZM (objašnjena varijansa=10%,  $p=0,006$ ) bila najbolji predskazivač Z skora vizuelnog pamćenja. Ovi rezultati značajno potenciraju ulogu oštećenja struktura hipokampusa i subkortikalnih struktura SM mozga u nastanku kognitivnih oštećenja u RRMS, a pokazuju i veliki značaj merenja atrofije mozga kao prediktora u razvoju poremećaja pamćenja.

Ovi rezultati su diskrepanci sa nedavnom studijom koja je pokazala da strukture mezijalnog temporalnog lobusa (hipokampus i amigdala) predstavljaju najbolji prediktor oštećenja memorije, kako kod rane, tako i kod RRMS sa dužim trajanjem bolesti, dok strukture duboke bele mase (posebno talamus) imaju značajnu ulogu u predikciji oštećenja pamćenja kod bolesnika sa progresivnim formama MS (Sumowski i sar., 2017). Zanimljiv je i nalaz studije koja je pokazala da atrofija amigdala ima značajnu ulogu u predikciji socijalne kognicije kod bolesnika sa MS (Batista i sar., 2016).

Prema rezulttima naše studije, očigledno je da kod bolesnika sa RRMS postoji uloga različitih komponenti subkortikalne SM u nastanku kognitivnih oštećenja što se može objasniti činjenicom da talamus, hipokampus i strukture strijatuma predstavljaju važne raskrsnice brojnih kortikalnih puteva, limbičkih puteva, puteva moždanog stabla i cerebelarnih puteva, te zato imaju jednu od najvažnijih uloga u efikasnom procesiranju informacija koje je neophodno za funcionisanje i ostalih kognitivnih domena (Leyden i Kleinig 2008). Osim toga, funkcija hipokampusa je vezana za dugotrajnu deklarativnu memoriju, vizuospacijalne integracije mada postoje i podaci koji ukazuju da može da ima ulogu i u procesima radne memorije (Poch i Campo 2012).

Na kraju naša studija ukazuje da volumen hipokampusa i subkortikalnih struktura SM, može u budućnosti postati biomarker kognitivnog oštećenja kod bolesnika obolelih od MS i da se eventualno može koristiti u multicentričnim studijama različitih terapijskih solucija. Treba dodati još, da je ova studija bila jedna od prvih multicentričnih studija, koja je korelirala brojne parametre MR lezija i volumetrijske MR parametre sa kognitivnim oštećenjem, kod pacijenata obolelih od MS i koja je pokazala da je ova vrsta istraživanja moguća što daje nadu da će u budućim multicentričnim studijama ispitivanje markera kognitivnog oštećenja u MS, pre svega struktura subkortikalne SM i hipokampusa, biti značajno unapređeno kako u istraživačke, tako i eventualno i u terapijske svrhe. Dodatni razlog za to su i rezultati studija koje pokazuju da merenje oštećenja subkortikalnih struktura tokom longitudinalnog praćenja, pokazuje da ove strukture imaju značajnu prediktivnu moć za nastanak kognitivnih oštećenja što znači da se mogu koristiti kao pouzdan biomarker kada se razmatraju kognitivni poremećaji u MS (Uddin i sar., 2016, Amato i sar., 2007).

## 6. ZAKLJUČCI

1. Sprovedena studija predstavlja jednu od retkih multiparametarskih studija koje je vršila sveobuhvatnu analizu svih segmeneta oštećenja tkiva u mozgu bolesnika sa RRMS a u cilju ispitivanju mehanizama koji bi mogli biti odgovorni za nastanak kognitivnih oštećenja u ovoj formi MS. Uključeni su parametri koji kvantifikuju stepen multifokalnog oštećenja bele mase (ZLT2, ZLT1) i sive mase (KL), zatim ukupna zapremina mozga, sive i bele mase, a posebno je eksplorisana volumen dubokih subkortikalnih struktura sive mase.
2. U ovom istraživanju je kognitivno oštećenje detektovano kod 37% bolesnika sa RRMS a obrazac kognitivnih disfunkcija pokazuje da su domeni koji su najčešće bili oštećeni: pažnja i brzina obrade informacija, zatim verbalno pamćenje, potom egzekutivne funkcije, prostorno pamćenje i na kraju verbalna fluentnost, što predstavlja uobičajeni profil kognitivnih oštećenja kod bolesnika od MS
3. Bolesnici koji su bili kognitivno oštećeni su pokazali veći stepen zapremine fokalnih promena u BM, dok se zapremina KL nije razlikovala između ove dve grupe bolesnika. Bolesnici koji su bili kognitivno oštećeni su imali značajno veći stepen atrofije kako celog mozga, tako i u BM i SM, kao i neokorteksa i pored činjenice da je stepen neurološkog oštećenja bio sličan u obe grupe. Ovi rezultati ukazuju da u nastanku kognitivnih oštećenja u MS učestvuju različiti patološki procesi i da je njihov nastanak, zapravo, multifaktorijalan da se svakako ne može reći da samo jedna vrsta procesa, bilo inflamatorna bilo degenerativna, ili samo fokalna ili samo difuzna doprinosi njihovom razvoju već je razvoj kognitivnih oštećenja verovatno posledica sinergističkog dejstva svih patoloških procesa koji se odvijaju u mozgu kod bolesnika sa MS.
4. Ovo istraživanje je pružilo i sveobuhvatnu analizu struktura subkortikalne SM (talamusa, kaudatusa, putamena, paliduma, hipokampus, amigdala i akumbensa) sa idejom da se ispita uloga njihove atrofije u nastanku kognitivnih oštećenja u MS. Bolesnici sa kognitivnim oštećenjem su imali izraženiju stepen atrofije svih subkortikalnih struktura SM (osim paliduma i amigdala, za koje je razlika bila na ivici statističke značajnosti). Ovi rezultati ukazuju da subkortikalne strukture SM imaju značajnu ulogu u nastanku kognitivnih oštećenja u MS.

5. Globalan Z skor neuropsihološkog postignuća na testovima koji su ispitivali kognitivno oštećenje u našoj studiji je pokazao korelaciju sa svim ispitivanim parametrima kako fokalnog (ZLT2, ZLT1), tako i globalnog oštećenja mozga (NZM, NZSM, NZBM i NZKSM), a naročito sa zapreminom svih pojedinačnih struktura subkortikalne sive mase) ( $p < 0.03$  do  $p < 0.001$ ). Sličan rezultat je dobijen kada je u pitanju ispitivanje funkcije pažnje. Skorovi vizuelne memorije su pokazali korelaciju sa ZLT2, ZLT1, NZM, NZBM, ukupnim volumenom svih subkortikalnih SM, kao i zapreminom talamusa i putamena. Egzekutivne funkcije su pokazale korelaciju samo sa ZLT2, ZLT1. Nije utvrđena korelacija za ostale ispitivane kognitivne domene sa MR parametrima.
6. U modelu multivarijantne analize od svih ispitivanih parametara, pokazano je da se prosečni hipokampalni volumen (objašnjava varijansu=15%,  $p=0,0002$ ) pokazao kao najbolji prediktor globalnog kognitivnog Z skora, dok je ukupni normalizovani volumen subkortikalne SM (objašnjava varijansu=19%,  $p < 0,001$ ) se pokazao kao najbolji predskazivač Z skora pažnje, dok je NZM (objašnjena varijansa=10%,  $p=0,006$ ) bila najbolji predskazivač Z skora vizuelnog pamćenja. Ovi rezultati značajno potenciraju ulogu oštećenja struktura hipokampusa i subkortikalnih struktura SM mozga u nastanku kognitivnih oštećenja u RRMS, a pokazuju i veliki značaj merenja atrofije mozga kao prediktora u razvoju poremećaja pamćenja.
7. Na kraju, naša studija ukazuje da volumen hipokampusa i subkortikalnih struktura SM može, u budućnosti postati biomarker kognitivnog oštećenja kod bolesnika obolelih od MS i da se eventualno može koristiti u multicentričnim studijama različitih terapijskih solucija. Treba dodati još, da je ova studija bila jedna od prvih multicentričnih studija, koja je korelirala brojne parametre MR lezija i volumetrijske MR parametre sa kognitivnim oštećenjem, kod pacijenata obolelih od MS i koja je pokazala da je ova vrsta istraživanja moguća što daje nadu da će u budućim multicentričnim studijama ispitivanje markera kognitivnog oštećenja u MS, pre svega struktura subkortikalne SM i hipokampusa, biti značajno unapređeno kako u istraživačke, tako i eventualno i u terapijske svrhe.

