

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Teja MALEŽIČ (KRT)

**ANALIZA MOČI ELEKTROENCEFALOGRAFSKEGA RITMA MU  
PRI BOLNIKIH Z AMIOTROFIČNO LATERALNO SKLEROZO**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**POWER ANALYSIS OF ELECTROENCEPHALOGRAPHIC MU  
RHYTHM IN PATIENTS WITH AMYOTROPHIC LATERAL  
SCLEROSIS**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2015

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija biologije. Nevrološki pregledi bolnikov in vsa elektroencefalografska snemanja so potekala na Kliničnem inštitutu za klinično nevrofiziologijo (KIKN) Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana (UKCL). Računalniška in statistična obdelava podatkov je bila opravljena na KIKN in Nevrološki kliniki UKCL. Slikanja glave z magnetno resonanco pa so bila izvedena na Kliničnem inštitutu za radiologijo (KIR) UKCL.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Blaža Koritnika, dr. med., za recenzenta pa doc. dr. Gregorja Belušiča.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Marko KREFT

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Blaž KORITNIK, dr. med.

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

Član: doc. dr. Gregor BELUŠIČ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška Fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 8. 6. 2015

Podpisana izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Teja Maležič

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 6:616.83:537.635(043.2)=163.6
KG	ALS/EEG/ritem mu/magnetna resonanca/DTI/talamus
AV	MALEŽIČ, Teja
SA	KORITNIK, Blaž (mentor) / BELUŠIČ, Gregor (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI	2015
IN	ANALIZA MOČI ELEKTROENCEFALOGRAFSKEGA RITMA MU PRI BOLNIKIH Z AMIOTROFIČNO LATERALNO SKLEROZO
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	IX, 34 str., 11 pregl., 6 sl., 8 pril., 64 vir.
IJ	Sl
J1	sl/en
AI	Elektroencefalografski ritem mu zaznamo nad senzorimotorično možgansko skorjo. Njegov nastanek spodbuja talamus. Znanstveniki poročajo o zmanjšani moči tega ritma ter o degeneraciji talamičnih nevronov pri bolnikih z amiotrofično lateralno sklerozo (ALS). Namen naloge je preveriti, ali je moč spektra ritma mu pri bolnikih z ALS manjša kot pri zdravih in ali lahko te spremembe uporabimo kot biološki označevalec bolezni. 17 bolnikov smo primerjali z zdravimi kontrolami. EEG snemanja so potekala leže z zaprtimi očmi. Tri zaporedne EEG-je (vsake 3 mesece) smo posneli pri 11 bolnikih. Izvedli smo analizo moči, logaritmično transformirane podatke pa statistično analizirali z metodo analize varianc (ANOVA) s ponovljenimi meritvami in t testom. Pri 12 bolnikih in 12 zdravih preiskovancih smo opravili magnetnoresonančno slikanje možganov. Uporabili smo difuzijsko tenzorsko slikanje (DTI), s katerim smo pridobili slike za ocenitev srednje difuzivnosti (MD) talamusa ter podatke za analizo s programom Tract-Based Spatial Statistics (TBSS) za merjenje sprememb frakcijske anizotropije, srednje, aksialne in radialne difuzivnosti. S T1 obteženim struktturnim slikanjem smo pridobili podatke o prostorninah talamusov. Moč ritma mu je bila pri bolnikih statistično pomembno večja kot pri kontrolah. Z analizo ANOVA s ponovljenimi meritvami z naknadnim testiranjem smo pri bolnikih ugotovili statistično pomembne razlike med 1. in 3. ter 2. in 3. EEG meritvijo. Moč ritma mu se je sprva nekoliko povečala, nato pa zmanjšala. Statistično pomembno se je zmanjšala tudi prostornina talamusov bolnikov v primerjavi s kontrolami. S TBSS in meritvami MD talamusa pa nismo ugotovili razlik. Spremembe moči ritma mu pri bolnikih so lahko posledica sprememb vzdražnosti možganske skorje ter progresivnega propadanja piramidnih celic v korteksu in okvare talamokortikalnih povezav tekom bolezni.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn  
DC UDC 6:616.83:537.635(043.2)=163.6  
CX ALS/EEG/mu rhythm/MRI/DTI/thalamus  
AU MALEŽIČ, Teja  
AA KORITNIK, Blaž (mentor) / BELUŠIČ, Gregor (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology  
PY 2015  
TI POWER ANALYSIS OF ELECTROENCEPHALOGRAPHIC MU RHYTHM IN PATIENTS WITH AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS  
DT Graduation Thesis (University studies)  
NO IX, 34 p., 11 tab., 6 fig., 8 ann., 64 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB EEG mu rhythm is generated over the sensorimotor cortical regions while its pacemaker is thalamus. There are few reports of the decrease of mu power and of thalamic neuron degeneration in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Our aim was to evaluate whether mu rhythm power is decreased in patients with ALS comparing to healthy subjects and whether these changes can be used as a disease marker. 17 ALS patients were compared to healthy controls. EEG was recorded in supine position with eyes closed. Three consecutive recordings were done on 11 of the patients in three months interval. Power analysis was performed and log transformed data were statistically analyzed (ANOVA repeated measures, t test). MRI brain scans were performed on 12 of the patients to compare with healthy controls. Diffusion tensor imaging (DTI) was used to assess thalami mean diffusivity (MD) and to run Tract-Based Spatial Statistics (TBSS) for fractional anisotropy, mean, radial and axial diffusivity. Volumetric measurements of thalami were obtained from T1-weighted images. Mu rhythm power was significantly increased in patients compared to controls. ANOVA repeated measures with post hoc testing showed significant differences between 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup>, and 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> EEG recording. Mu rhythm power initially slightly increased and then decreased. We observed significantly reduced thalami volumes in patients but we found no significant changes with TBSS and in thalami MD. Changes in mu rhythm power in patients could be due to modified cortex excitability, progressive degeneration of pyramid cells in cortex and of thalamocortical pathways impairment in the disease course.

## KAZALO VSEBINE

	str.
<b>Ključna dokumentacijska informacija (KDI)</b>	III
<b>Key Words Documentation (KWD)</b>	IV
<b>Kazalo vsebine</b>	V
<b>Kazalo preglednic</b>	VI
<b>Kazalo slik</b>	VII
<b>Kazalo prilog</b>	VIII
<b>Okrajšave in simboli</b>	IX
1 UVOD	1
1.1 O BOLEZNI	1
1.2 OPREDELITEV PROBLEMA	2
<b>1.2.1 Elektroencefalografija</b>	2
1.2.1.1 Ritem mu	4
<b>1.2.2 Magnetnoresonančno (MR) slikanje</b>	5
1.2.2.1 Princip MR slikanja	5
1.2.2.2 Strukturno MR slikanje	5
1.2.2.3 Difuzijsko MR slikanje	6
<b>1.2.3 Pregled objav</b>	7
1.3 CILJI NALOGE	8
1.4 HIPOTEZE	8
2 PREISKOVANCI IN METODE	9
2.1 PREISKOVANCI	9
2.2 METODE	9
<b>2.2.1 Funkcijske sposobnosti bolnikov</b>	9
<b>2.2.2 Snemanje EEG in analiza podatkov</b>	10
<b>2.2.3 MR slikanje glave in analiza podatkov</b>	12
3 REZULTATI	15
3.1 OSNOVNI PODATKI PREISKOVANCEV IN REZULTATI FUNKCIJSKIH TESTOV	15
3.2 REZULTATI ANALIZ EEG	17
3.3 REZULTATI ANALIZ SLIKANJA DTI	20
4 RAZPRAVA	23
5 SKLEPI	26
6 POVZETEK	27
7 VIRI	29
7.1 CITIRANI VIRI	29
7.2 DRUGI VIRI	34
<b>ZAHVALA</b>	
<b>PRILOGE</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1:	11
Preglednica 2:	15
Preglednica 3:	16
	Rezultati zaporednih primerjav seštevkov testov funkcijskih sposobnosti
Preglednica 4:	17
	Srednje vrednosti in SD absolutnih in logaritmično transformiranih absolutnih podatkov za možganska ritma alfa in beta bolnikov in zdravih preiskovancev
Preglednica 5:	18
	Rezultati za ocenitev primernosti moči ritma mu kot diagnostični označevalec
Preglednica 6:	18
Preglednica 7:	20
Preglednica 8:	21
Preglednica 9:	21
Preglednica 10:	21
	Korelacija EEG moči ritma mu z MD talamusov pri bolnikih in zdravih preiskovancih
Preglednica 11:	22
	Korelacija EEG moči ritma mu s prostornino talamusov pri bolnikih in zdravih preiskovancih

## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Možganski ritem mu	4
Slika 2: Mednarodni sistem namestitve elektrod 10-20	10
Slika 3: Prikaz interesne regije (ROI) za izračun MD talamusov	14
Slika 4: Časovno spremeljanje seštevka točk testov funkcijskih sposobnosti	16
Slika 5: Spreminjanje ritma alfa po regijah skozi čas	19
Slika 6: Prikaz rezultatov FA z metodo TBSS	20

## KAZALO PRILOG

- Priloga A: Dopis Komisije Republike Slovenije za medicinsko etiko
- Priloga B: Izjava o zavestni in svobodni privolitvi sodelajočih v raziskavi
- Priloga C: Edinburška lestvica ročnosti
- Priloga D: Norrisova funkcijnska lestvica prizadetosti
- Priloga E: Dopolnjena funkcijnska ocenjevalna lestvica za bolnike z ALS
- Priloga F: Modificirana Ashworthova lestvica spastičnosti
- Priloga G: Breme zgornjega motoričnega nevrona
- Priloga H: Kratek preizkus spoznavnih sposobnosti

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

KIKN	Klinični inštitut za klinično nevrofiziologijo
UKCL	Univerzitetni klinični center Ljubljana
KIR	Klinični inštitut za radiologijo
ALS	amiotrofična lateralna skleroza
EEG	elektroencefalogram, elektroencefalografija
Hz	herc
SM	senzorimotorična
QEEG	kvantitativni EEG (quantitative EEG)
$\mu$	grška črka mu
MR	magnetnoresonančno, magnetna resonanca
MRI	magnetnoresonančno slikanje (magnetic resonance imaging)
DTI	difuzijsko tenzorsko slikanje (diffusion tensor imaging)
ADC	navidezni difuzijski koeficient (apparent diffusion coefficient)
$\lambda$	velikost lastne vrednosti (lambda)
AD	aksialna difuzivnost (axial diffusivity)
RD	radialna difuzivnost (radial diffusivity)
MD	srednja difuzivnost (mean diffusivity)
$\text{mm}^2 / \text{s}$	kvadratni milimeter na sekundo
FA	frakcijska anizotropija (fraction anisotropy)
ALSFRS-R	Dopolnjena funkcijска ocenjevalna lestvica za bolnike z ALS
ANOVA	analiza varianc (analysis of variance)
Ag / AgCl	srebro/srebrov klorid
kOhm	kilo ohm (upornost)
EKG	elektrokardiogram
FFT	Fourierova transformacija (Fast Fourier Transformation)
$\mu\text{V}^2$	mikro volt na kvadrat
TBSS	program za statistično analizo DTI slik (Tract-Based Spatial Statistics)
ROI	interesna regija (region of interest)
SD	standardna deviacija

## 1 UVOD

### 1.1 O BOLEZNI

Amiotrofična lateralna skleroza (ALS) je napredajoča degenerativna bolezen, ki prizadene predvsem motorične živčne celice v možganski skorji (zgornji motorični nevroni) ter možganskem deblu in hrbtenjači (spodnji motorični nevroni). Beseda amiotrofičnost pomeni usahlost mišic oz. zmanjšanje mišične mase, poimenovanje lateralna skleroza pa se nanaša na brazgotinjenje v stranskih delih hrbtenjače.

Motorične živčne celice, ki so pri ALS okvarjene, so potrebne za izvedbo gibov. Ko propadajo, postanejo mišice, ki jih oživčujejo, usahle in šibke, po propadu vseh pa ohromele. Najbolj tipično se bolezen pokaže z žariščno prizadetostjo mišic v enem od udov ali bulbarnih mišic (mišice jezika, žrela in grla). Šibkost se nato postopoma širi na sosednje mišice, nazadnje pa prizadene mišice vsega telesa, vključno s trebušnima preponama. Slednje je tudi smrtno. Drugi pomembni znaki bolezni so počasnost in nespretnost gibov, utrudljivost, spastično zvečan mišični tonus, mišični krči in trzljaji v mišicah (fascikulacije). Kakovost življenja pa poslabšajo tudi druge težave, ki niso neposredna posledica šibnosti mišic: depresija, motnje spanja, zaprtje, čezmerno slinjenje, bolečina. Polovico bolnikov z ALS prizadene tudi kognitivne funkcije (izvršitvene sposobnosti) (Kiernar in sod., 2011).

Prevalenca bolezni je 5 – 8 bolnikov na 100.000 prebivalcev, incidenca pa 1,5 - 3 bolnike na 100.000 prebivalcev letno (Chio in sod., 2013). Pogosteje obolevajo moški, pogostost bolezni pa narašča s starostjo. Povprečna starost bolnikov ob začetku bolezni je 63 let (Kirbiš in sod., 2015), zbolevajo pa tudi mlajši od 40 in starejši od 90 let. Bolezen ALS je smrtna, povprečno preživetje po začetku pojavljanja simptomov je 2 leti in pol (Traxinger in sod., 2013). Preživetje je od bolnika do bolnika precej različno; nekateri umrejo v nekaj mesecih, 25 % bolnikov preživi več kot 5 let, 10 % pa več kot 10 let. Z boljšo skrbjo za bolnike se je preživetje bolnikov v zadnjih dveh desetletjih nekoliko zvečalo.

Z izjemo dednih oblik vzroki za nastanek ALS niso znani. Hipotez o vzrokih je mnogo. Dejstvo je, da se programirana celična smrt (apoptoza) pri degenerativnih boleznih aktivira prezgodaj. Danes prevladuje mnenje, da je ALS pravzaprav bolezenski sindrom, pri katerem razni pripojeni in pridobljeni vzroki po različnih poteh na koncu povzroče odmrtje motoričnih živčnih celic. Dedno obliko ima približno 5 % bolnikov. Vpletenih je več kot 30 genov, najpogostejsi pa so: C9ORF72, SOD1, TDP43 in FUS (Kiernan in sod., 2011).

Zdravila, ki bi bolezen pozdravilo, ni. Od leta 1995 je na voljo riluzol (glutamatni antagonist), ki življenjsko dobo bolnika podaljša za nekaj mesecev. Zdravljenje je torej simptomatsko, na kakovost življenja bolnikov in njihovih svojcev pa izdatno vpliva blažilno oz. paliativno zdravljenje. Pri tem sodelujejo strokovnjaki različnih strok: logopedi, dietetiki, psihologi, socialni delavci, fizioterapevti, zdravniki, delovni terapevti, sodelavci hospica, medicinske sestre idr. Gre za multidisciplinarni pristop, ki se začne z načinom sporočanja diagnoze in konča s svetovanjem svojcem po smrti bolnika (Radunović in sod., 2007).

## 1.2 OPREDELITEV PROBLEMA

Človeški možgani predstavljajo enega najbolj zapleteno zgrajenih bioloških sistemov, katerega delovanje določa tudi kompleksnost našega vedenja. Nove tehnologije so omogočile, da je na voljo vse več in več novih in izpopolnjenih metod za proučevanje delovanja človekovih možganov. Te vključujejo invazivne in neinvazivne pristope. Za klinične raziskave so sprejemljivejši slednji.

### 1.2.1 Elektroenzefalografska tehnika

Elektroenzefalografska tehnika (EEG) je eden od neinvazivnih pristopov za vpogled v delovanje človeških možganov. Celice v možganski skorji s svojim delovanjem ustvarjajo električno aktivnost, ki jo je mogoče odjeti s kože na glavi. Gre za spontano električno aktivnost, ki ustvarja različna ritmična valovanja. Grafični prikaz teh potencialov imenujemo elektroenzefogram (EEG). Ritmične oscilacije, ki jih generirajo kortikalni nevroni,

delimo glede na njihovo frekvenco valovanja, mesto njihovega nastanka v možganski skorji in vedenjski kontekst, ki jih pogojuje (Nunez in Srinivasan, 2006).

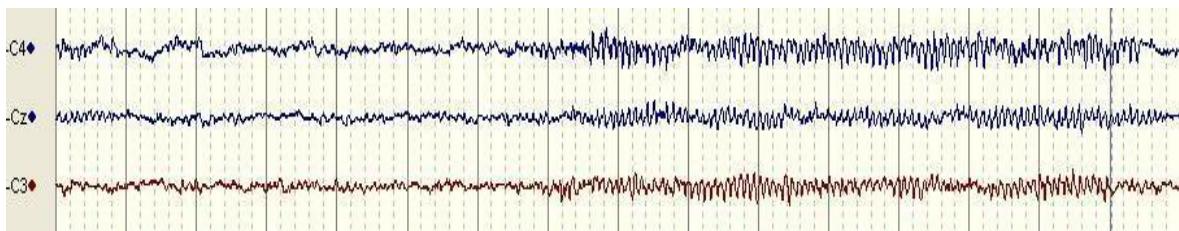
Najpočasnejši ritem, ki ga odjamemo na rutinski način, je ritem delta. Frekvenca valovanja tega ritma je od 1 do 4 Hz. Normalen je za novorojence in majhne otroke, pri odraslih pa se pojavlja le med globokim spanjem. Nekoliko hitrejši, od 4 do 8 Hz, je ritem theta. Ritem alfa ima frekvenco od 8 do 13 Hz. Javlja se na več mestih na skalpu. Najizrazitejši oz. z največjo močjo je v zatilju nad vidno možgansko skorjo. Zelo očiten je ob zaprtih očeh, moč pa se mu, paradoksno, zmanjša ob odprtih, ko vidna skorja obdeluje informacije. Ritem alfa nad senzorimotorično (SM) možgansko skorjo imenujemo tudi rolandični ali ritem mu (Andrew in Pfurtscheller, 1997). Tretja vrsta ritma alfa se javlja nad parietalno možgansko skorjo. Nad vsemi predeli skorje pa se ob aktivnosti pojavi ritem beta, katerega frekvenčni obseg je med 13 in 30 Hz. Ločimo počasnejši (od 13 – 21 Hz) in hitrejši ritem beta (od 21 – 30 Hz). Tistega, odjetega nad SM možgansko skorjo, imenujemo rolandični ritem beta. Hitrejši od tega je še ritem gama, katerega frekvence so višje od 30 Hz (Nunez in Srinivasan, 2006).

EEG se spreminja s starostjo preiskovanca, tudi glede na to, ali je preiskovanec buden ali spi. Različen in značilen pa je tudi v različnih fazah spanja. Kot smo že omenili, pa nanj odločilno vpliva tudi, ali je določen predel skorje aktiven ali miruje. Spremembe v EEG povzročijo tudi bolezni možganov: upočasni se frekvenca ritmov, pojavijo se na neznačilnih mestih, lahko se zveča amplituda, v nekaterih primerih (kap, tumor) se lahko pojavijo še žariščni počasnejši ritmi, nekatere EEG spremembe so značilne za epilepsijo (npr. trni, kompleksi trn-val).

V zadnjih desetletjih so razvili številne načine kvantifikacije EEG (kvantitativni EEG - QEEG). Mednje spada tudi spektralna analiza EEG. Z njo je mogoče signal EEG razstaviti na posamezna frekvenčna območja in jim določiti moč.

### 1.2.1.1 Ritem mu

Ritem mu ali senzorimotorični oz. rolandični ritem alfa nosi ime po grški črki mu ( $\mu$ ), ki mu je podobna po obliki (slika 1). To valovanje je podobno tudi glavniku, zašiljeno je na eni in oblo na drugi strani. Pojavlja se nad obema možganskima poloblama. Nad levo SM skorjo ima valovanje povprečno frekvenco 10 Hz nad desno pa 9,5 Hz. Podobno kot se zgodi z ritmom alfa v zatilju, ki se zmanjša med delovanjem vidne skorje (odprte oči), se moč ritma mu zmanjša med gibanjem, četudi je le-to samo zamišljeno (Pfurtscheller in Berghold, 1989; Höller in sod., 2013).



Slika 1: Možganski ritem mu; centralne elektrode - C4, Cz, C3 (arhiv EEG laboratorija, KIKN)

Ritmovnik ali spodbujevalec ritma mu je v ventro-posteriornem jedru talamusa, ki je posrednik prenosa impulzov somatosenzoričnih poti. Ritmovnika parietalnega in zatilnega ritma alfa pa sta v drugem delu talamusa (lateralno genikulatno jedro in pulvinar). Talamus je parno živčno jedro v globini možganov. Pravijo mu tudi »vrata do možganske skorje«, saj deluje kot posrednik prenosa večine senzoričnih dražljajev do ustrezne dela možganske skorje. Delimo ga na ventralni talamus, katerega največji del je retikularno jedro, in dorzalnega, katerega sestavlajo senzorična jedra. Do teh pride senzorična informacija ali neposredno iz receptorjev (npr. lateralno in medialno genikulatno jedro ter ventro-posteriorno jedro) ali pa so informacije pred tem že obdelane (pulvinar, posteriorno jedro). Živčni impulzi, ki sinhronizirajo aktivnost piramidnih celic vidne in somatosenzorične možganske skorje in s tem povzročijo ritmično spreminjanje električne napetosti v njej, se iz talamusa v skorjo prenesejo preko talamo-kortikalnih povezav. Kar odjamemo z na skalpu postavljenimi elektrodami, odraža ritmično spreminjačo se električno aktivnost piramidnih celic v možganski skorji (Kropotov, 2009).

## 1.2.2 Magnetnoresonančno (MR) slikanje

### 1.2.2.1 Princip MR slikanja

To je tehnika, s katero lahko prostorsko odvisnost obnašanja atomskih jader vodika v magnetnem polju prikažemo kot dvodimenzionalno sliko. Vodikova jedra se v organizmu največkrat pojavljajo vezana s kisikom v molekulah vode (Pagani in sod., 2008).