## 7. LITERATURA

Absinta M, Rocca MA, Moiola L, Copetti M, Milani N, Falini A, et al. Cortical lesions in children with multiple sclerosis. *Neurology* 2011; 76: 910-3

Agosta F, Rovaris M, Pagani E, Sormani MP, Comi G, Filippi M. Magnetization transfer MRI metrics predict the accumulation of disability 8 years later in patients with multiple sclerosis. *Brain* 2006; 129: 2620-7

Amato MP, Ponziani G, Pracucci G, Bracco L, Siracusa G, Amaducci L. Cognitive impairment in early-onset multiple sclerosis: pattern, predictors, and impact on everyday life in 4-year follow-up. *Arch Neurol* 1995;52:168-172

Amato MP, Ponziani G, Siracusa G, Sorbi S. Cognitive dysfunction in early-onset multiple sclerosis: a reappraisal after 10 years. *Arch Neurol* 2001;58:1602-1606

Amato MP, Bartolozzi ML, Zipoli V, Portaccio E, Mortilla M, Guidi L, et al. Neocortical volume decrease in relapsing remitting MS patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 2004;63 (1):89-93

Amato MP, Zipoli V, Goretti B, Portaccio E, De Caro MF, Ricciuti L, et al. Benign multiple sclerosis: Cognitive, psychological and social aspects in a clinical cohort. *J Neurol* 2006; 253:1054–9

Amato MP, Portaccio E, Goretti B, Zipoli V, Battaglini M, Bartolozzi ML, et al. Association of neocortical volume changes with cognitive deterioration in relapsing–remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007; 64: 1157–1161

Amato MP, Portaccio E, Stromilo ML, Goretti B, Zipoli V, Siracusa G, et al. Cognitive assessment and quantitative magnetic resonance imaging can help to identify benign multiple sclerosis. *Neurology* 2008;71:632-638

AmatoMP, Portaccio E, Goretti B, Zipoli V, Iudice A, Della Pina D, et al. TuSCIMS Study Group. Relevance of cognitive deterioration in early relapsing-remitting MS: a 3-year follow-up study. *Mult Scler* 2010; 16(12):1474–1482

Amato MP, Hakiki B, Goretti B, Rossi F, Stromillo ML, Giorgio A, et al. Italian RIS/MS Study Group. Association of MRI metrics and cognitive impairment in radiologically isolated syndromes. *Neurology* 2012;78(5):309-14

Archibald CJ, Wei X, Scott JN, Wallace CJ, Zhang Y, Metz LM, et al. Posterior fossa lesion volume and slowed information processing in multiple sclerosis. *Brain*. 2004;127(Pt 7):1526-34

Arnett PA, Rao SM, Bernardin L, Grafman J, Yetkin FZ, Lobeck L. Relationship between frontal lobe lesions and Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 1994;44:420-425

Audoin B, Davies GR, Finisku L, Chard DT, Thompson AJ, Miller DH. Localization of grey matter atrophy in early RRMS: A longitudinal study. *J Neurol* 2006;253:1495-1501

Audoin B, Zaaraoui W, Reuter F, Rico A, Malikova I, Confort-Gouny S, et al. Atrophy mainly affects the limbic system and the deep gray matter at the first stage of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81(6):690-5

Barkhof F, Filippi M, Miller DH, Scheltens P, Campi A, Polman CH, et al. Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain* 1997;120:2059-69

Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr Opin Neurol* 2002; 5: 239-45

Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, Reingold SC. Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* 2009;5(5):256-66

Batista S, Zivadinov R, Hoogs M, Bergsland N, Heininen-Brown M, Dwyer MG, et al. Basal ganglia, thalamus and neocortical atrophy predicting slowed cognitive processing in multiple sclerosis. *J Neurol*. 2012;259(1):139-46

Batista S, d'Almeida OC, Afonso A, Freitas S, Macário C, Sousa L, et al. Impairment of social cognition in multiple sclerosis: Amygdala atrophy is the main predictor. *Mult Scler*. 2016 Dec 1:1352458516680750. doi: 10.1177/1352458516680750. [Epub ahead of print]

Bellmann-Strobl J, Wuerfel J, Aktas O, Dörr J, Wernecke KD, Zipp F, et al. Poor PASAT performance correlates with MRI contrast enhancement in multiple sclerosis. *Neurology*. 2009 Nov 17;73(20):1624-7



RHB, Fischer JS, Archibald CJ, Arnett PA, Beatty WW, Bobholz J, et al. Minimal neuropsychological assessment of MS patients: a consensus approach. *Clin Neuropsychol* 2002; 16: 381–397

Benedict RH, Weinstock-Guttman B, Fishman I, Sharma J, Tjoa CW, Bakshi R. Prediction of neuropsychological impairment in multiple sclerosis: comparison of conventional magnetic resonance imaging measures of atrophy and lesion burden. *Arch Neurol* 2004a;61: 226–30

Benedict RHB, Carone DA, Bakshi R. Correlating brain atrophy with cognitive dysfunction, mood disturbance and personality disorder in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2004; 14: 365–55

Benedict RH, Wahlig E, Bakshi R, Fishman I, Munschauer F, Zivadinov R, et al. Predicting quality of life in multiple sclerosis: accounting for physical disability, fatigue, cognition, mood disorder, personality, and behavior change. *J Neurol Sci.* 2005 Apr 15;231(1-2):29-34

Benedict RH, Cookfair D, Gavett R, Gunther M, Munschauer F, Garg N, et al. Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis. *J Int Neuropsychol Soc* 2006a; 12: 549–58.

Benedict RH, Bruce JM, Dwyer MG, Abdelrahman N, Hussein S, Weinstock-Guttman B, et al. Neocortical atrophy, third ventricular width, and cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2006b; 63: 1301–06

Benedict RH, Bruce J, Dwyer MG, Weinstock-Guttman B, Tjoa C, Tavazzi E, et al. Diffusion-weighted imaging predicts cognitive impairment in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2007;13(6):722-30

Benedict RH, Hulst HE, Bergsland N, Schoonheim MM, Dwyer MG, Weinstock-Guttman B, et al. Clinical significance of atrophy and white matter mean diffusivity within the thalamus of multiple sclerosis patients. *Mult Scler.* 2013 Oct;19(11):1478-84

Bergendal G, Fredrikson S, Almkvist O. Selective decline in information processing in subgroups of multiple sclerosis: an 8 year old longitudinal study. *Eur Neurol* 2007; 57:193-202

Bermel RA, Bakshi R, Tjoa C, Puli SR, Jacobs L. Bicaudate ratio as a magnetic resonance imaging marker of brain atrophy in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2002; 59: 275–80.

Bermel RA, Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2006;5(2):158-70

Bisecco A, Stamenova S, Caiazzo G, d'Ambrosio A, Sacco R, Docimo R, et al. Attention and processing speed performance in multiple sclerosis is mostly related to thalamic volume. *Brain Imaging Behav.* 2017 Jan 12. doi: 10.1007/s11682-016-9667-6. [Epub ahead of print]

Bitsch A, Kuhlmann T, Stadelmann C, Lassmann H, Lucchinetti C, Bruck W. A longitudinal MRI study of histopathologically defined hypointense multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001;49:793–6

Blinkenberg M, Rune K, Jensen CV, Ravnborg M, Kyllingsbaek S, Holm S, et al. Cortical cerebral metabolism correlates with MRI lesion load and cognitive dysfunction in MS. *Neurology* 2000;54:558-564

Bobholz JA, Rao SM, Lobeck L, Elsinger C, Gleason A, Kanz J, et al. fMRI study of episodic memory in relapsing remitting MS. Correlation with T2 lesion volume. *Neurology* 2006;67:1640-1645

Boringa JB, Lazeron RH, Reuling IE, Adèr HJ, Pfennings L, Lindeboom J, et al. The Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests: normative values allow application in multiple sclerosis clinical practice. *Mult Scler* 2001;7:263–67

Bó L, Vedeler CA, Nyland H, Trapp BD, Mørk SJ. Intracortical multiple sclerosis lesions are not associated with increased lymphocytes infiltration. *Mult Scler* 2003a;9:323-331

Bó L, Vedeler CA, Nyland H, Trapp BD, Mørk SJ. Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003b;62:723-732

Brex PA, Jenkins R, Fox NC, Crum WR, O'Riordan JI, Plant GT, et al. Detection of ventricular enlargement in patients at the earliest clinical stage of MS. *Neurology* 2000; 54: 1689–91

Brownell B, Hughes J. The distribution of plaques in the cerebrum in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1962;25:315-320

Bruck W, Bitsch A, Kolenda H, Bruck Y, Stiefel M, Lassmann H. Inflammatory central nervous system demyelination: correlation of magnetic resonance imaging findings with lesion pathology. *Ann Neurol* 1997;42: 783–93

Calabrese P, Penner IK. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis—A “multiple disconnection syndrome”? *J Neurol* 2007; 254 (Suppl 2):II/18–II/21

Calabrese M, De Stefano N, Atzori M, Bernardi V, Mattisi I, Barachino L, et al. Detection of cortical inflammatory lesions by double inversion recovery magnetic resonance imaging in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2007;64(10):1416-22

Calabrese M, Filippi M, Rovaris M, Bernardi V, Atzori M, Mattisi I, et al. Evidence for relative cortical sparing in benign multiple sclerosis: a longitudinal magnetic resonance imaging study. *Mult Scler* 2009a; 15: 36-41

Calabrese M, Rocca MA, Atzori M, Mattisi I, Bernardi V, Favaretto A, et al. Cortical lesions in primary progressive multiple sclerosis: a 2-year longitudinal MR study. *Neurology*. 2009b;72(15):1330-6

Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F, Mattisi I, Grossi P, Favaretto A, Atzori M, et al. Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009c; 66: 1144–50

Calabrese M, Battaglini M, Giorgio A, Atzori M, Bernardi V, Mattisi I, et al. Imaging distribution and frequency of cortical lesions in patients with multiple sclerosis. *Neurology*. 2010a;75(14):1234-40

Calabrese M, Rocca MA, Atzori M, Mattisi I, Favaretto A, Perini P, et al. A 3-Year Magnetic Resonance Imaging Study of Cortical Lesions in Relapse-Onset Multiple Sclerosis. *Ann Neurol* 2010b;67(3):376-83

Calabrese M, Rinaldi F, Mattisi I, Grossi P, Favaretto A, Atzori M, et al. Widespread cortical thinning characterizes patients with MS with mild cognitive impairment. *Neurology*. 2010c;74(4):321-8

Calabrese M, Poretto V, Favaretto A, Alessio S, Bernardi V, Romualdi C, et al. Cortical lesion load associates with progression of disability in multiple sclerosis. *Brain* 2012a; 135: 2952-61

Calabrese M, Grossi P, Favaretto A, Romualdi C, Atzori M, Rinaldi F, et al. Cortical pathology in multiple sclerosis patients with epilepsy: a 3 year longitudinal study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012b; 83: 49-54

Calabrese M, Romualdi C, Poretto V, Favaretto A, Morra A, Rinaldi F, et al. The changing clinical course of multiple sclerosis: a matter of gray matter. *Ann Neurol*. 2013;74(1):76-83