Za slikanje uporabljamo princip magnetne resonance, ki izkorišča vektorsko količino atomov – magnetni moment. Vsak posamezni magnetni moment vodikov v zunanjem magnetnem polju precesira (način gibanja pod vplivom zunanjega navora, os vrtenja ne miruje) okrog smeri zunanjega magnetnega polja. Frekvenca precesije je premo sorazmerna gostoti zunanjega magnetnega polja. Če gostoti magnetnega polja dodamo gradient in vzbudimo jedra s signalom, v katerem so zastopane vse frekvence, ter ta postopek ponavljamo v različnih smereh, s pomočjo računalnika dobimo dvodimenzionalno sliko (Vlaardingerbroek in Boer, 2003). Poenostavljeni povedano, ta metoda izrablja dejstvo, da se atomska jedra obnašajo podobno magnetni igli – magnetnici. Tako kot se magnetna igla v magnetnem polju postavi v smeri polja, se tudi atomi v zelo močnem magnetnem polju uredijo. Magnetnice lahko z ustrezno motnjo prisilimo v neke vrste kroženje, da se vrtijo kot vrtavka. Pri tem je hitrost vrtenja sorazmerna z močjo magnetnega polja. Vsaka vrteča se magnetnica pa inducira električno napetost. Z občutljivimi instrumenti lahko izmerimo, kakšna je inducirana napetost, in iz tega izračunamo, kakšna je porazdelitev teh atomov v tkivu (Mali, 2000).

### 1.2.2.2 Strukturno MR slikanje

Metoda, pri kateri z magnetno resonanco prikažemo zgradbo bioloških struktur, se imenuje strukturno MR slikanje. Temelji na različnem času relaksacije vzbujenih atomov. Govorimo o T1 in T2 relaksacijskem času in tako o dveh različno obteženih struktturnih slikanjih. Radiofrekvenčno valovanje protone v atomih odkloni od magnetnega polja in rotirajo sinhrono – v fazi. Ko pa radiofrekvenčnega valovanja ni, se ti poravnajo z magnetnim poljem, faza pa se izgubi oz. desinhronizira. T1 relaksacijski čas je določen kot čas povrnitve magnetnega polja atomov vzdolž magnetne osi. Snovi, kot so holesterol in

druge maščobe, methemoglobin in melanin, imajo visoko jakost signala T1 obteženega slikanja. Možgansko belino na slikah torej vidimo svetlo, sivino sivo, cerebrospinalno tekočino pa temno. T2 relaksacijski čas pa je odvisen od spremembe v fazi protonov. T2 obtežene slike tekočine pokažejo svetle (Cross, 2009).

### 1.2.2.3 Difuzijsko MR slikanje

Ena od naprednejših aplikacij magnetne resonance je t. i. difuzijsko MR slikanje. Z njo dobimo vpogled v prostorsko usmerjenost poteka živčnih poti s pomočjo merjenja smeri in hitrosti difuzije vode. Govorimo o difuzijski izo- in anizotropiji, torej o odvisnosti od smeri gibanja vodnih molekul. Difuzijo v splošnem »poganja« Brownovo gibanje. V izotropnem mediju se vodne molekule gibljejo naključno in neodvisno ter sčasoma dosežejo obliko sfere, v anizotropnem mediju pa obliko elipsoida. Te oblike pa lahko matematično opišemo s tenzorji. Metodo takšnega zajemanja in analize signala imenujemo slikanje difuzijskih tenzorjev (diffusion tensor imaging – DTI). Difuzijo lahko tako določimo v vsakem vokslu slikanega tkiva. V človeških možganih so izo- in anizotropni mediji. Cerebrospinalna tekočina je izotropni medij, zato se v njej vodne molekule gibljejo v vseh smereh, dokler se ne zaletijo ali pa prečkajo celične membrane. Prvotni difuzijski koeficient, ki opisuje neovirano difuzijo vodnih molekul, se zato spremeni v navideznega (apparent diffusion coefficient – ADC). Meritev ponovimo iz več različnih smeri, saj je ADC odvisen od smeri merjenja – difuzija je hitrejša v smeri aksonov in počasnejša pravokotno nanje. Za vsak elipsoid v posameznem vokslu slike lahko s tenzorji opišemo velikost ADC tako, da seštejemo vse tri, ki opisujejo obliko elipsoida ( $x$ ,  $y$  in  $z$ ), ter seštevek delimo s tremi (Jones, 2011).

Drugačen pogled nam predstavijo lastni vektorji difuzijskih tenzorjev (eigenvectors) in njihove dolžine – lastne vrednosti (eigenvalues), ki jih označujemo z grško črko lambda ( $\lambda$ ). Najdaljši lastni vektor, ki kaže v smeri aksona, je  $\lambda_1$ , druga dva manjša pa imata dolžini  $\lambda_2$  in  $\lambda_3$ . Vsak vektor je merilo difuzije v svoji smeri. Difuzijo v smeri najdaljšega lastnega vektorja ( $\lambda_1$ ) imenujemo aksialna difuzivnost (axial diffusivity, AD), povprečje difuzij  $\lambda_2$  in  $\lambda_3$  pa radialna difuzivnost (radial diffusivity, RD). Kot merilo pa je zelo uporabna tudi srednja difuzivnost (mean diffusivity, MD). Enota difuzivnosti je  $\text{mm}^2 / \text{s}$ .

Poleg difuzivnosti pa nam uporaben podatek predstavlja tudi stopnja anizotropije v posameznem vokslu – frakcijska anizotropija (fractional anisotropy, FA). Vrednosti FA se gibljejo od 0 do 1, pri čemer 0 pomeni povsem izotropično difuzijo, 1 pa povsem anizotropično. Z DTI pridobljene podatke lahko uporabimo za traktografijo ter druge statistične primerjave difuzivnosti določenih interesnih regij. Iz teh rezultatov lahko razberemo spremembe strukture možganske beline in možganskih povezav (Jones, 2008).

### 1.2.3 Pregled objav

Mai (1998) in Santhosh (2005) s sodelavci sta pri bolnikih z ALS ugotovila statistično pomembno manjšo moč ritma mu (izraziteje levo) kot pri zdravih mirujočih preiskovancih, ki so imeli med EEG snemanjem zaprte oči. Pri drugih možganskih ritmih pa razlik med bolniki in zdravimi preiskovanci ni bilo. To je ugotovila tudi Bizovičarjeva s sodelavci (2014). Njeni preiskovanci so sedeli in imeli odprte oči. Izvajali so motorično nalogo. Analizirali so tiste odseke EEG, med katerimi so preiskovanci mirovali. Glede na to, da je močnostni spekter možganskih ritmov sorazmeren številu sinhrono aktivnih nevronov (Jones in sod., 2009), sta prvi dve skupini raziskovalcev zmanjšanje moči pri bolnikih pojasnili s propadom piramidnih celic v SM možganski skorji. Le-te so namreč generatorji EEG (Bollimunta in sod., 2011). Zanimivo je, da se je nad centralnimi predeli zmanjšal le močnostni spekter ritma alfa, ne pa beta. Tudi za ritem beta naj bi veljalo, da ga neposredno generirajo velike piramidne kortikalne celice. Vzrok, da v moči ritma beta niso ugotovili sprememb, so lahko razlike v mehanizmih nastanka ritmov alfa in beta na celični ravni (Jones in sod., 2009).

Že študije na zdravih preiskovancih so pokazale, da je delovanje talamus preko kortikotalamičnih zank tesno povezano z možganskim ritmom alfa (Schreckenberger in sod., 2004). Sharma s sodelavci (2013) je s pomočjo DTI ugotovil degeneracijo talamičnih nevronov pri bolnikih. Podobne spremembe je z metodo protonske magnetnoresonančne spektroskopije opisal že leta 2011 (Sharma in sod., 2011). Druge raziskovalne skupine poročajo o tanjšanju primarne motorične skorje (Verstraete in sod., 2012) in degeneraciji kortikomotoričnih poti (Rose in sod., 2012) pri bolnikih. Te povezave so za obstoj

možganskega ritma alfa nujne. Bede s sodelavci (2013) pa opozarja, da subkortikalne strukture sivine ne smejo izostati iz nadalnjih raziskav pri iskanju biomarkerja za ALS.

### 1.3 CILJI NALOGE

Cilji naloge so sledeči:

- žeeli smo potrditi izsledke raziskovalnih skupin, ki navajajo statistično pomembno zmanjšano moč ritma mu pri bolnikih z ALS v primerjavi z ustreznimi zdravimi preiskovanci;
- do sedaj je bilo ugotovljeno, da imajo bolniki v primerjavi z zdravimi preiskovanci kot skupina statistično pomembno zmanjšano moč tega spektra. Žeeli smo ugotoviti, v kolikšni meri je takšen izvid mogoče ugotoviti pri posameznih bolnikih;
- žeeli smo ugotoviti, ali se moč spektra mu z napredovanjem bolezni zmanjšuje ali ostaja enaka;
- žeeli smo ugotoviti tudi, ali k spremembi moči EEG spektra mu poleg degeneracije kortikalnih piramidnih celic pripomorejo tudi degenerativni procesi v talamusu.

### 1.4 HIPOTEZE

Postavili smo štiri hipoteze, skladne s cilji naloge:

- moč možganskega ritma mu bo pri skupini bolnikov zmanjšana v primerjavi s skupino zdravih preiskovancev;
- zmanjšanje moči ritma mu se bo tudi pri posameznih bolnikih statistično pomembno razlikovalo od skupine zdravih preiskovancev;
- moč ritma mu se bo pri bolnikih tekom bolezni zmanjševala;
- parametri DTI slikanja v področju talamusa se bodo pri bolnikih razlikovali od zdravih preiskovancev.

## 2 PREISKOVANCI IN METODE

### 2.1 PREISKOVANCI

V študijo smo vključili 17 bolnikov in 17 po starosti in spolu ustreznih zdravih preiskovancev, od tega 11 moških in 6 žensk. Izključitveni kriteriji za sodelujoče so bile druge nevrološke bolezni oz. okvare, srčno popuščanje in sladkorna bolezen.

Vsem bolnikom smo vsaj enkrat posneli EEG, enajstim pa trikrat v razmiku vsaj treh mesecev. Pri dvanajstih smo opravili tudi MR slikanje glave. Zdravih preiskovancev nismo preiskali večkrat, pač pa smo vsem sedemnajstim EEG posneli enkrat, dvanajstim od teh pa še MR glave.

Raziskavo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko (Priloga A). Vsi sodelujoči so podpisali izjavo o sodelovanju (Priloga B).

Vzporedno je na KIKN potekala tudi genetska raziskava določevanja mutacij na genih SOD1, TARDBP, FUS in C9ORF72 (Vrabec in sod., 2015). Vanjo je bila vključena tudi večina sodelujočih preiskovancev iz naše naloge. V tabeli 2 je navedeno število bolnikov, ki so bolezen podedovali.

### 2.2 METODE

Bolnikom smo izmerili funkcjske sposobnosti, posneli EEG in jim slikali možgane z magnetno resonanco. Pri zdravih preiskovancih funkcjskih sposobnosti nismo preverjali, pač pa smo samo določili dominantno roko z Edinburško lestvico ročnosti (The Edinburgh Inventory; Oldfield, 1971; Priloga C).

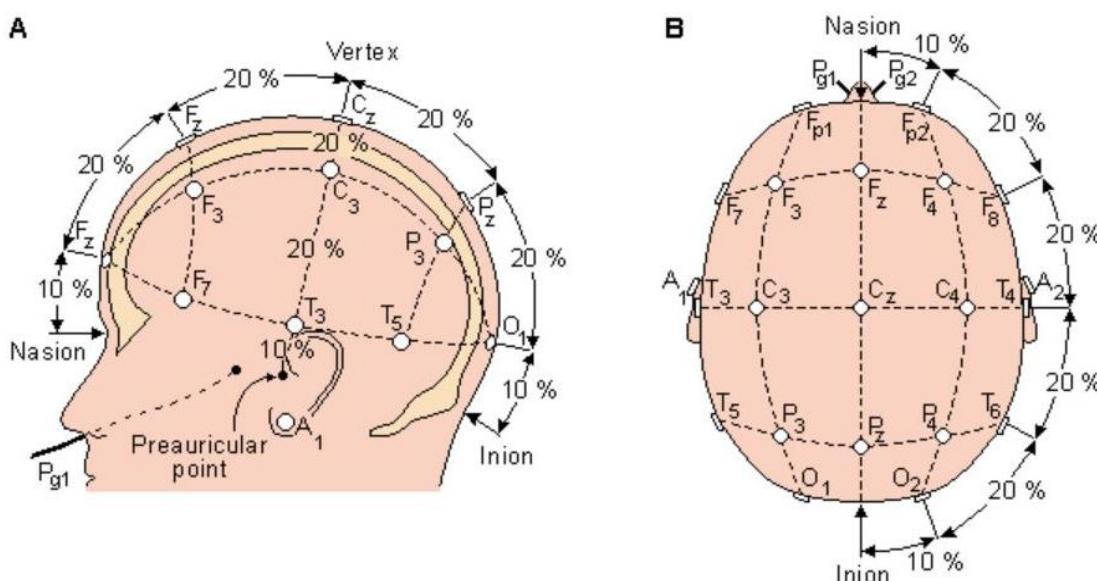
#### 2.2.1 Funkcijske sposobnosti bolnikov

Ob vsakem obisku na kliniki smo bolnikove gibalne sposobnosti ocenili z Norrisovo funkcjsko lestvico prizadetosti (The Forbes Norris Clinical ALS Rating Scale; Brooks,

1994; priloga D), Dopolnjeno funkcionalno ocenjevalno lestvico za bolnike z ALS (The revised ALS Functional Rating Scale – ALSFRS-R; Cedarbaum in sod., 1999; priloga E), Modificirano Ashworthovo lestvico spastičnosti (Modified Ashworth Scale; Bohannon in Smith, 1987; priloga F) in lestvico Breme zgornjega motoričnega nevrona (Turner in sod., 2004; priloga G). Za določitev dominantne roke smo, enako kot pri zdravih preiskovancih, uporabili Edinburško lestvico ročnosti. Bolnike smo testirali še s Kratkim preizkusom spoznavnih sposobnosti (Mini-mental state; Granda in sod., 2003; Folstein in sod., 1975; priloga H). Rezultate testov smo beležili v tabele. Ponavlajoče smo statistično analizirali z metodo analize varianc s ponovljenimi meritvami (repeated measures ANOVA), nekatere seštevke testov pa uporabili tudi kot korelacijski element.

### 2.2.2 Snemanje EEG in analiza podatkov

Preiskovancem smo najprej na ušesno mečico pričvrstili referenčni elektrodi. Nato smo jim na glavo namestili elektrodno kapo z 21 Ag/AgCl elektrodami, razporejenimi po mednarodnem sistemu 10-20 (Pg1, Pg2, Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, Fz, T3, T4, T5, T6, C3, C4, Cz, P3, P4, Pz, O1, O2; slika 2).



Slika 2: Mednarodni sistem namenitve elektrod 10-20: (A) pogled z leve, (B) pogled z zgornje strani glave. A = ušesni mečici, C = centralne elektrode, F = frontalne elektrode, Fp = prefrontalni elektrodi, O = okcipitalni elektrodi, P = parietalne elektrode, Pg = nazofaringealni elektrodi, T = temporalne elektrode; (prirejeno po Sharbrough in sod., 1991)

Za zmanjšanje elektrodne upornosti smo skozi luknjice v elektrodah na kapi vbrizgali elektrodni gel, na ušesnih mečicah pa smo upornost zmanjšali z abrazivno pasto. Impedance na elektrodah so bile vedno nižje od 5 kOhmov. Na zapestje smo pričvrstili elektrode za snemanje elektrokardiograma (EKG). Med snemanjem so bili preiskovanci budni. 12 bolnikov je ležalo na preiskovalni postelji z zaprtimi očmi, pet pa jih je sedelo. Vsi zdravi preiskovanci so med snemanjem ležali. Snemali smo 20 minut. Signale smo ojačali s predajačevalnikom in ojačevalnikom (Natus Nicolet M40), na ekranu pa smo jih spremajali z računalniškim programom Study Room (Natus Nicolet) v referenčni montaži in shranili za nadaljnjo obdelavo. Frekvenca vzorčenja je bila 256 Hz.

Osnovne delovne podatke EEG snemanja smo v edf+ formatu uvozili v program Brain Vision Analyser (Brain Products GmbH). Za analizo smo izbrali povprečno referenco ter posnetke filtrirali (spodnji 1,5 Hz, zgornji 70 Hz ter ozkopasovni filter). Nato smo v vsakem posameznem posnetku izbrali 40 trosekundnih odsekov, ki niso vsebovali artefaktov. Te smo uporabili v izračunu Fourierove transformacije (FFT) in v posameznih izbranih frekvenčnih območjih (preglednica 1) določili moč (enota:  $\mu\text{V}^2$ ). Slednje podatke smo za nadaljnjo statistično obdelavo uvozili v program Microsoft Office Excel.

Preglednica 1: Frekvenčna območja možganskih ritmov

možganski ritem	frekvenčno območje (Hz)
delta	1 – 3,75
theta	4 – 7,75
alfa	8 – 12,75
beta	13 – 29,75
gama	> 30

EEG podatke posameznih preiskovancev smo uredili v tabele (vrednosti moči posamezne frekvence na elektrodo). Te vrednosti so predstavljale absolutne podatke. Za izračun relativnih smo seštevek absolutnih podatkov na posamezni elektrodi delili s posameznim absolutnim podatkom. Nato smo na vsaki elektrodi za vsak možganski ritem sešteli (absolutne in relativne) moči določenih frekvenc ter uredili še tabelo seštevkov (absolutnih in relativnih) moči za vsak možganski ritem na skupini elektrod (frontalna regija: F7, F3, Fz, F4, F8; centralna regija: C3, Cz, C4; parietalna regija: P3, Pz, P4; okcipitalna regija: O1, O2; globalno: vse naštete elektrode). Za zagotovitev normalne porazdelitve smo

zadnje vrednosti še logaritmično transformirali (John in sod., 1980). Pri absolutnih podatkih smo uporabili enačbo (1), pri čemer je  $x$  seštevek absolutnih moči na skupini elektrod, pri relativnih pa enačbo (2), kjer  $x$  predstavlja seštevek relativnih moči na skupini elektrod posameznega možganskega ritma.

$$\log_{10}(x) \quad \dots (1)$$

$$\log_{10}(x / 1 - x) \quad \dots (2)$$

Za časovno spremeljanje sprememb moči ritma mu smo logaritmično transformirane absolutne in relativne podatke alfe v centralni regiji bolnikov primerjali s kontrolami. Uporabili smo t test dveh neodvisnih vzorcev, za odpravljanje problema večkratnih primerjav pa Holm-Bonferronijevo metodo (Holm, 1979).

Ritem mu smo primerjali tudi s funkcijskimi testi. Korelacije smo računali tako z logaritmično transformiranimi absolutnimi, kot tudi logaritmično transformiranimi relativnimi podatki.

V programu GraphPad Prism (Prism 5 for Windows) smo z ANOVA s ponovljenimi meritvami primerjali zaporedne EEG meritve. Za naknadni (post hoc) test smo izbrali Bonferronijevo metodo, pri ugotavljanju normalne porazdelitve, ki je pri metodi ANOVA nujna (da se ne pojavijo lažno pozitivni rezultati), pa smo uporabili Shapiro-Wilkov test normalnosti (Shapiro in Wilk, 1965).

### 2.2.3 MR slikanje glave in analiza podatkov

Magnetnoresonačno slikanje je potekalo na aparatu Magnetom Trio 3T (Siemens Healthcare). Preiskovanci so pred začetkom snemanja odložili vse kovinske predmete in se leže namestili na mizo aparata. Čez glavo smo jim nato namestili Siemenovo 32 kanalno tuljavo, podatke pa zajemali z računalniškim programom Syngo MR B19 (Siemens Healthcare). Snemanje je trajalo 50 minut, protokol snemanja pa je bil naslednji: 1. localizer (lokализiranje mesta snemanja), 2., 3. in 4. struktturna snemanja (T1, T2 in FLAIR, 192 rezin debeline 1 mm), 5. DTI (67 rezin debeline 2x2x2, 64 smeri difuzije, B1=1500),

6. in 7. BOLD (funkcijska magnetna resonanca, 43 rezin debeline 3mm, 136 ponovitev). Sámo snemanje je vsebovalo več različnih tehnik, za nadaljnjo obdelavo pa smo ob tej študiji uporabili slike DTI in T1 snemanja, zato drugih v uvodu ne opisujemo.

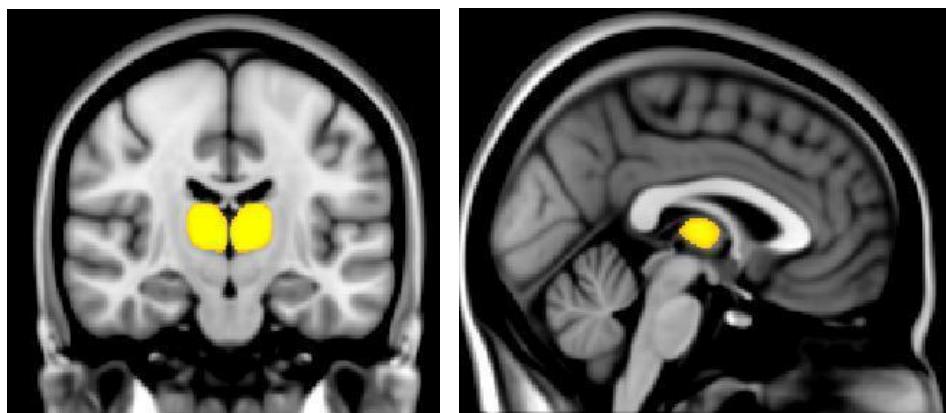
Vseh 24 slik DTI smo najprej posamično vizualno pregledali s programskim orodjem FSLView (FMRIB Software Library - FSL 5.0, The University of Oxford; Jenkinson in sod., 2012). Zaradi prevelikega popačenja smo dve izločili (eno sliko bolnika in eno sliko zdravega preiskovanca). Nadalje smo z uporabo BET (Brain Extraction Tool; Smith, 2002) odstranili nemožganske strukture in ustvarili možganske maske, v programu ExploreDTI (Leemans in sod., 2009) pa najprej popravili manjša izkrivljanja in artefakte, nastale zaradi premikov ob snemanju, nato pa pridobili vrednosti za FA, MD, RD in AD.

Za primerjavo mer difuzivnosti med bolniki in zdravimi preiskovanci smo uporabili metodo na traktih osnovane prostorske statistike, TBSS (Tract-Based Spatial Statistics; Smith in sod., 2006). TBSS omogoča primerjavo vseh voksovog ogradja bele možganovine brez predhodnega določanja interesnih regij. Statistično analizo smo izpeljali z orodjem za neparametrično permutacijsko sklepanje randomise (Winkler in sod., 2014). Vrednosti difuzivnosti bolnikov in zdravih preiskovancev smo primerjali s t testom med dvema neodvisnima skupinama.

Za ocenitev velikosti MD talamusov smo s pomočjo atlasa subkortikalnih struktur Harvard-Oxford (FSL produkt<sup>1</sup>; Jenkinson in sod., 2012) ustvarili parne bilateralne interesne regije talamusov (region of interest, ROI; slika 3). Povprečne MD vrednosti talamusov smo pridobili z nanašanjem MD slik bolnikov in zdravih preiskovancev na ROI. Vrednosti MD smo izmerili za desni in levi talamus, kot tudi povprečno vrednost obeh talamusov. Za statistično analizo smo uporabili t test dveh neodvisnih vzorcev.