Camp S, Stevenson VL, Thompson AJ, Miller DH, Borrás C, Auriacombe S, et al. Cognitive function in primary progressive and transitional progressive multiple sclerosis. A controlled study with MRI correlates. *Brain* 1999;122:1341–1348

Camp S, Stevenson VL, Thompson AJ, Ingle GT, Miller DH, Borrás C, et al. A longitudinal study of cognition in primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 2005;128:2891-2898

Ceccarelli A, Rocca MA, Falini A, Tortorella P, Pagani E, Rodegher M, et al. Normal-appearing white and grey matter damage in MS. A volumetric and diffusion tensor MRI study at 3.0 Tesla. *J Neurol* 2007; 254: 513-8

Ceccarelli A, Rocca MA, Pagani E, Colombo B, Martinelli V, Comi G, et al. A voxel-based morphometry study of grey matter loss in MS patients with different clinical phenotypes. *Neuroimage* 2008;42:315-22

Chard DT, Griffin CM, Parker GJ, Kapoor R, Thomson AJ, Miller DH. Brain atrophy in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain*. 2002;125:327-37

Chard DT, Jackson JS, Miller DH, Wheeler-Kingshott CA. Reducing the impact of white matter lesions on automated measures of brain gray and white matter volumes. *J Magn Reson Imaging* 2010;32:223–28

Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008;7:1139-51

Chiaravalloti ND, Stojanovic-Radic J, DeLuca J. The role of speed versus working memory in predicting learning new information in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 2013;35:180-91

Comi G, Filippi M, Martinelli V, Campi A, Rodegher M, Alberoni M, et al. Brain MRI correlates of cognitive impairment in primary and secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 1995;132:222-227

Comi G, Rovaris M, Falautano M, Santuccio G, Martinelli V, Rocca MA, et al. A multiparametric MRI study of frontal lobe dementia in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 1999;171:135-144

- Christodoulou C, Krupp LB, Liang Z, Huang W, Melville P, Roque C, et al. Cognitive performance and MR markers of cerebral injury in cognitively impaired MS patients. *Neurology* 2003;60:1793-1798
- Cutajar R, Ferriani E, Scandellari C, Sabattini L, Trocino C, Marchello LP, et al. Cognitive function and quality of life in multiple sclerosis patients. *J Neurovirol* 2000;6:S186–90
- Daams M, Steenwijk MD, Schoonheim MM, Wattjes MP, Balk LJ, Tevarie PK, et al. Multi-parametric structural magnetic resonance imaging in relation to cognitive dysfunction in long-standing multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2016 Apr;22(5):608-19
- Dalton CM, Brex PA, Jenkins R, Fox NC, Miszkiel KA, Crum WR, et al. Progressive ventricular enlargement in patients with clinically isolated syndromes is associated with the early development of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73: 141–47
- Dalton CM, Chard DT, Davies GR, Miszkiel KA, Altmann DR, Fernando K, et al. Early development of multiple sclerosis is associated with progressive grey matter atrophy in patients presenting with clinically isolated syndromes. *Brain.* 2004;127:1101-7
- Denney DR, Sworowski LA, Lynch SG. Cognitive impairment in three subtypes of multiple sclerosis. *Arch Clin Neuropsychol.* 2005;20(8):967-81
- Dačković J, Stojsavljević N, Mesaroš Š. Simptomi i znaci multiple skleroze. U: *Multipla skleroza (ur. Drulović i sar)..* Beograd: Medicinski fakultet, 2013:77-97
- Debernard L, Melzer TR, Alla S, Eagle J, Van Stockum S, Graham C, et al. Deep grey matter MRI abnormalities and cognitive function in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Psychiatry Res* 2015;234:352–61
- DeLuca J, Chelune GJ, Tulskey DS, Lengenfelder J, Chiaravalloti ND. Is speed of processing or working memory the primary information processing deficit in multiple sclerosis? *J Clin Exp Neuropsychol.* 2004; 26:550–562
- DeLuca J, Leavitt VM, Chiaravalloti N, Wylie G. Memory impairment in multiple sclerosis is due to a core deficit in initial learning. *J Neurol* 2013;260:2491-6
- Deloire M, Ruet A, Hamel D, Bonnet M, Brochet B. Early cognitive impairment in multiple sclerosis predicts disability outcome several years later. *Mult Scler.* 2010;16(5):581-7

De Stefano N, Airas L, Grigoriadis N, Mattle HP, O'Riordan J, Oreja-Guevara C, et al. Clinical relevance of brain volume measures in multiple sclerosis. *CNS Drugs*. 2014 Feb;28(2):147-56

De Stefano N, Giorgio A, Battaglini M, Rovaris M, Sormani MP, Barkhof F, et al. Assessing brain atrophy rates in large population of untreated multiple sclerosis. *Neurology*. 2010;74(23):1868-76

Diker S, Has AC, Kurne A, Göçmen R, Oğuz KK, Karabudak R. The association of cognitive impairment with gray matter atrophy and cortical lesion load in clinically isolated syndrome. *Mult Scler Relat Disord*. 2016;10:14-21.

Di Filippo M, Anderson VM, Altmann DR, Swanton JK, Plant GT, Thompson AJ, et al. Brain atrophy and lesion load measures over 1 year relate to clinical status after 6 years in patients with clinically isolated syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81(2):204-8

Dineen RA, Vilisaar J, Hlinka J, Bradshaw CM, Morgan PS, Constantinescu CS, et al. Disconnection as a mechanism for cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132: 239–49

Drew M, Tippett LJ, Starkey NJ, Isler RB. Executive dysfunction and cognitive impairment in a large community-based sample with multiple sclerosis from New Zealand: a descriptive study. *Arch Clin Neuropsychol* 2008; 23: 1–19

Drulović J., Mostarica Stojković M., Pekmezović T., et al. *Multipla skleroza*. Medicinski fakultet u Beogradu, Sprint, 2013

Dujardin K, Donze AC, Hautecoeur P. Attention impairment in recently diagnosed multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 1998;5:61–6

Durand-Dubief F, Belaroussi B, Armspach JP, Dufour M, Roggerone S, Vukusic S, et al. Reliability of longitudinal brain volume loss measurements between 2 sites in patients with multiple sclerosis: comparison of 7 quantification techniques. *Am J Neuroradiol*. 2012;33:1918–24

Edwards SGM, Liu C, Blumhardt LD. Cognitive correlates of supratentorial atrophy on MRI in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2001;104:214-223

Engel C, Greim B, Zettl UK. Diagnostic of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *J Neurol* 2007;254 (Suppl 2);30-34

Enzinger C, Barkhof F, Ciccarelli O, Filippi M, Kappos L, Rocca MA, et al. Nonconventional MRI and microstructural cerebral changes in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2015;11(12):676-86

Evans AC, Marrett S, Neelin P, Collins L, Worsley K, Dai W, et al. Anatomical mapping of functional activation in stereotactic coordinate space. *Neuroimage*. 1992 Aug;1(1):43-53

Fazekas F, Barkhof F, Filippi M, Grossman RI, Li DK, McDonald WI, et al. The contribution of magnetic resonance imaging to the diagnosis of multiple sclerosis. *Neurology* 1999;53:448–56

Filippi M, Alberoni M, Martinelli V, Sirabian G, Bressi S, Canal N, et al. Influence of clinical variables on neuropsychological performance in multiple sclerosis. *Eur Neurol* 1994;34:324-328

Filippi M, Campi A, Dousset V, Baratti C, Martinelli V, Canal N, et al. A magnetization transfer imaging study of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurology* 1995;45:478-82

Filippi M, Tortorella C, Bozzali M. Normal-appearing white matter changes in multiple sclerosis: the contribution of magnetic resonance techniques. *Mult Scler* 1999;5:273-82

Filippi M, Rovaris M, Iannucci G, Mennea S, Sormani MP, Comi G. Whole brain volume changes in patients with progressive MS treated with cladribine. *Neurology* 2000a; 55: 1714–18

Filippi M, Tortorella C, Rovaris M, Bozzali M, Possa F, Sormani MP, et al. Changes in the normal appearing brain tissue and cognitive impairment in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000b;68:157-161

Filippi M, Rovaris M, Inglese M, Barkhof F, De Stefano N, Smith S, et al. Interferon beta-1a for brain tissue loss in patients at presentation with syndromes suggestive of multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004;364:1489–96

Filippi M, Rocca MA. MRI evidence for multiple sclerosis as a diffuse disease of the central nervous system. *J Neurol* 2005; 252: 16-24

Filippi M, Rocca MA, Arnold DL, Bakshi R, Barkhof F, DeStefano N, et al. EFNS guidelines on the use of neuroimaging in the management of multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2006;13:313-325

Filippi M, Rocca MA, Calabrese M, Sormani MP, Rinaldi F, Perini P, et al. Intracortical lesions. Relevance for new MRI diagnostic criteria for multiple sclerosis. *Neurology* 2010;75:1988-1994

Filippi M, Rocca MS, Barkhof F, Brück W, Chen J, Comi G, et al. Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2012;11:349-360

Filippi M, Preziosa P, Pagani E, Copetti M, Mesaros S, Colombo B, et al. Microstructural magnetic resonance imaging of cortical lesions in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2013a Apr;19(4):418-26

Filippi M, Preziosa P, Copetti M, Riccitelli G, Horsfield MA, Martinelli V, et al. Gray matter damage predicts the accumulation of disability 13 years later in MS. *Neurology*. 2013b Nov 12;81(20):1759-67

Filippi M, Preziosa P, Rocca MA. Magnetic resonance outcome measures in multiple sclerosis trials: time to rethink? *Curr Opin Neurol*. 2014;27(3):290-9

Filippi M. MRI measures of neurodegeneration in multiple sclerosis: implications for disability, disease monitoring, and treatment. *J Neurol* 2015; 262(1):1-6