---

<sup>1</sup> javno dostopen na <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>



Slika 3: Prikaz interesne regije (ROI) za izračun MD talamusov;

Volumetrijo talamusa smo izvedli na 24 T1 obteženih posnetkih. Z orodjem FIRST (Patenaude in sod., 2011) smo ocenili prostornine levega in desnega talamusa ter skupno prostornino kot seštevek volumnov levega in desnega. Tudi tu smo za statistično analizo uporabili t test dveh neodvisnih vzorcev.

### 3 REZULTATI

#### 3.1 OSNOVNI PODATKI PREISKOVANCEV IN REZULTATI FUNKCIJSKIH TESTOV

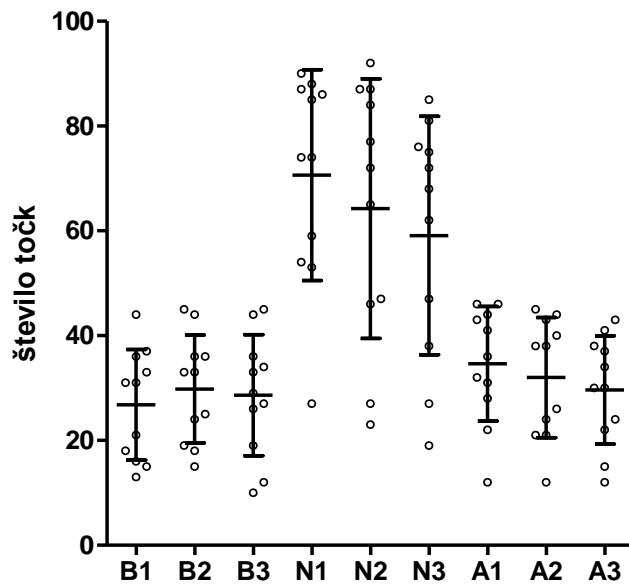
Osnovni podatki bolnikov in zdravih preiskovancev so zbrani v preglednici 2, slika 4 pa predstavlja časovno spremeljanje seštevka točk treh testov funkcijskih sposobnosti.

Preglednica 2: Osnovni podatki bolnikov in zdravih preiskovancev

	ALS <sup>a</sup> (N = 17)	KON <sup>b</sup> (N = 17)
	srednja vrednost (SD)	
starost v letih	60 (9)	60 (10)
spol M/Ž	11 / 6	11 / 6
trajanje bolezni v mesecih	32 (19)	/
začetek bolezni bulbarni/spinalni	1 / 16	/
mutacije genov za ALS negativni/z mutacijami/ni podatka	12 / 2 / 3	/
preizkus ročnosti desnični/levični	17 / 0	15 / 2
Kratek preizkus spoznavnih sposobnosti	N = 12 29,9 (0,3)	/

<sup>a</sup> ALS – bolniki

<sup>b</sup> KON – zdravi preiskovanci



Slika 4: Časovno spremeljanje seštevka točk testov funkcijskih sposobnosti. B – Breme zgornjega motoričnega nevrona, N – Norrisova funkcijска lestvica prizadetosti, A – ALSFRS-R, 1,2,3 – zaporedno število EEG snemanja. Večje število točk predstavlja manjšo (N, A) oz. večjo (B) stopnjo prizadetosti. V grafu so s črtami predstavljene srednje vrednosti in standardne deviacije.

Statistično pomembne (ANOVA s ponovljenimi meritvami) so bile razlike pri Norrisovi funkcijski lestvici prizadetosti in ALSFRS-R (preglednica 3).

Preglednica 3: Rezultati zaporednih primerjav seštevkov testov funkcijskih sposobnosti

funkcijkska lestvica	ANOVA s ponovljenimi meritvami	naknadni test <sup>a</sup>
Breme zgornjega motoričnega nevrona	n.s.	/
Norrisova funkcijkska lestvica prizadetosti	**	* med 1. in 3. merjenjem
ALSFRS-R	**	* med 1. in 3. merjenjem
Modificirana Ashworthova lestvica spastičnosti	n.s.	/

<sup>a</sup> uporabljena Bonferronijeva metoda, n.s. – ni signifikantne razlike,  $p < 0,05$ ;

### 3.2 REZULTATI ANALIZ EEG

V preglednici 4 so zbrani absolutni in logaritmično transformirani absolutni podatki preiskovancev. Predstavljeni so za možganska ritma alfa in beta v frontalni, centralni, parietalni, okcipitalni regiji ter globalno. Razlike med logaritmično transformiranimi absolutnimi vrednostmi bolnikov in njihovih kontrol so dosegle statistično pomembnost le v alfa spektru in sicer v frontalni, centralni in parietalni regiji. Vse absolutne vrednosti moči ritmov so večje pri bolnikih v primerjavi z zdravimi preiskovanci.

Preglednica 4: Srednje vrednosti in SD absolutnih in logaritmično transformiranih absolutnih podatkov za možganska ritma alfa in beta bolnikov ter zdravih preiskovancev

možganski ritem	regija	ALS bolniki (n = 17)				kontrole (n = 17)				ALS : KON	
		absolutna moč ( $\mu\text{V}^2$ )		log trans. absolutna moč		absolutna moč ( $\mu\text{V}^2$ )		log trans. absolutna moč		log trans. absolutna moč	
		sr. v.	SD	sr. v.	SD	sr. v.	SD	sr. v.	SD	t test <sup>a</sup>	
alfa	frontalna	47,43	48,30	1,48	0,40	16,69	16,34	1,09	0,30	*	0,01
	centralna	17,32	16,35	1,06	0,39	7,30	7,03	0,72	0,32	*	0,01
	parietalna	42,64	41,89	1,39	0,48	13,00	13,03	0,95	0,35	*	0,01
	okcipitalna	79,01	92,87	1,58	0,56	19,15	18,18	1,09	0,41	n.s.	0,03
	globalna	186,40	191,52	2,03	0,47	56,14	53,57	1,60	0,34	n.s.	0,06
beta	frontalna	22,34	13,11	1,29	0,22	15,53	9,64	1,11	0,26	n.s.	0,08
	centralna	10,04	7,47	0,91	0,25	7,72	4,80	0,81	0,25	n.s.	0,07
	parietalna	10,90	8,30	0,95	0,26	7,86	4,02	0,83	0,24	n.s.	0,07
	okcipitalna	13,99	9,65	1,05	0,27	7,31	3,85	0,81	0,22	n.s.	0,16
	globalna	57,28	34,34	1,69	0,23	38,42	17,43	1,53	0,22	n.s.	0,24

<sup>a</sup> dveh neodvisnih vzorcev, n.s. – ni signifikantno, za odpravljanje problema večkratnih primerjav je uporabljena Holm-Bonferronijeva metoda;

Za ocenitev primernosti moči ritma mu kot diagnostični marker bolezni ALS smo določili, koliko meritev moči ritma mu bolnikov zasede mesto izven intervala moči ritma mu zdravih preiskovancev. Za računanje smo izbrali logaritmično transformirane absolutne podatke. Interval smo določili kot srednjo vrednost moči ritma mu zdravih preiskovancev  $\pm 2$  standardni deviaciji. Rezultati so zbrani v preglednici 5.

Preglednica 5: Rezultati za ocenitev primernosti moči ritma mu kot diagnostični označevalec

kontrole	bolniki	št. meritev izven intervala
sr. v. 0,7200	1. merjenje	3
2 SD 0,6804	2. merjenje	3
interval od 0,0396 do 1,4004	3. merjenje	1

Časovno spremeljanje sprememb moči ritma mu je prikazano v preglednici 6. Moč ritma mu je pri bolnikih pri vseh treh merjenjih večja od moči ritma mu zdravih preiskovancev. Signifikantne razlike (t test) smo ugotovili pri primerjavi prvega in drugega merjenja bolnikov s kontrolami (uporabljeni so logaritmično transformirani absolutni podatki).

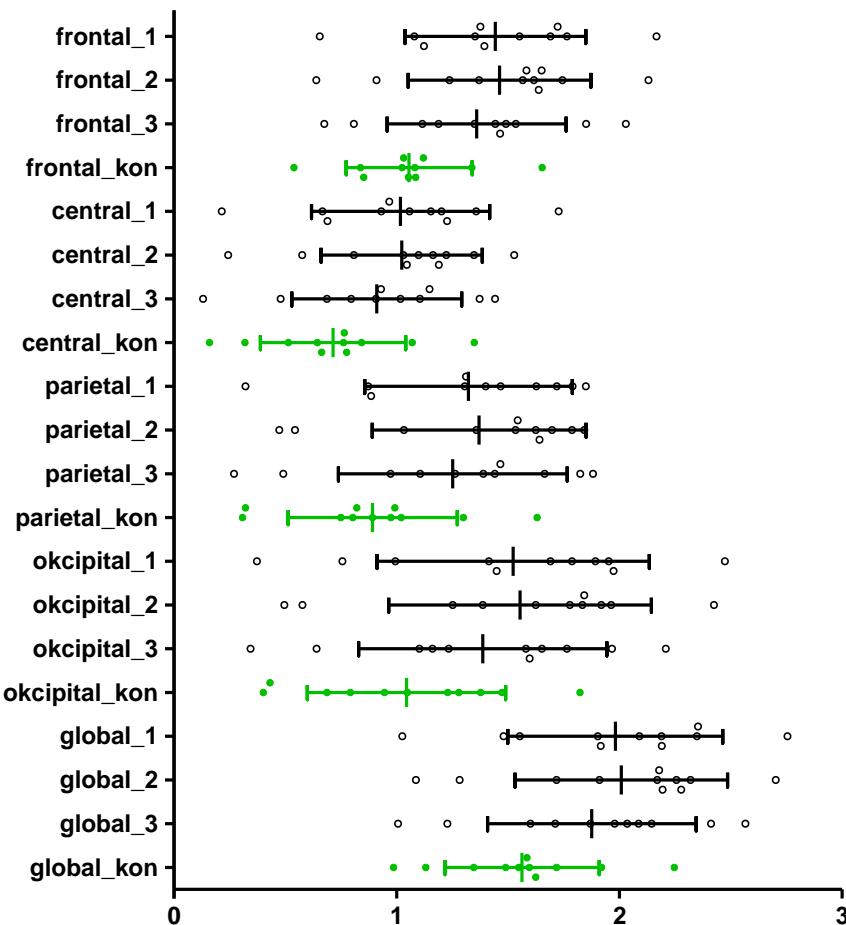
Preglednica 6: Časovno spremeljanje moči ritma mu

	log transformirani absolutni podatki	ALS : KON t test <sup>a</sup>	
1. merjenje (n=17)	sr. v. 1,06 SD 0,39	0,019	*
2. merjenje (n=15)	sr. v. 1,09 SD 0,40	0,005	*
3. merjenje (n=11)	sr. v. 0,91 SD 0,35	0,211	n.s.

<sup>a</sup> dveh neodvisnih vzorcev, n.s. – ni signifikantno, za odpravljanje problema večkratnih primerjav je uporabljena Holm-Bonferronijeva metoda;

Povprečne absolutne vrednosti moči so bile ob drugem merjenju večje glede na prvo (čeprav razlika ni bila signifikantna), ob tretjem merjenju pa so bile manjše tako od prvega kot od drugega, od zdravih preiskovancev pa se niso pomembno razlikovale. Zaporedne EEG meritve smo med seboj primerjali z metodo ANOVA s ponovljenimi meritvami in ugotovili, da so se statistično pomembne razlike pri logaritmično transformiranih absolutnih podatkih pojavile le v ritmu alfa in sicer v frontalnih [ $F(2,20) = 3.550$ ,  $p = 0.0479$ ], centralnih [ $F(2,20) = 5.411$ ,  $p = 0.0132$ ], okcipitalnih predelih [ $F(2,20) = 8.384$ ,  $p = 0.0023$ ] in globalno [ $F(2,20) = 5.410$ ,  $p = 0.0132$ ]. Z Bonferronijevim naknadnim testom pa smo ugotovili signifikantne razlike: med prvim in tretjim ter med drugim in tretjim merjenjem v centralni in okcipitalni regiji ter med drugim in tretjim merjenjem globalno.

Grafični prikaz spremenjanja ritma alfa po regijah skozi čas je predstavljen na sliki 5 (uporabljeni so logaritmično transformirani absolutni podatki).



Slika 5: Spreminjanje ritma alfa po regijah skozi čas; kon, v zeleni barvi – zdravi preiskovanci, 1,2,3 – zaporedno število EEG snemanja bolnikov. V grafu so s črtami predstavljene srednje vrednosti in standardne deviacije.

Korelacije med močjo ritma mu (uporabljeni so logaritmično transformirani absolutni podatki) in funkcijskimi testi (Breme zgornjega motoričnega nevrona, Norrisova funkcijска lestvica prizadetosti, ALSFRS-R) niso bile statistično pomembne (preglednica 7).

Preglednica 7: Korelacija EEG moči ritma mu s funkcijskimi testi

r	B1	B2	B3	N1	N2	N3	A1	A2	A3
bolniki	0,50	0,48	0,52	-0,42	-0,19	-0,15	-0,48	-0,37	-0,49

p	B1	B2	B3	N1	N2	N3	A1	A2	A3
bolniki	0,12	0,13	0,10	0,20	0,57	0,67	0,13	0,26	0,13

r – koreacijski koeficient

B – Breme zgornjega motoričnega nevrona

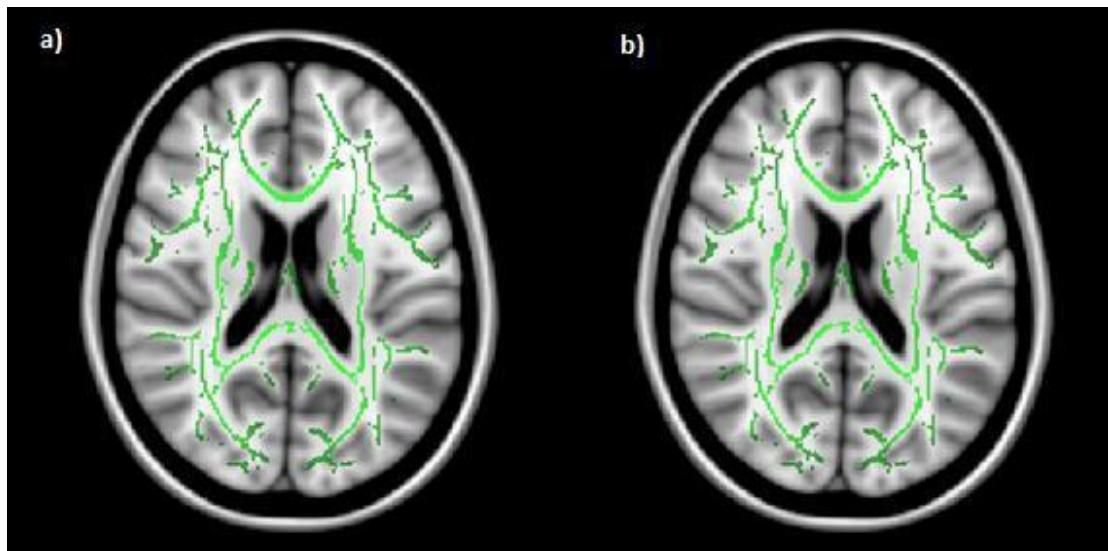
N – Norrisova funkcijска lestvica prizadetosti

A – ALSFRS-R

1,2,3 – zaporedno število EEG snemanja

### 3.3 REZULTATI ANALIZ SLIKANJA DTI

Za FA, MD, AD in RD z metodo TBSS nismo ugotovili nobenih statistično pomembnih razlik med bolniki in zdravimi preiskovanci v nobenem delu ogrodja bele možganovine (slika 6), prav tako tudi ne za MD vrednosti talamusov (preglednica 8).



Slika 6: Prikaz rezultatov FA z metodo TBSS; a) bolniki > kontrole, b) bolniki < kontrole;  
obarvano področje predstavlja ogrodje bele možganovine; zelena barva = p > 0,05, rdeča = p < 0,05;

Preglednica 8: Srednje vrednosti MD talamusov

preiskovanci		sr. v. ( $\text{mm}^2/\text{s}$ )	SD	t test <sup>a</sup>	
celotni	ALS	0,0008633	0,0000915		
talamus	KON	0,0008780	0,0000551	0,6164	n.s.
levi	ALS	0,0008790	0,0000880		
talamus	KON	0,0008699	0,0000729	0,7196	n.s.
desni	ALS	0,0008474	0,0000998		
talamus	KON	0,0008862	0,0000605	0,3171	n.s.

<sup>a</sup> dveh neodvisnih vzorcev, n.s. – ni signifikantno,  $p < 0,05$ ;

Z volumetričnimi meritvami talamusov smo ugotovili manjšo prostornino talamusov pri bolnikih v primerjavi s kontrolno skupino. Razlika je bila statistično pomembna (preglednica 9).

Preglednica 9: Srednje vrednosti prostornine talamusov

preiskovanci		sr. v. (št. vokslov)	SD	t test <sup>a</sup>	
celotni	ALS	14572,2	1076,4		
talamus	KON	15869,9	1388,0	0,0064	*
levi	ALS	7403,9	516,3		
talamus	KON	8133,4	649,6	0,0029	*
desni	ALS	7168,3	574,5		
talamus	KON	7736,5	762,7	0,0177	*

<sup>a</sup> dveh neodvisnih vzorcev, za odpravljanje problema večkratnih primerjav smo uporabili Holm-Bonferronijevo metodo;

Korelacje med močjo ritma mu (logaritmično transformirani absolutni podatki) in MD vrednostmi talamusov ter med močjo ritma mu in volumetričnimi vrednostmi talamusov niso pokazale statistično pomembnih razlik (preglednici 10 in 11).

Preglednica 10: Korelacija EEG moči ritma mu z MD talamusov pri bolnikih in zdravih preiskovancih

r	levi talamus	desni talamus	talamus
ALS	0,30	0,21	0,26
KON	-0,20	0,02	-0,12
p	levi talamus	desni talamus	talamus
ALS	0,36	0,53	0,44
KON	0,56	0,95	0,73

r – korelacijski koeficient, ALS – bolniki, KON – zdravi preiskovanci

Preglednica 11: Korelacija EEG moči ritma mu s prostornino talamusov pri bolnikih in zdravih preiskovancih

r	levi talamus	desni talamus	talamus
ALS	-0,03	-0,11	-0,07
KON	0,36	0,38	0,38

p	levi talamus	desni talamus	talamus
ALS	0,93	0,73	0,83
KON	0,24	0,22	0,22

r – korelacijski koeficient, ALS – bolniki, KON – zdravi preiskovanci

## 4 RAZPRAVA

Rezultati naše raziskave kažejo, da moč možganskega ritma mu pri skupini bolnikov v primerjavi s skupino zdravih preiskovancev ni zmanjšana, temveč signifikantno zvečana. To je v nasprotju z najdbami Maia (1998), Santhosha (2005) in Bizovičarjeve (2014) s sodelavci. Podrobneje naši rezultati kažejo zvečanje moči spektra mu od prvega do drugega snemanja, ob tretjem pa njegovo normalizacijo.

Santhosh in sodelavci (2005) so, podobno kot mi, EEG snemali, ko so preiskovanci mirovali z zaprtimi očmi. Bizovičarjeva pa je pregledala in za nadaljnjo obdelavo izbrala odseke EEG med hotenimi njuhi oziroma krčenji palca v času, ko so preiskovanci mirovali z odprtimi očmi. Ker so naloge na enak način izvajali tako bolniki kot zdravi preiskovanci, je malo verjetno, da je drugačna vrsta naloge razlog za razlike v rezultatih med našo študijo in raziskavo Bizovičarjeve (2014).

Razlog za zvečanje moči spektra mu v naši raziskavi bi lahko bila zvečana vzdražnost motorične možganske skorje, kar so ugotovili z različnimi raziskovalnimi metodami (Mills in Nithi, 1997; Prout in Eisen, 1994; Desiato in Caramia, 1997, Eisen in sod., 1993; Ziemann in sod., 1997; Nardone in sod., 2005). Zvečano vzdražnost so zanesljivo ugotovili predvsem v zgodnjih stadijih bolezni, kasneje se je zmanjševala proti vrednostim zdravih preiskovancev ali je postala celo manjša (Menon in sod., 2015; Vucic in sod., 2009). To zmanjšanje bi lahko razložili s progresivnim propadanjem motoričnih nevronov v možganski skorji tekom bolezni (Geevasinga in sod., 2014). Na podoben način so zvečanje amplitude potenciala pripravljenosti v zgodnjih fazah bolezni in kasneje njegovo zmanjševanje pojasnili Bizovičarjeva in sodelavci (2013).

Možna razloga za opisano razliko so razlike v mestih najhujše prizadetosti (bulbarna/spinalna oblika). Meritve moči spektra mu smo opravili na elektrodah, ki ležijo nad predeli motorične skorje za zgornje ude, zato bi pričakovali največje spremembe pri bolnikih, ki imajo klinično v ospredju okvaro zgornjih udov. Bulbarne mišice so v motorični skorji reprezentirane bolj ventralno in jih z našo analizo v večji meri nismo

zajeli. Podatkov o deležu bolnikov z bulbarno oz. spinalno obliko bolezni v ostalih člankih na to temo ni.

Opisujejo, da se ritem mu pojavlja pri do 20 % zdravih odraslih ljudeh. Verjamejo pa, da ga imajo vsi, vendar ga pri večini ne moremo izmeriti na skalpu (Niedermeyer, 1997). Velika variabilnost moči ritma mu že pri zdravih odraslih je najbrž glavni razlog, da se rezultati opisanih študij med seboj bistveno razlikujejo. Število preiskovancev, vključenih v posamezno študijo, je bilo verjetno premajhno, da bi doseglo ustrezeno statistično moč. Velika variabilnost moči spektra mu med posameznimi preiskovanci je tudi zadosten razlog, da so imeli le trije naši bolniki statistično pomembno večjo moč spektra mu v primerjavo s skupino zdravih preiskovancev. Zato moč spektra mu ni klinično pomemben biološki označevalec ALS.

V naši raziskavi nismo našli povezave med merami funkcijске prizadetosti bolnikov in močjo spektra mu. Funkcijski testi merijo predvsem mišično moč in spremnost, ki sta odvisni od stopnje okvare tako zgornjih kot spodnjih motoričnih nevronov, spremenjanje moči spektra mu pa je verjetno odvisno od drugih patofizioloških procesov (kot na primer od spremenjanja vzdražnosti motorične skorje), ki so lahko povezani z različnimi okvarami. Najpomembnejša od teh je propadanje inhibitornih celic korteksa, lahko pa k temu pripomore tudi okvara zgornjih, ne pa spodnjih motoričnih nevronov.