Filippi M, Rocca MA, Ciccarelli O, De Stefano N, Evangelou N, Kappos L, et al. MAGNIMS Study Group. MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines. *Lancet Neurol*. 2016;15(3):292-303

Fisher E, Rudick RA, Simon JH, Cutter G, Baier M, Lee JC, et al. Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS. *Neurology* 2002;59:1412-1420

Fisher E, Lee JC, Nakamura K, Rudick RA. Gray matter atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Ann Neurol*. 2008 Sep;64(3):255-65

Fischer JS. Cognitive impairments in multiple sclerosis. In: Cook SD, ed. *Handbook of multiple sclerosis*. New York, USA: Marcel Dekker, 2001:233-56

Fisniku LK, Altmann DR, Cercignani M, Tozer DJ, Chard DT, Jackson JS, et al. Magnetization transfer ratio abnormalities reflect clinically relevant grey matter damage in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2009; 15: 668-77



Fisniku LK, Chard DT, Jackson JS, Anderson VM, Altmann DR, Miszkiet KA, et al. Gray matter atrophy is related to long term disability in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2008;64(3):247-54

Feuillet L, Reuter F, Audoin B, Malikova I, Barrau K, Cherif AA, Pelletier J. Early cognitive impairment in patients with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2007;13(1):124–127

Foong J, Rozewicz L, Quaghebeur G, Davie CA, Kartsounis LD, Thompson AJ, et al. Executive function in multiple sclerosis. The role of frontal lobe pathology. *Brain*. 1997;120:15-26

Foong J, Rozewicz L, Chong WK, Thompson AJ, Miller DH, Ron MA. A comparison of neuropsychological deficits in primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol*. 2000 Feb;247(2):97-101

Fox NC, Jenkins R, Leary SM, Stevenson VL, Losseff NA, Crum WR, et al. Progressive cerebral atrophy in MS: A serial study using registered, volumetric MRI. *Neurology* 2000; 54: 807–12

Gallo A, Rovaris M, Riva R, Ghezzi A, Benedetti B, Martinelli V, et al. Diffusion-tensor magnetic resonance imaging detects normal-appearing white matter damage unrelated to short-term disease activity in patients at the earliest clinical stage of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2005; 62: 803-8

Geurts JJ, Bo L, Roosendaal SD, Hazes T, Daniels R, Barkhof F, et al. Extensive hippocampal demyelination in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007;66:819-27

Geurts JJ, Roosendaal SD, Calabrese M, Ciccarelli O, Agosta F, Chard DT, et al. MAGNIMS Study Group. Consensus recommendations for MS cortical lesion scoring using double inversion recovery MRI. *Neurology* 2011;76:418–24

Giovanonni G, Ebers G. Multiple sclerosis: the environment and causation. *Curr Opin Neurol* 2007; 20:261-8

Giorgio A, Battaglini M, Smith SM, De Stefano N. Brain atrophy assessment in multiple sclerosis: importance and limitations. *Neuroimaging Clin N Am*. 2008;18:675–86

- Giorgio A, Stromillo ML, Bartolozzi ML, Rossi F, Battaglini M, De Leucio A, et al. Relevance of hypointense brain MRI lesions for long-term worsening of clinical disability in relapsing multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2014;20(2):214-9
- Glanz BI, Healy BC, Rintell DJ, Jaffin SK, Bakshi R, Weiner HL. The association between cognitive impairment and quality of life in patients with early multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2010;290(1-2):75-9
- González Torre JA, Cruz-Gómez AJ, Belenguer A, Sanchis-Segura C, Ávila C, Forn C. Hippocampal dysfunction is associated with memory impairment in multiple sclerosis: A volumetric and functional connectivity study. *Mult Scler*. 2017 Jan 1:1352458516688349. doi: 10.1177/1352458516688349. [Epub ahead of print]
- Grigoriadis N, van Pesch V; ParadigMS Group. A basic overview of multiple sclerosis immunopathology. *Eur J Neurol* 2015; 2: 3-13
- Grima DT, Torrance GW, Francis G, Rice G, Rosner AJ, Lafortune L. Cost and health related quality of life consequences of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2000;6:91–98
- Guimarães J, Sá MJ. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Front Neurol*. 2012;24;3:74
- Heaton RK, Chelune GJ, Talley JL, Kay G, Curtiss G. Wisconsin Card Sorting Test Manual: Revised and Expanded. Odessa, Florida: Psychological Assessment Resources; 1993
- Henry JD, Beatty WW. Verbal fluency deficits in multiple sclerosis. *Neuropsychologia*. 2006;44(7):1166-74
- Henry RG, Shieh M, Okuda DT, Evangelista A, Gorno-Tempini ML, Pelletier D. Regional grey matter atrophy in clinically isolated syndromes at presentation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(11):1236-44
- Huijbregts SC, Kalkers NF, de Sonnevile LM, de Groot V, Reuling IE, Polman CH. Differences in cognitive impairment of relapsing remitting, secondary, and primary progressive MS. *Neurology* 2004; 63(2):335–339
- Hulst HE, Steenwijk MD, Versteeg A, Pouwels PJ, Vrenken H, Uitdehaag BM, et al. Cognitive impairment in MS: impact of white matter integrity, gray matter volume, and lesions. *Neurology* 2013; 80: 1025–32

Hohol MJ, Guttmann CRG, Orav J, Mackin GA, Kikinis R, Khoury SJ, et al. Serial neuropsychological assessment and magnetic resonance imaging analysis of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1997;54:1018-1025

Houtchens MK, Benedict RHB, Killany R, Sharma J, Jaisani Z, Singh B, et al. Thalamic atrophy and cognition in multiple sclerosis. *Neurology* 2007;69:1213-1223

Ingle GT, Stevenson VL, Miller DH, Thompson AJ. Primary progressive multiple sclerosis: a 5-year clinical and MR study. *Brain* 2003; 126: 2528–36

Jacobsen C, Hagemeyer J, Myhr KM, Nyland H, Lode K, Bergsland N, et al. Brain atrophy and disability progression in multiple sclerosis patients: a 10-year follow-up study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014;0:1–7

Kalkers NF, Ameziame N, Bot JC, Minneboo A, Polman CH, Barkhof F. Longitudinal brain volume measurement in multiple sclerosis: rate of brain atrophy is independent of the disease subtype. *Arch Neurol*. 2002;59(10):1572-6

Kern KC, Gold SM, Lee B, Montag M, Horsfall J, O'Connor MF, et al. Thalamic-hippocampal-prefrontal disruption in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neuroimage Clin*. 2014;8:440-7

Kessler HR, Cohen RA, Lauer K, Kausch DF. The relationship between disability and memory dysfunction in multiple sclerosis. *Int J Neurosci*. 1992;62:17–34

Kidd D, Barkhof F, McConnell R, Algra PR, Allen IV, Revesz T. Cortical lesions in multiple sclerosis. *Brain* 1999;122:17-26

Kincses ZT, Ropele S, Jenkinson M, Khalil M, Petrovic K, Loitfelder M, et al. Lesion probability mapping to explain clinical deficits and cognitive performance in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2011;17(6):681-9

Kilsdonk ID, de Graaf WL, Lopez Soriano A, Zwanenburg JJ, Visser F, Kuijjer JP, et al. Multicontrast MR Imaging at 7T in Multiple Sclerosis: Highest Lesion Detection in Cortical Gray Matter with 3D-FLAIR. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013;34(4):791-6

Knight RG, Devereux RC, Godfrey HPD. Psychosocial consequences of caring for a spouse with multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 1997;19:7-19

Kordovski VM, Frndak SE, Fisher CS, Rodgers J, Weinstock-Guttman B, Benedict RH. Identifying employed multiple sclerosis patients at-risk for job loss: When do negative work events pose a threat? *Mult Scler Relat Disord*. 2015;4(5):409-13

Kujala P, Portin R, Ruutiainen J. The progress of cognitive decline in multiple sclerosis. *Brain* 1997;120:289-297

Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology* 1983;33:1442-1452

Koch-Henriksen N, Sřrensen PS: The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology (review). *Lancet Neurol* 2010; 9:520–532

Kooi EJ, Strijbis EM, van der Valk P, Geurts JJ. Heterogeneity of cortical lesions in multiple sclerosis: clinical and pathologic implications. *Neurology* 2012;79:1369-76

Koudriavtseva T, Thompson AJ, Fiorelli M, Gasperini C, Bastianello S, Bozzao A, et al. Gadolinium enhanced MRI predicts clinical and MRI disease activity in relapsing–remitting multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;62:285–7

Kutzelnigg A, Lassmann H. Cortical demyelination in multiple sclerosis: A substrate for cognitive deficits? *J Neurol Sci* 2006;245:123-126

Kutzelingg A, Faber-Rod JC, Bauer J, Lucchinetti CF, Sorensen PS, Laursen H, et al. Widespread demyelination in cerebellar cortex in multiple sclerosis. *Brain Pathol*. 2007;17(1):38-44.