Pomembno zvečanje moči centralnega spektra mu v naši raziskavi in pomembno zmanjšanje v ostalih treh raziskavah (Mai in sod., 1998; Santhosh in sod., 2005; Bizovičar in sod., 2014) bi bilo možno pojasniti z manjšo funkcijsko prizadetostjo in trajanjem bolezni pri naših bolnikih. Vendar pa so bili bolniki v raziskavi Bizovičarjeve v dokaj podobnem stadiju bolezni. Trajanje bolezni je bilo v omenjenih študijah krajše.

Ugotovili smo, da je prostornina talamusov bolnikov v primerjavi z zdravimi preiskovanci statistično pomembno manjša. Nismo pa ugotovili sprememb povezav med talamusom in sezorimotorično skorjo, saj nismo odkrili razlik v merah povezovalnosti talamusa. Talamus preko povezav z motorično skorjo namreč spodbuja ritem mu (Kropotov, 2009). Propad talamokortikalnih povezav zmanjša moč ritma alfa (Schreckenberger in sod., 2004). Po

možganski kapi v talamu nad istostransko možgansko poloblo niso zaznali ritma alfa (Hammond in sod., 1982). Različni avtorji so opisali zmanjšanje prostornine in FA ter povečanje MD in funkcijске konektivnosti talamusov (Bede in sod., 2013; Sharma in sod., 2013, Douaud in sod., 2011). To je, poleg napredajočega propadanja kortikalnih piramidnih celic, lahko vzrok za zmanjševanje moči spektra mu z napredovanjem bolezni.

V naši študiji smo odkrili statistično pomembne razlike v moči spektra mu, ne pa centralnega ritma beta. Eden od razlogov za to je lahko prizadetost talamusa, ki je spodbujevalec spektra mu, ne pa tudi spektra beta (Hari in sod., 1997). Neposredni generatorji možganskih EEG ritmov pa so piramidne celice, ki ležijo v možganski skorji; različne populacije teh celic v različnih plasteh skorje lahko generirajo različne ritme. Ronnqvistova je s sodelavci (2013) na primer ugotovila, da piramidne celice v 2. in 3. plasti motorične možganske skorje generirajo ritma mu in beta, piramidne celice v peti plasti pa le ritem beta.

## 5 SKLEPI

- V nasprotju z zastavljenou hipotezo smo namesto zmanjšanja odkrili povečanje moči ritma mu. Verjeten razlog za to je povečana vzdražnost motorične možganske skorje. Zavrnemo prvo hipotezo.
- EEG ritem mu zaradi velike variabilnosti ni uporaben kot diagnostični označevalec za ALS. Zavrnemo drugo hipotezo.
- Moč ritma mu se z napredovanjem bolezni spreminja. Najprej opazimo zvečanje, ki mu sledi zmanjšanje. Na samo dinamiko verjetno vpliva več parametrov. Tretjo hipotezo potrdimo z zavedanjem, da je spremenjanje moči ritma mu tekom bolezni kompleksen proces.
- Zmanjšanje prostornine talamusov bolnikov po vsej verjetnosti pripomore k zmanjšanju moči ritma mu tekom bolezni. Potrjujemo zadnjo hipotezo z zavedanjem, da so bile spremembe med bolniki in zdravimi preiskovanci statistično pomembne le za prostornino talamusov, ne pa za parametre DTI.

## 6 POVZETEK

Amiotrofična lateralna skleroza (ALS) je napredajoča degenerativna bolezen zgornjih in spodnjih motoričnih nevronov. Prevalenca bolezni je 5 – 8 bolnikov na 100.000 prebivalcev, incidenca pa 1,5 – 3 bolnike na 100.000 prebivalcev letno. Pogosteje obolevajo moški, pogostost bolezni pa narašča s starostjo. Povprečna starost bolnikov ob začetku bolezni je 63 let, zbolevajo pa tudi mlajši od 40 in starejši od 90 let. Bolezen ALS je smrtna, povprečno preživetje po začetku simptomov je 2,5 let. Vzroki za nastanek ALS z izjemo dednih oblik niso znani, učinkovitega zdravila, ki bi odpravilo vzrok bolezni, ni.

Za vpogled v delovanje in strukturo človeških možganov znanstveniki uporabljajo nove tehnologije – za klinične raziskave sprejemljivejše neinvazivne tehnike. Dve od teh sta elektroencefalografija (EEG) in magnetno resonančno slikanje (MRI) oz. njegove izpeljanke (struktурно MR slikanje, difuzijsko tenzorsko slikanje – DTI).

Z EEG odjemamo šibke električne signale možganskih celic, ki oscilirajo in tako ustvarjajo možganske ritme. V povezavi z boleznijo ALS je ključnega pomena ritem alfa in sicer centralni ritem alfa – ritem mu. Odjamemo ga nad senzorimotorično možgansko skorjo z razponom v frekvenci med 8 in 13 Hz. Njegovo moč zmanjša gibanje, četudi le zamišljeno. Raziskovalne skupine navajajo statistično pomembno manjšo moč ritma mu pri bolnikih z ALS v primerjavi z zdravimi preiskovanci.

Struktурno MR slikanje (T1 in T2 obteženo slikanje) je ena pomembnih metod za prikaz zgradbe bioloških struktur. Z njo dobro razločimo spremembe beline in sivine možganov. Z DTI pa dobimo vpogled v prostorsko usmerjenost poteka vlaken bele možganovine s pomočjo merjenja smeri in hitrosti difuzije vode. Meritve vključujejo parametre, kot so: frakcijska anizotropija (FA) ter srednja (MD), radialna (RD) in aksialna (AD) difuzivnost. Že študije na zdravih preiskovancih so pokazale, da je thalamus preko kortikotalamičnih zank tesno povezan z možganskim ritmom mu. Nekatere raziskave potrjujejo degeneracijo talamičnih nevronov in kortikomotoričnih poti pri bolnikih, pa tudi tanjšanje primarne motorične skorje.

V študijo smo vključili 17 bolnikov in 17 po starosti in spolu ustreznih zdravih preiskovancev, od tega 11 moških in 6 žensk. Vsem smo enkrat posneli EEG, enajstim bolnikom pa trikrat v časovnem razmiku vsaj treh mesecev. Pri dvanajstih bolnikih in ustrezačih zdravih preiskovancih smo opravili tudi MR slikanje možganov. Bolnike smo testirali z lestvicami funkcijskih sposobnosti (Norrisova funkcijска lestvica prizadetosti, ALSFRS-R, Modificirana Ashworthova lestvica spastičnosti, Breme zgornjega motoričnega nevrona, Kratek preizkus spoznavnih sposobnosti).

EEG podatke smo uporabili za spektralno analizo, s katero smo določili moč posameznih možganskih ritmov. Logaritmično transformirane podatke moči smo statistično analizirali z metodo analize varianc (ANOVA) s ponovljenimi meritvami. DTI slike smo analizirali s programom Tract-Based Spatial Statistics (TBSS), s katerim smo izmerili spremembe frakcijske anizotropije, srednje, aksialne in radialne difuzivnosti v celotnem ogrodju bele možganovine. S pomočjo atlasa subkortikalnih možganskih struktur smo ustvarili bilateralne interesne regije (region of interest, ROI) talamusov in določili povprečne vrednosti MD talamusov. Z orodjem FIRST pa smo na T1 obteženih slikah ocenili prostornine talamusov. Pri vseh slikovnih metodah smo za statistično analizo uporabili t test dveh neodvisnih vzorcev.

Moč ritma mu je pri bolnikih statistično pomembno zvečana v primerjavi s kontrolami. ANOVA s ponovljenimi meritvami je z naknadnim testom pokazala statistično pomembne razlike med 1. in 3. ter 2. in 3. EEG snemanjem pri bolnikih z zvečanjem in nato zmanjšanjem moči ritma mu tekom bolezni. Ugotovili smo tudi zmanjšanje prostornine talamusov bolnikov v primerjavi z zdravimi preiskovanci. TBSS in MD talamusa nista pokazali statistično pomembnih razlik.

V nasprotju z zastavljenou hipotezo smo namesto zmanjšanja odkrili povečanje moči ritma mu. Verjeten razlog za to je povečana vzdražnost motorične možganske skorje. Moč ritma mu se z napredovanjem bolezni spreminja. Najprej opazimo zvečanje, ki mu sledi zmanjšanje. Na samo dinamiko verjetno vpliva več parametrov. EEG ritem mu zaradi velike variabilnosti ni uporaben kot diagnostični označevalec za ALS. Zmanjšanje prostornine talamusov bolnikov po vsej verjetnosti pripomore k zmanjšanju moči ritma mu tekom bolezni.

## 7 VIRI

### 7.1 CITIRANI VIRI

- Andrew C., Pfurtscheller G. 1997. On the existence of different alpha band rhythm in the hand area o man. *Neuroscience Letters*, 222, 2: 103-106
- Bede P., Elamin M., Byrne S., McLaughlin R.L., Kenna K., Vajda A., Pender N., Bradley D.G., Hardiman O. 2013. Basal ganglia involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, 81, 24: 2107-2115
- Bizovičar N., Dreo J., Koritnik B., Zidar J. 2014. Decreased movement-related beta desynchronization and impaired post-movement beta rebound in amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical Neurophysiology*, 125: 1689-1699
- Bizovičar B., Koritnik B., Zidar I., Dreo J., Zidar J. 2013. Movement-related cortical potentials in ALS increase at lower and decrease at higher upper motor neuron burden scores. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*, 14: 380-389
- Bohannon R.W., Smith M.B. 1987. Interrater reability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Physical Therapy - APTA*, 67, 2: 206-207
- Bollimunta A., Mo J., Schroeder C.E., Ding M. 2011. Neuronal mechanisms and attentional modulation of corticothalamic alpha oscillations. *The Journal of Neuroscience*, 31, 13: 4935-4943
- Brooks B.R. 1994. The Norris ALS score: insight into the natural history of amyotrophic lateral sclerosis provided by Forbes Norris. V: *ALS – From Charcot to the present and into the future – The Forbes H. Norris (1928 – 1933) Memorial Volume*. Rose F.C. (ed.). London: Smith – Gordon: 131-146
- Cedarbaum J.M., Stambler N., Malta E., Fuller C., Hilt D., Thurmond B., Nakanishi A. 1999. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessment of respiratory function. BDNF ALS Study Group (Phase III). *Journal of the Neurological Sciences*, 169, 1-2: 13-21
- Chio A., Logroscino G., Traynor B.J., Collins J., Simeone J.C., Goldstein L.A., White L.A. 2013. Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the published literature. *Neuroepidemiology*, 42, 2: 118-130