Labiano-Fontcuberta A, Martínez-Ginés ML, Aladro Y, Ayuso L, Mitchell AJ, Puertas-Martín V, et al. A comparison study of cognitive deficits in radiologically and clinically isolated syndromes. *Mult Scler*. 2016;22(2):250-3

Lansley J, Mataix-Cols D, Grau M, Radua J, Sastre-Garriga J. Localized grey matter atrophy in multiple sclerosis: A meta-analysis of voxel-based morphometry studies and associations with functional disability. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37(5):819-30

Lassmann H, Brück W, Lucchinetti CF. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol* 2007;17:210-8

Lavorgna L, Bonavita S, Ippolito D, Lanzillo R, Salemi G, Patti F, et al. Clinical and magnetic resonance imaging predictors of disease progression in multiple sclerosis: a nine-year follow-up study. *Mult Scler*. 2014;20(2):220-6

Langdon DW. Cognition in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2011;24:244-9

Langdon DW, Amato MP, Boringa J, Brochet B, Foley F, Fredrikson S, et al. Recommendations for a Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS). *Mult Scler* 2012; 18:891-8

Lazeron RH, Boringa JB, Schouten M, Uitdehaag BM, Bergers E, Lindeboom J, et al. Brain atrophy and lesion load as explaining parameters for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2005; 11: 524–31

Lebrun C, Bensa C, Debouverie M, Wiertlevski S, Brassat D, de Seze J, et al. Association between clinical conversion to multiple sclerosis in radiologically isolated syndrome and magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid, and visual evoked potential: follow-up of 70 patients. *Arch Neurol* 2009;66(7):841-6

Lebrun C, Blanc F, Brassat D, Zephir H, de Seze J; CFSEP. Cognitive function in radiologically isolated syndrome. *Mult Scler*. 2010;16(8):919-25

Lezak MD. *Neuropsychological Assessment*, 3rd ed. New York; Oxford University Press, 1995

Lin X, Tench CR, Morgan PS, Constantinescu CS. Use of combined conventional and quantitative MRI to quantify pathology related to cognitive impairment in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79: 437–41

Losseff NA, Wang L, Lai HM, Yoo DS, Gawne-Cain ML, McDonald WI, et al. Progressive cerebral atrophy in multiple sclerosis. A serial MRI study. *Brain*. 1996;119 ( Pt 6):2009-19

Lovera J, Kovner B. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2012; 12:618-27

Lublin FD, Reingold SC. The National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. *Neurology* 1996;46:907-911

Lucchinetti CF, Popescu BF, Bunyan RF, Moll NM, Roemer SF, Lassmann H, et al. Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2011;365:2188-97

Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47:707–17

Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 2014; 83:278-86

Ludwin SK. The pathogenesis of multiple sclerosis: relating human pathology to experimental studies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006; 65: 305–18

Lumsden CE. The neuropathology of multiple sclerosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW (eds.). *Handbook of clinical neurology*. Vol. 9. Amsterdam: North-Holland; 1970:217-309

Marasescu R, Cerezo Garcia M, Aladro Benito Y. Impairment of visuospatial/visuoconstructional skills in multiple sclerosis patients: the correlation with regional lesion load and subcortical atrophy. *Neurologia*. 2016;31:169-75

Mazziotta JC, Toga AW, Evans A, Fox P, Lancaster J. A probabilistic atlas of the human brain: theory and rationale for its development. The International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Neuroimage*. 1995 Jun;2(2):89-101

McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001;50:121-7

Mesaroš Š, Rocca MA, Sormani MP, Charil A, Comi G, Filippi M. Clinical and conventional MRI predictors of disability and brain atrophy accumulation in RRMS: A large scale, short-term follow-up study. *J Neurol* 2008a; 255:1378-1383

Mesaroš Š, Rocca MA, Absinta M, Ghezzi A, Milani N, Moiola L, et al. Evidence of thalamic gray matter loss in pediatric multiple sclerosis. *Neurology* 2008b; 70:1107-1112

Mesaroš Š, Rovaris M, Pagani E, Pulizzi A, Caputo D, Zaffaroni M, et al. A magnetic resonance imaging voxel-based morphometry study of regional grey matter atrophy in patients with benign multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2008c; 65:1223-1230

Mesaroš Š. Faktori koji koreliraju sa motornim i kognitivnim oštećenjem u multiploj sklerozi: morfometrija zasnovana na vokselima. Doktorska disertacija, Beograd, 2009

Mesaroš Š, Rocca MA, Riccitelli G, Pagani E, Rovaris M, Caputo D, et al. Corpus callosum damage and cognitive dysfunction in benign MS. *Hum Brain Mapp* 2009; 30: 2656-66

Mesaroš Š, Rocca M, Sormani M, Valsasina P, Markowitz C, De Stefano N, et al. Bimonthly assessment of magnetization transfer magnetic resonance imaging parameters in multiple sclerosis: a 14-month, multicentre, follow-up study. *Mult Scler* 2010; 16: 325-31

Mesaroš Š, Rocca MA, Pagani E, Sormani MP, Petrolini M, Comi G, et al. Thalamic damage predicts the evolution of primary progressive multiple sclerosis at 5 years. *AJNR Am J Neuroradiol* 2011; 32:1016-1020

Mesaroš Š, Rocca MA, Kacar K, Kostic J, Copetti M, Stosic-Opincal T, et al. Diffusion tensor MRI tractography and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology* 2012;78(13):969-75

Mesaroš Š, Drulović J. Dijagnoza multiple skleroze: Uloga magnetne resonance. U: *Multipla skleroza* (ur. Drulović i sar).. Beograd: Medicinski fakultet, 2013:49-73

Minneboo A, Uitdehaag BM, Jongen P, Vrenken H, Knol DI, van Walderveen MA, et al. Association between MRI parameters and the MS severity scale: a 12 year follow-up study. *Mult Scler.* 2009; 15(5):632-7

Moll NM, Rietsch AM, Thomas S, Ransohoff AJ, Lee JC, Fox R, et al. Multiple sclerosis normal-appearing white matter: pathology-imaging correlations. *Ann Neurol* 2011; 70: 764-73

Morgen K, Sammer G, Courtney SM, Wolters T, Melchior H, Blecker CR, et al. Evidence for a direct association between cortical atrophy and cognitive impairment in relapsing-remitting MS. *Neuroimage* 2006;15:891-898

Mostarica Stojković M. Imunopatogeneza multiple skleroze. U: *Multipla skleroza* (ur. Drulović i sar). Beograd: Medicinski fakultet, 2013:49-73

Miller DH, Barkhof F, Berry I, Kappos L, Scotti G, Thompson AJ. Magnetic resonance imaging in monitoring the treatment of multiple sclerosis: concerted action guidelines. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:683-688

Miyake A, Friedman NP, Emerson MJ, Witzki AH, Howerter A, Wager TD. The unity and diversity of executive functions and their contributions to complex "Frontal Lobe" tasks: a latent variable analysis. *Cogn Psychol.*2000;41:49-100

Nagy H, Bencsik K, Rajda C, Benedek K, Beniczky S, Kéri S, et al. The effects of reward and punishment contingencies on decision-making in multiple sclerosis. *J Int Neuropsychol Soc* 2006; 12: 559–65

Nelson F, Datta S, Garcia N, Rozario NL, Perez F, Cutter G, et al. Intracortical lesions by 3Tmagnetic resonance imaging and correlation with cognitive impairment in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17: 1122–29

Nielsen AS, Kinkel RP, Madigan N, Tinelli E, Benner T, Mainero C. Contribution of cortical lesion subtypes at 7T MRI to physical and cognitive performance in MS. *Neurology* 2013;81: 641–49

Nocentini U, Pasqualetti P, Bonavita S, Buccafusca M, De Caro MF, Farina D, et al. Cognitive dysfunction in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2006;12(1):77-87

Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000;343:938–952

Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A, Waubant E, Baranzini SE, Goodin DS, et al. Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome. *Neurology* 2009;72:800–805

Papadopoulou A, Müller-Lenke N, Naegelin Y, Kalt G, Bendfeldt K, Kuster P et al. Contribution of cortical and white matter lesions to cognitive impairment in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2013; 19: 1290–96

Papathanasiou A, Messinis L, Zampakis P, Panagiotakis G, Gourzis P, Georgiou V, et al. Thalamic atrophy predicts cognitive impairment in relapsing remitting multiple sclerosis. Effect on instrumental activities of daily living and employment status. *J Neurol Sci.* 2015;358(1-2):236-42

Papathanasiou A, Messinis L, Zampakis P, Papathanasopoulos P. Corpus callosum atrophy as a marker of clinically meaningful cognitive decline in secondary progressive multiple



sclerosis. Impact on employment status. *J Clin Neurosci*. 2017 Jun 7. pii: S0967-5868(17)30292-8. doi: 10.1016/j.jocn.2017.05.032. [Epub ahead of print]

Paolillo A, Coles AJ, Molyneux PD, Gawne-Cain M, MacManus D, Barker GJ, et al. Quantitative MRI in patients with secondary progressive MS treated with monoclonal antibody Campath 1H. *Neurology* 1999;53:751–7

Paolillo A, Pozzilli C, Giugni E, Tomassini V, Gasperini C, Fiorelli M, et al. A 6-year clinical and MRI follow-up study of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with Interferon-beta. *Eur J Neurol* 2002;9:645-655

Patenaude B, Smith SM, Kennedy DN, Jenkinson M. A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation. *Neuroimage* 2011;56:907–22

Patti F, Amato MP, Trojano M, Bastianello S, Tola MR, Goretti B, et al. COGIMUS Study Group. Cognitive impairment and its relation with disease measures in mildly disabled patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: baseline results from the cognitive impairment in multiple sclerosis (COGIMUS) study. *Mult Scler* 2009;15(7):779–788

Patti F. Optimizing the benefit of multiple sclerosis therapy: the importance of treatment adherence. *Patient Prefer Adherence*. 2010;4:1-9

Paulesu E, Perani D, Fazio F, Comi G, Pozzilli C, Martinelli V, et al. Functional basis of memory impairment in multiple sclerosis: A [18F] FDG PET study. *Neuroimage* 1996;4:87-96

Pekmezović T. Epidemiologija multiple skleroze. U: *Multipla skleroza* (ur. Drulović i sar). Beograd: Medicinski fakultet, 2013:3-20

Penny S, Khaleeli Z, Cipelotti L, Thompson A, Ron M. Early imaging predicts later cognitive impairment in primary progressive multiple sclerosis. *Neurology* 2010; 74: 545–52

Peterson JW, Bö L, Mörk S, Chang A, Trapp BD. Transected neuritis, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001;50:389-400

Pérez-Miralles F, Sastre-Garriga J, Tintoré M, Arrambide G, Nos C, Perkal H, et al. Clinical impact of early brain atrophy in clinically isolated syndromes. *Mult Scler*. 2013 Dec;19(14):1878-86

Planche V, Ruet A, Coupé P, Lamargue-Hamel D, Deloire M, Pereira B, et al. Hippocampal microstructural damage correlates with memory impairment in clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2016 Oct 1:1352458516675750

Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald criteria”. *Ann Neurol* 2005; 58: 840-6

Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011;69:292–302

Popescu V, Agosta F, Hulst HE, Sluimer IC, Knol DL, Sormani MP, et al. MAGNIMS group. Brain atrophy and lesion load predict long term disability in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84(10):1082-91

Poser CM, Paty DW, Scheinberg LC, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983; 13: 227-31

Potagas C, Giogkaraki E, Koutsis G, Mandellos D, Tsirempolou E, Sfagos C, et al. Cognitive impairment in different MS subtypes and clinically isolated syndromes. *J Neurol Sci* 2008;267:100–106

Pravatà E, Rocca MA, Valsasina P, Riccitelli GC, Gobbi C, Comi G, et al. Gray matter trophism, cognitive impairment, and depression in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017 Feb 1:1352458517692886. doi: 10.1177/1352458517692886. [Epub ahead of print]

Preziosa P, Rocca MA, Mesaros S, Pagani E, Stosic-Opincal T, Kacar K, et al. Intrinsic damage to the major white matter tracts in patients with different clinical phenotypes of multiple sclerosis: a voxelwise diffusion-tensor MR study. *Radiology* 2011;260:541-50

Preziosa P, Rocca MA, Mesaroš Š, Pagani E, Drulovic J, Stosic-Opincal T, et al. Relationship between Damage to the Cerebellar Peduncles and Clinical Disability in Multiple Sclerosis. *Radiology* 2014; 271(3):822-30

Preziosa P, Rocca MA, Pagani E, Stromillo ML, Enzinger C, Gallo A, et al. Structural MRI correlates of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis: A Multicenter Study. *Hum Brain Mapp.* 2016;37(4):1627-44

Preziosa P, Pagani E, Morelli ME, Copetti M, Martinelli V, Pirro F, et al. DT MRI microstructural cortical lesion damage does not explain cognitive impairment in MS. *Mult Scler.* 2017 Jan 1:1352458516689147. doi: 10.1177/1352458516689147. [Epub ahead of print]

Prinster A, Quarantelli M, Orefice G, Lanzillo R, Brunetti A, Mollica C, et al. Grey matter loss in relapsing–remitting multiple sclerosis: a voxel-based morphometry study. *Neuroimage* 2006; 29: 859–867

Prinster A, Quarantelli M, Lanzillo R, Orefice G, Vacca G, Carotenuto B, et al. A voxel-based morphometry study of disease severity correlates in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2010;16(1):45-54

Pujol J, Vendrell P, Deus J, Junqué C, Bello J, Martí-Vilalta JL, Capdevila A. The effect of medial frontal and posterior parietal demyelinating lesions on stroop interference. *Neuroimage* 2001; 13: 68–75

Radua J, Mataix-Cols D, Phillips ML, El-Hage W, Kronhaus DM, Cardoner N, et al. A new meta-analytic method for neuroimaging studies that combines reported peak coordinates and statistical parametric maps. *European Psychiatry* 2012;27: 605–611

Rao SM, Glatt S, Hammeke TA, Khatri BO, Rhodes AM, Pollard S. Chronic progressive multiple sclerosis: relationship between cerebral ventricular size and neuropsychological impairment. *Arch Neurol* 1985;42:678-682

Rao SM, Leo GJ, St. Aubin-Faubert P. On the nature of memory disturbance in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 1989a;11:699–712

Rao SM, Leo GJ, Haughton VM, St Aubin-Faubert P, Bernardin L. Correlation of magnetic resonance imaging with neuropsychological testing in multiple sclerosis. *Neurology* 1989b; 39: 161–66

Rao SM. Cognitive Function Study Group, NMSS. A manual for the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests in Multiple Sclerosis. New York: National Multiple Sclerosis Society; 1990

Rao SM, Leo G, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: frequency, patterns, and predictions. *Neurology* 1991; 41: 685–91

Rao SM, Leo GJ, Ellington L, Nauertz T, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis II: Impact on employment and social functioning. *Neurology* 1991a;41:692–6

Rao SM, Grafman J, DiGuilio D, Mittenberg W, Bernardin L, Leo G et al. Memory dysfunction in multiple sclerosis: its relation to working memory, semantic encoding and implicit learning. *Neuropsychology* 1993;7:364–74

Raz E, Cercignani M, Sbardella E, Totaro P, Pozzilli C, Bozzali M, et al. Clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis: voxelwise regional investigation of white and gray matter. *Radiology* 2010a; 254: 227-34

Raz E, Cercignani M, Sbardella E, Totaro P, Pozzilli C, Bozzali M, et al. Gray- and white-matter changes 1 year after first clinical episode of multiple sclerosis: MR imaging. *Radiology*. 2010b; 257(2):448-54

Reuter F, Zaaaroui W, Crespy L, Faivre A, Rico A, Malikova I, et al. Frequency of cognitive impairment dramatically increases during the first 5 years of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(10):1157-9

Riccitelli G, Rocca MA, Pagani E, Rodegher ME, Rossi P, Falini A, et al. Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis Is Associated to Different Patterns of Gray Matter Atrophy According to Clinical Phenotype. *Hum Brain Mapp* 2011;32(10):1535-43

Roca M, Torralva T, Meli F, Fiol M, Calcagno M, Carpintiero S, et al. Cognitive deficits in multiple sclerosis correlate with changes in fronto-subcortical tracts. *Mult Scler*. 2008 Apr;14(3):364-9

Rocca MA, Mesaros S, Pagani E, Sormani MP, Comi G, Filippi M. Thalamic Damage and Long-term Progression of Disability in Multiple Sclerosis. *Radiology* 2010; 257(2):463-9

Rocca MA, Messina R, Filippi M. Multiple sclerosis imaging: recent advances. *J Neurol*. 2013 Mar;260(3):929-35

Rocca MA, Amato MP, De Stefano N, Enzinger C, Geurts JJ, Penner IK, et al. MAGNIMS Study Group. Clinical and imaging assessment of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2015a Mar;14(3):302-17

Rocca MA, Longoni G, Pagani E, Boffa G, Colombo B, Rodegher M, et al. In vivo evidence of hippocampal dentate gyrus expansion in multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp.* 2015b;36(11):4702-13

Rocca MA, Preziosa P, Mesaros S, Pagani E, Dackovic J, Stosic-Opincal T, et al. Clinically Isolated Syndrome Suggestive of Multiple Sclerosis: Dynamic Patterns of Gray and White Matter Changes—A 2-year MR Imaging Study. *Radiology* 2016a;278(3):841-53

Rocca MA, Morelli ME, Amato MP, Moiola L, Ghezzi A, Veggiotti P, et al. Regional hippocampal involvement and cognitive impairment in pediatric multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2016b;22(5):628-40

Rogers JM, Panegyres PK. Cognitive impairment in multiple sclerosis: evidence-based analysis and recommendations. *J Clin Neurosci.* 2007 Oct;14(10):919-27

Roosendaal SD, Moraal B, Pouwels PJ, Vrenken H, Castelijns JA, Barkhof F, et al. Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Mult Scler.* 2009;15(6):708-14

Rossi F, Giorgio A, Battaglini M, Stromillo ML, Portaccio E, Goretti B, et al. Relevance of brain lesion location to cognition in relapsing multiple sclerosis. *PLoS One* 2012; 7(11):e44826

Rosti-Otajärvi E, Ruutiainen J, Huhtala H, Hämäläinen P. Cognitive performance profile in different phenotypes of MS with cognitive complaints. *Mult Scler Relat Disord* 2014;3(4):463–472

Rovaris M, Filippi M, Falautano M, Minicucci L, Rocca MA, Martinelli V, et al. Relation between MR abnormalities and patterns of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology* 1998;59:1601-1608

Rovaris M, Filippi M, Minicucci L, Iannucci G, Santuccio G, Possa F, et al. Cortical/subcortical disease burden and cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000; 21: 402–08

Rovaris M, Iannucci G, Falautano M, Possa F, Martinelli V, Comi G, et al. Cognitive dysfunction in patients with mildly disabling relapsing-remitting multiple sclerosis: an exploratory study with diffusion tensor MR imaging. *J Neurol Sci* 2002; 195: 103–09

Rovaris M, Agosta F, Sormani MP, Inglese M, Martinelli V, Comi G, et al. Conventional and magnetization transfer MRI predictors of clinical multiple sclerosis evolution: a medium-term follow-up study. *Brain* 2003;126:2323–32

Rovaris M, Judica E, Ceccarelli A, Ghezzi A, Martinelli V, Comi G, et al. A 3-year diffusion tensor MRI study of grey matter damage progression during the earliest clinical stage of MS. *J Neurol* 2008a; 255:1209-14

Rovaris M, Riccitelli G, Judica E, Possa F, Caputo D, Ghezzi A, et al. Cognitive impairment and structural brain damage in benign multiple sclerosis. *Neurology*. 2008b;71(19):1521-6

Rovaris M, Barkhof F, Calabrese M, De Stefano N, Fazekas F, Miller DH, et al. MRI features of benign multiple sclerosis: toward a new definition of this disease phenotype. *Neurology*. 2009;72(19):1693-701

Rudick RA, Fisher E, Lee JC, Simon J, Jacobs L. Use of the brain parenchymal fraction to measure whole brain atrophy in relapsing-remitting MS. Multiple sclerosis collaborative research group. *Neurology* 1999; 53: 1698–1704

Ruet A, Deloire M, Charre-Morin J, Hamel D, Brochet B. Cognitive impairment differs between primary progressive and relapsing-remitting MS. *Neurology* 2013; 80(16):1501–1508

Sahraian MA, Radue E-W, Haller S, Kappos L. Black holes in multiple sclerosis: definition, evolution, and clinical correlations. *Acta Neurol Scand*: 2010: 122:1–8

Sailer M, Losseff NA, Wang L, Gawne-Cain ML, Thompson AJ, Miller DH. T1 lesion load and cerebral atrophy as a marker for clinical progression in patients with multiple sclerosis: a prospective 18 months follow-up study. *Eur J Neurol* 2001;8:37-42

Sailer M, Fischl B, Salat D, Tempelmann C, Schönfeld MA, Busa E, et al. Focal thinning of the cerebral cortex in multiple sclerosis. *Brain* 2003;126:1734–1744

Sanfilippo MP, Benedict RH, Sharma J, Weinstock-Guttman B, Bakshi R. The relationship between whole brain volume and disability in multiple sclerosis: a comparison of normalized gray vs. white matter with misclassification correction. *Neuroimage*. 2005;26:1068–77

Sanfilippo MP, Benedict RHB, Weinstock-Guttman B, Bakshi R. *Neurology* 2006; 66: 685–92

Sartori E, Edan G. Assessment of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2006;245:169-175

Sastre-Gariga J, Ingle GT, Chard DT, Ramio-Torrenta L, McLean MA, Miller DH, et al. Metabolite changes in normal-appearing gray and white matter are linked with disability in early primary progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2005;62(4):569-73

Sastre-Garriga J, Pareto D, Rovira À. Brain Atrophy in Multiple Sclerosis: Clinical Relevance and Technical Aspects. *Neuroimaging Clin N Am*. 2017 May;27(2):289-300

Satz P. Brain reserve capacity on symptom onset after brain injury: a formulation and review of evidence for threshold theory. *Neuropsychology* 1993;7:273–295

Schwid SR, Goodman AD, Weinstein A, McDermott MP, Johnson KP. Cognitive function in relapsing multiple sclerosis: minimal changes in a 10-year clinical trial. *J Neurol Sci* 2007; 255: 57–63

Schoonheim MM, Popescu V, Rueda Lopes FC, Wiebenga OT, Vrenken H, Douw L, et al. Subcortical atrophy and cognition: sex effects in multiple sclerosis. *Neurology*. 2012;79(17):1754-61

Seewann A, Vrenken H, van der Valk P, Blezer EL, Knol DL, Castelijns JA, et al. Diffusely abnormal white matter in chronic multiple sclerosis: imaging and histopathologic analysis. *Arch Neurol* 2009; 66:601–9

Seewann A, Kooi EJ, Roosendaal SD, Pouwels PJ, Wattjes MP, van der Valk P, et al. Postmortem verification of MS cortical lesion detection with 3D DIR. *Neurology* 2012;78:302-8

Sepulcre J, Sastre-Garriga J, Cercignani M, et al. Regional grey matter atrophy in early primary progressive multiple sclerosis: a voxel-based morphometry study. *Arch Neurol* 2006a;63:1175-1180

Sepulcre J, Vanotti S, Hernández R, Ingle GT, Miller DH, Thompson AJ. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology Test. *Mult Scler* 2006b;12:187–95

Siffrin V, Vogt J, Radbruch H, Nitsch R, Zipp F. Multiple sclerosis-candidate mechanisms underlying CNS atrophy. *Trends Neurosci*. 2010;33(4):202-10

Simon JH, Lull J, Jacobs LD, Rudick RA, Cookfair DL, Herndon RM. A longitudinal study of T1 hypointense lesions in relapsing MS: MSCRG trial of interferon beta-1a. Multiple Sclerosis Collaborative Research Group. *Neurology* 2000;55:185–92

Smith SM, Zhang Z, Jenkinson M, Chen J, Matthews PM, Federico A, et al. Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *Neuroimage* 2002;17:479-489

Sperling R, Guttmann CRG, Hohol MJ, Warfield SK, Jakab M, Parente M, et al. Regional magnetic resonance imaging lesion burden and cognitive function in multiple sclerosis. A longitudinal study. *Arch Neurol* 2001;58:115-121

Stevenson VL, Miller DH, Leary SM, Rovaris M, Barkhof F, Brochet B, et al. One year follow up study of primary and transitional progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 68: 713–18

Strober L, Englert J, Munschauer F, Weinstock-Guttman B, Rao S, Benedict RH. Sensitivity of conventional memory tests in multiple sclerosis: comparing the Rao Brief Repeatable Neuropsychological Battery and the Minimal Assessment of Cognitive Function in MS. *Mult Scler.* 2009;15(9):1077-84

Summers M, Swanton J, Fernando K, Dalton C, Miller DH, Ciolotti L et al. Cognitive impairment in multiple sclerosis can be predicted by imaging early in the disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008a; 79: 955–58

Summers M, Fisniku L, Anderson V, Miller D, Ciolotti L, Ron M. Cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis can be predicted by imaging performed several years earlier. *Mult Scler* 2008b; 14: 197–204

Sumowski JF, Wylie GR, Chiaravalloti N, DeLuca J. Intellectual enrichment lessens the effect of brain atrophy on learning and memory in multiple sclerosis. *Neurology* 2010;74:1942–1945

Sumowski JF, Leavitt VM. Cognitive reserve in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2013;19:1122–1127

Sumowski JF, Rocca MA, Leavitt VM, Riccitelli G, Comi G, DeLuca J, et al. Brain reserve and cognitive reserve in multiple sclerosis: what you've got and how you use it. *Neurology* 2013;80:2186–2193



Sumowski JF, Rocca MA, Leavitt VM, Dackovic J, Mesaros S, Drulovic J, et al. Brain reserve and cognitive reserve protect against cognitive decline over 4.5 years in MS. *Neurology* 2014; 82(20):1776-83

Sumowski JF, Rocca MA, Leavitt VM, Riccitelli G, Meani A, Comi G, et al. Reading, writing, and reserve: Literacy activities are linked to hippocampal volume and memory in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2016 Oct;22(12):1621-1625

Sumowski JF, Leavitt VM, Rocca MA, Inglese M, Riccitelli G, Buyukturkoglu K, et al. Mesial temporal lobe and subcortical grey matter volumes differentially predict memory across stages of multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2017 May 1:1352458517708873. doi: 10.1177/1352458517708873. [Epub ahead of print]

Swirsky-Sacchetti T, Mitchel DR, Seward J, Gonzales C, Lublin F, Knobler R, et al. Neuropsychological and structural brain lesions in multiple sclerosis: a regional analysis. *Neurology* 1992;42:1291-1295

Štecková T, Hlušík P, Sládková V, Odstrčil F, Mareš J, Kaňovský P. Thalamic atrophy and cognitive impairment in clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2014;342(1-2):62-8

Takao H, Hayashi N, Ohtomo K. A longitudinal study of brain volume changes in normal aging. *Eur J Radiol.* 2012;81:2801–4

Thornton AE, Raz N, Tucke KA. Memory in multiple sclerosis: contextual encoding deficits. *J Int Neuropsychol Soc* 2002;8:395–409

Tiemann L, Penner IK, Haupts M, Schlegel U, Calabrese P. Cognitive decline in multiple sclerosis: impact of topographic lesion distribution on differential cognitive deficit patterns. *Mult Scler* 2009; 15:1164–74.

Tillema JM, Hulst HE, Rocca MA, Vrenken H, Steenwijk MD, Damjanovic D, et al., MAGNIMS Study Group. Regional cortical thinning in multiple sclerosis and its relation with cognitive impairment: A multicenter study. *Mult Scler.* 2016;22(7):901-9

Tortorella C, Viti B, Bozzali M, Sormani MP, Rizzo G, Gilardi MF, et al. A magnetization transfer histogram study of normal-appearing brain tissue in MS. *Neurology.* 2000 11;54(1):186-93

Traboulsee A, Dehmeshki J, Peters KR, Griffin CM, Brex PA, Silver N, et al. Disability in multiple sclerosis is related to normal appearing brain tissue MTR histogram abnormalities. *Mult Scler* 2003; 9: 566–73

Truyen L, van Waesberghe JH, van Walderveen MA, van Oosten BW, Polman CH, Hommes OR, et al. Accumulation of hypointense lesions (“black holes”) on T1 spin-echo MRI correlates with disease progression in multiple sclerosis. *Neurology* 1996;47:1469–76

Turner B, Lin X, Calmon G, Roberts N, Blumhardt LD. Cerebral atrophy and disability in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis over four years. *Mult Scler*. 2003;9(1):21-7

Uddin MN, Lebel RM, Seres P, Blevins G, Wilman AH. Spin echo transverse relaxation and atrophy in multiple sclerosis deep gray matter: a two-year longitudinal study. *Mult Scler* 2016;22:1133–43

Ukkonen M, Vahvelainen T, Hämäläinen P, Dastidar P, Elovaara I. Cognitive dysfunction in primary progressive multiple sclerosis: a neuropsychological and MRI study. *Mult Scler* 2009;15: 1055–61

Vercellino M, Plano F, Votta B, Mutani R, Giordana MT, Cavalla P. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2005;64(12):1101-7

Van Hecke W, Nagels G, Leemans A, Vandervliet E, Sijbers J, Parizel PM. Correlation of cognitive dysfunction and diffusion tensor MRI measures in patients with mild and moderate multiple sclerosis. *J Magn Reson Imag* 2010; 31: 1492–1498

van Munster CE, Jonkman LE, Weinstein HC, Uitdehaag BM, Geurts JJ. Gray matter damage in multiple sclerosis: Impact on clinical symptoms. *Neuroscience*. 2015;303:446-61

van Schependom J, D'hooghe MB, Cleynhens K, D'hooge M, Haelewyck MC, De Keyser J, et al. The Symbol Digit Modalities Test as sentinel test for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2014;21:1219-25

van Walderveen MA, Kamphorst W, Scheltens P, van Waesberghe JH, Ravid R, Valk J, et al. Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 1998;50:1282–8

van Walderveen MA, Truyen L, van Oosten BW, Castelijns JA, Lycklama à Nijeholt GJ, van Waesberghe JH, et al. Development of hypointense lesions on T1-weighted spinecho

magnetic resonance images in multiple sclerosis: relation to inflammatory activity. *Arch Neurol* 1999;56:345–51

Vleugels L, Lafosse C, van Nunen A, Charlier M, Ketelaer P, Vandebussche E. Visuospatial impairment in multiple sclerosis patients diagnosed with with neuropsychological tasks. *Mult Scler* 2000; 6:241–54

Wegner C, Esiri MM, Chance SA, Palace J, Matthews PM. Neocortical neuronal, synaptic, and glial loss in multiple sclerosis. *Neurology*. 2006;67(6):960-7

Young CA. Factors predisposing to the development of multiple sclerosis. *QJM*. 2011;104:383–6

Zipoli V, Goretti B, Hakiki B, Siracusa G, Sorbi S, Portaccio E, et al. Cognitive impairment predicts conversion to multiple sclerosis in clinically isolated syndromes. *Mult Scler*. 2010 Jan;16(1):62-7

Zivadinov R, De Masi R, Nasuelli D, Bragadin LM, Ukmar M, Pozzi-Mucelli RS, et al. MRI techniques and cognitive impairment in the early phase of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neuroradiology* 2001;43:272–78

Zivadinov R, Bakshi R. Central nervous system atrophy and clinical status in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2004; 14 (3 suppl): 27–35

Zivadinov R, Havrdová E, Bergsland N, Tyblova M, Hagemeyer J, Seidl Z, et al. Thalamic atrophy

is associated with development of clinically definite multiple sclerosis. *Radiology*. 2013a;268:831–41

Zivadinov R, Bergsland N, Dolezal O, Hussein S, Seidl Z, Dwyer MG, et al. Evolution of cortical and thalamus atrophy and disability progression in early relapsing-remitting MS during 5 years. *Am J Neuroradiol*. 2013b;34:1931–9

Zivadinov R, Uher T, Hagemeyer J, Vaneckova M, Ramasamy DP, Tyblova M, et al. A serial 10-year follow-up study of brain atrophy and disability progression in RRMS patients. *Mult Scler*. 2016;22(13):1709-1718

## **BIOGRAFIJA**

Dušan Damjanović je rođen 1979. godine u Beogradu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu završio je 2006. godine sa prosečnom ocenom 9.06. Specijalistički ispit iz radiologije je položio 2013. godine. Zaposlen u Centru za radiologiju i magnetnu rezonancu Kliničkog Centra Srbije, Odeljenje magnetne rezonance (MR) od 2007. godine, a od 2015.g obavlja i funkciju šefa odseka neuroradiologije Odeljenja MR u toj instituciji. Za kliničkog asistenta na predmetu Radiologija, Medicinskog Fakulteta u Beogradu je izabran 2014.g. Oblast od interesa: neuroradiologija, neuroimidžing. Dobitnik prestižne stipendije MAGNIMS grupe (Magnetic Resonance Imaging in Multiple Sclerosis) koja mu je omogućila stručno usavršavanje i studijski boravak u Neuroimaging Research Unit, INSPE, Division of Neuroscience, San Raffaele Scientific Institute and University, Milano, Italija, pod mentorstvom Prof. dr Massima Filippija (2011-2102). Tokom ovog stručnog usavršavanja savladava metode obrade signala (postprocessinga) iz raznih oblasti neuroimidžinga i učestvuje kao istraživač na projektu MAGNIMS grupe: “Common Data Set”.

Član je Srpskog lekarskog društva, Srpskog i Evropskog udruženja neuroradiologa i radiologa.

### **Spisak publikovanih radova u celini koji su objavljeni u časopisima sa recenzijom**

RAD U ČASOPISU INDEKSIRANOM U CURRENT CONTENTS – U (CC) ILI SCIENCE CITATION INDEX-U (SCI)

1. Damjanovic D, Valsasina P, Rocca MA, Stromillo ML, Gallo A, Enzinger C, Hulst HE, Rovira A, Muhlert N, De Stefano N, Bisecco A, Fazekas F, Arévalo MJ, Yousry TA, Filippi M; Hippocampal and Deep Gray Matter Nuclei Atrophy Is Relevant for Explaining Cognitive Impairment in MS: A Multicenter Study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2017 Jan;38(1):18-24. doi: 10.3174/ajnr.A4952. Epub 2016 Sep 29
2. Koini M, Filippi M, Rocca MA, Yousry T, Ciccarelli O, Tedeschi G, Gallo A, Ropele S, Valsasina P, Riccitelli G, Damjanovic D, Muhlert N, Mancini L, Fazekas F, Enzinger C; MAGNIMS fMRI Study Group. Correlates of Executive Functions in Multiple Sclerosis Based on Structural and Functional MR Imaging: Insights from a Multicenter Study. *Radiology.* 2016 Mar 22: 151809 (Epub ahead of print).

3. Tillema JM, Hulst HE, Rocca MA, Vrenken H, Steenwijk MD, Damjanovic D, Enzinger C, Ropele S, Tedeschi G, Gallo A, Ciccarelli O, Rovira A, Montalban X, de Stefano N, Stromillo ML, Filippi M, Barkhof F; MAGNIMS Study Group. Regional cortical thinning in multiple sclerosis and its relation with cognitive impairment: A multicenter study. *Mult Scler*. 2015 Oct 2. pii: 1352458515607650. [Epub ahead of print]

4. Rocca MA, Valsasina P, Hulst HE, Abdel-Aziz K, Enzinger C, Gallo A, Pareto D, Riccitelli G, Muhlert N, Ciccarelli O, Barkhof F, Fazekas F, Tedeschi G, Arévalo MJ, Filippi M; MAGNIMS fMRI Study Group. Functional correlates of cognitive dysfunction in multiple sclerosis: A multicenter fMRI Study. *Hum Brain Mapp*. 2014 Dec;35(12):5799-814. doi: 10.1002/hbm.22586. Epub 2014 Jul 18.

5. Rocca MA, Valsasina P, Damjanovic D, Horsfield MA, Mesaros S, Stosic-Opincal T, Drulovic J, Filippi M. Voxel-wise mapping of cervical cord damage in multiple sclerosis patients with different clinical phenotypes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84:35-41.

6. Lavrnjic S, Macvanski M, Ristic-Balos D, Gavrilov M, Damjanovic D, Gavrilovic S, Milicevic M, Skender-Gazibara M, Stosic-Opincal T. Papillary glioneural tumor: unexplored entity. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg*. 2012; 73:224-9.

RAD U ČASOPISU INDEKSIRANOM U SCI. CITAT. INDEX U (SCI) EXPANDED

7. Balos DR, Gavrilovic S, Lavrnjic S, Vasic B, Macvanski M, Damjanovic D, Opincal TS. Proton magnetic resonance spectroscopy and apparent diffusion coefficient in evaluation of solid brain lesions. *Vojnosanit Pregl* 2013; 70: 637-44.

RAD U ČASOPISU INDEKSIRANOM U MEDLINE-U

8. Perić S, Lavrnjic S, Basta I, Damjanovic D, Stošić-Opinčal T, Lavrnjic D. Significance of magnetic resonance imaging in differential diagnosis of nontraumatic brachial plexopathy. *Vojnosanit Pregl*. 2011; 68(4):327-31.

9. Stošić-Opinčal TL, Damjanović DS, Daković MŽ, Gavrilov MS, Vasić BD, Mačvanski MV, Nikolić I, Gavrilović SS. Comparative evaluation of conventional and dynamic magnetic resonance imaging of the pituitary microadenomas. *Acta Chir Jugosl* 2009; 16:37-42.

10. Stošić-Opinćal TL, Mačvanski MV, Gavrilović SS, Gavrilov MS, Damjanović DS, Vasić BD, Grujičić DM. Diffusion and perfusion magnetic resonance imaging in evaluation of primary glial brain tumors. *Acta Chir Jugosl* 2009; 16: 25-30.

CEO RAD U ČASOPISU KOJI NIJE INDEKSIRAN U GORE NAVEDENIM BAZAMA  
PODATAKA

11. Damjanović D, Lavrnić S, Gavrilov M, Vasić B, Mačvanski M, Nikolić I, Stošić-Opinćal T. Magnetic resonance imaging in spinal dural arteriovenous fistula type I: a case report. *RAS* 2010; 15(2):50-3.

12. M. Gavrilov, T. Stošić-Opinćal, S. Lavrnić, M. Daković, I. Nikolić, D. Damjanović. Posterior reversible encephalopathy syndrome in patient with systemic lupus erythematoses: case report and literature review. *RAS*, 2009; 15(1): 11-16.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а \_\_\_\_\_ др. Душан Дамјановић \_\_\_\_\_

број уписа \_\_\_\_\_ NE-02/09 \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

\_\_\_\_\_ "Анализа значаја атрофије и фокалних промена мозга у настанку  
когнитивних оштећења код болесника са мултиплом склерозом" \_\_\_\_\_

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_ 14.06.2017 \_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора др. Душан Дамјановић

Број уписа NE-02/09

Студијски програм Неурологија

Наслов рада "Анализа значаја атрофије и фокалних промена мозга у настанку

когнитивних оштећења код болесника са мултиплом склерозом"  
Ментор Доц. др Шарлота Месарош

Потписани \_\_\_\_\_

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, 14.06.2017



\_\_\_\_\_



Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

“Анализа значаја атрофије и фокалних промена мозга у настанку когнитивних оштећења  
код болесника са мултиплом склерозом”

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, \_\_\_\_\_ 14.06.2017 \_\_\_\_\_



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.