- Cross J. 2009. Principles of MRI. *Advances in clinical neuroscience & rehabilitation*, 9, 1: 29-31
- Desiato M.T., Caramia M.D. 1997. Towards a neurophysiological marker of amyotrophic lateral sclerosis as revealed by changes in cortical excitability: distinguishing characteristic of amyotrophic lateral sclerosis by using cortical stimulation. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 105: 1-7
- Douaud G., Filippini N., Knight S., Talbot K., Turner M.R. 2011. Integration of structural and functional magnetic resonance imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 134: 3470-3479
- Eisen A., Pant B., Stewart H. 1993. Cortical excitability in amyotrophic lateral sclerosis: a clue to pathogenesis. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 20: 11-16
- Folstein M.F., Folstein S.E., McHugh P.R. 1975. »Mini-mental state« A practical method for grading the cognitive state of patients for clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12: 189-198
- Geevasinga N., Menon P., Yiannikas C., Kiernan M.C., Vucic S. 2014. Diagnostic utility of cortical excitability studies in amyotrophic lateral sclerosis. *European Journal of Neurology*, 21: 1451-1457
- Granda G., Mlakar J., Vodušek D.B. 2003. Kratek preizkus spoznavnih sposobnosti – umerjanje pri preiskovancih, starih od 55 do 75 let. *Zdravniški vestnik*, 72, 10: 575-581
- Hammond E.J., Wilder B.J., Ballinger W.E. 1982. Electro physiologic recordings in a patient with discrete unilateral thalamic infarction. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 45: 640-643
- Hari R., Salmelin R., Mäkelä J., Salenius S., Helle M. 1997. Magnetoencephalographic cortical rhythms. *International Journal of Psychophysiology*, 26: 51-62
- Höller Y., Bergmann J., Kronbichler M., Crone J.S., Schmid E.V., Thomschewski A., Butz K., Schütze V., Höller P., Trinka E. 2013. Real movement vs. motor imagery in healthy subjects. *International Journal of Psychophysiology*, 87, 1: 35-41
- Holm S. 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6, 2: 65-70
- Jenkinson M., Beckmann C.F., Behrens T.E., Woolrich M.W., Smith S.M. 2012. FSL. *NeuroImage*, 62, 2: 782-790

- John E.R., Ahn H., Prichep L., Trepelin M., Brown P., Kaye H. 1980. Developmental equation for the electroencephalogram. *Science*, 210: 1255-1258
- Jones D.K. 2008. Studying connections in the living human brain with diffusion MRI. *Cortex*, 44: 936-952
- Jones D.K. 2011. Diffusion MRI: theory, methods and applications. 1<sup>st</sup> edition. New York, Oxford University Press: 784 str.
- Jones S.R., Pritchett D.L., Sikora M.A., Stufflebeam S.M., Hämäläinen M., Moore C.I. 2009. Quantitative analysis and biophysically realistic neural modelling of the MEG mu rhythm: rhythmogenesis and modulation of sensory-evoked responses. *Journal of Neurophysiology*, 102, 6: 3554-3572
- Kiernan M.C., Vucic S., Cheah B.C., Turner M.R., Eisen A., Hardiman O., Burrell J., Zoing M.C. 2011. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*, 377, 9769: 942-955
- Kirbiš M., Koritnik B., Leonardis L., Dolenc Grošelj L., Klinar P., Ristić Kovačič S., Zidar J. 2015. Amyotrophic lateral sclerosis in Slovenia – analysis of patient population at the Ljubljana institute of clinical neurophysiology. *Zdravniški vestnik*, v tisku
- Kropotov J.D. 2009. Quantitative EEG, event-related potentials and neurotherapy. 1<sup>st</sup> edition. San Diego, CA, Academic Press, Elsevier: 600 str.
- Leemans A., Jeurissen B., Sijbers J., Jones D.K. 2009. ExploreDTI: a graphical toolbox for processing, analysing and visualizing diffusion MR data. In: 17<sup>th</sup> annual meeting of Intl Soc Mag Reson Med, Hawaii, USA, stran 3537
- Mai R., Facchetti D., Micheli A., Poloni M. 1998. Quantitative electroencephalography in amyotrophic lateral sclerosis. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 106, 4: 383-6
- Mali T. 2000. Kako pogledati v človeško telo, ne da bi ga razrezali? Kvarkadabra – društvo za tolmačenje znanosti, številka 3 (2. 5. 2003)  
[http://www.kvarkadabra.net/snov/teksti/pogled\\_v\\_telo.htm](http://www.kvarkadabra.net/snov/teksti/pogled_v_telo.htm) (5. 7. 2014)
- Menon P., Geevasinga N., Yiannikas C., Howells J., Kiernan M.C., Vucic S. 2015. Sensitivity and specificity of threshold tracking transcranial magnetic stimulation for diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis: a prospective study. *The Lancet Neurology*, 14: 478-484
- Mills K.R., Nithi K.A. 1997. Corticomotor threshold is reduced in early sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle & Nerve*, 20: 1137-1141

- Nardone R., Buffone E., Florio I., Tezzon F. 2005. Changes in motor cortex excitability during muscle fatigue in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 76: 429-431
- Niedermeyer E. 1997. Alpha rhythms as physiological and abnormal phenomena. *International Journal of Psychophysiology*, 26: 31-49
- Nunez P.L., Srinivasan R. 2006. Electric fields of the brain: the neurophysies of EEG. 2<sup>nd</sup> edition. New York, Oxford University Press: 611 str.
- Oldfield R.C. 1971. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 9, 1: 97-113
- Pagani E., Bizzi A., Di Salle F., De Stefano N., Filippi M. 2008. Basic concepts of advanced MRI techniques. *Neurol Sci*, 29, 3 supplement: 290-295
- Patenaude B., Smith S.M., Kennedy D.N., Jenkinson M. 2011. A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation. *NeuroImage*, 56, 3: 907-922
- Pfurtscheller G., Berghold A. 1989. Patterns of cortical activation during planning of voluntary movement. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 72, 3: 250-258
- Prout A.J., Eisen A.A. 1994. The cortical silent period and amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle & Nerve*, 17: 217-223
- Radunović A., Mitsumoto H., Leigh N.P. 2007. Clinical care of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet Neurology*, 6, 10: 913-925
- Ronnqvist K.C., McAllister C.J., Woodhall G.L., Stanford I.M., Hall S.D. 2013. A multimodal perspective on the composition of cortical oscillations. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7, 132
- Rose S., Pannek K., Bell C., Baumann F., Hutchinson N., Coulthard A., Mc Combe P., Henderson R. 2012. Direct evidence of intra- and interhemispheric corticomotor network degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: an automated MRI structural connectivity study. *NeuroImage*, 59, 3: 2661-2669
- Santhosh J., Bhatia M., Sahu S., Anand S. 2005. Decreased electroencephalogram alpha band [8-13Hz] power in amyotrophic lateral sclerosis patients: a study of alpha activity in an awake relaxed state. *Neurology India*, 53, 1: 99-101

- Schreckenberger M., Lange-Asschenfeldt C., Lochmann M., Mann K., Siessmeier T., Buchholz H.G., Bartenstein P., Gründer G. 2004. The thalamus as the generator and modulator of EEG alpha rhythm: a combined PET/EEG study with lorazepam challenge in humans. *NeuroImage*, 22, 2: 637-644
- Shapiro S.S., Wilk M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 3-4: 591-611
- Sharbrough F., Chatrian G.E., Lesser R.P., Lüders H., Nuwer M., Picton T.W. 1991. American electroencephalographic society guidelines for standard electrode position nomenclature. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 8: 200-202
- Sharma K.R., Saigal G., Maudsley A.A., Govind V. 2011. 1H MRS of basal ganglia and thalamus in amyotrophic lateral sclerosis. *NMR in Biomedicine*, 24, 10: 1270-1276
- Sharma K.R., Sheriff S., Maudsley A., Govind V. 2013. Diffusion tensor imaging of basal ganglia and thalamus in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 23, 3: 368-374
- Smith S.M. 2002. Fast robust automated brain extraction. *Human brain mapping*, 17, 3: 143-155
- Smith S.M., Jenkinson M., Johansen-Berg H., Rueckert D., Nichols T.E., Mackay C.E., Watkins K.E., Ciccarelli O., Cader M.Z., Matthews P.M., Behrens T.E.J. 2006. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *NeuroImage*, 31, 4: 1487-1505
- Traxinger K., Kelly C., Johnson B.A., Lyles R.H., Glass J.D. 2013. Prognosis and epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology: Clinical Practice*, 3: 313-320
- Turner M.R., Cagnin A., Turkheimer F.E., Miller C.C., Shaw C.E., Brooks D.J., Leigh P.N., Banati R.B. 2004. Evidence of widespread cerebral microglial activation in amyotrophic lateral sclerosis: an [11C]®-PK11195 positron emission tomography study. *Neurobiology of Disease*, 15, 3: 601-609
- Verstraete E., Veldink J.H., Hendrikse J., Schelhaas H.J., van den Heuvel M.P., van den Berg L.H. 2012. Structural MRI reveals cortical thinning in amiotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 83, 4: 383-388
- Vlaardingerbroek M.T., Boer J.A. 2003. Magnetic resonance imaging, theory and practice. 3<sup>rd</sup> edition. Berlin, Springer Verlag: 500 str.

- Vrabec K., Koritnik B., Leonardis L., Dolenc-Grošelj L., Zidar J., Smith B., Vance C., ShawC., Rogelj B., Glavač D., Ravnik-Glavač M. 2015. Genetic analysis of amyotrophic lateral sclerosis in the Slovenian population. *Neurobiology of Aging*, 36, 3: 1601.e17-1601.e20
- Vucic S., Cheah B.C., Kiernan M.C. 2009. Defining the mechanisms that underlie cortical hyperexcitability in amyotrophic lateral sclerosis. *Experimental Neurology*, 220: 177-182
- Winkler A.M., Ridgway G.R., Webster M.A., Smith S.M., Nichols T.E. 2014. Permutation inference for the general linear model. *NeuroImage*, 92: 381-397
- Ziemann U., Winter M., Reimers C.D., Reimers K., Tergau F., Paulus W. 1997. Impaired motor cortex inhibition in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Evidence from paired transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 49: 1292-1298

## 7.2 DRUGI VIRI

- Başar E. 2012. A review of alpha activity in integrative brain function: Fundamental physiology, sensory coding, cognition and pathology. *International Journal of Psychophysiology*, 86, 1: 1-24
- Kocijančič B., Leonardis L., Ristič-Kovačič S., Turel M., Zidar J. 2013. Amiotrofična lateralna skleroza (ALS). Klinični inštitut za klinično nevrofiziologijo (7. 2. 2014) <http://www2.kclj.si/ikn/INFO/ALS/ALS.htm> (23. 6. 2014)
- Slovenski medicinski slovar. 2012. Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta (3. 7. 2014) <http://www.termania.net/slovarji/95/slovenski-medicinski-slovar> (4. 7. 2014)
- Steriade M., Gloor P., Llinas R.R., Lopes da Silva F.H., Mesulam M.M. 1990. Basic mechanisms of cerebral rhythmic activities. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 76: 481-508

## **ZAHVALA**

Prva zahvala gre prof. dr. Janezu Zidarju, ki mi je dal možnost in vrgel kost za glodanje, da je ta diplomska naloga sploh nastala. Hvala za usmerjanje, pregled napisanega in konkretnе komentarje.

Za prevzem mentorstva, pomoč pri pridobivanju bolnikov, protokol MR snemanja, ostale nasvete, popravke, obrazložitve, vzpodbude in enako veliko željo do končanja te diplomske naloge se zahvaljujem doc. dr. Blažu Koritniku.

Zahvala velja vsem preiskovancem, ki so se prostovoljno odločili za sodelovanje. Brez njih bi bila moja diplomska naloga le polna teorije.

Hvala Roku Berlotu, Jaku Bonu, Indri Pileckyte in Ignaciju Zidarju za pomoč pri statističnih operacijah in DTI analizah.

Zahvala gre tudi Andreju Sirniku, Nataši Plos, Igorju Kušarju Stojakoviču, Ani Goričan in Ireni Štefe za njihov čas, ki so ga namenili (MRI in EEG) snemanju preiskovancev.

Hvala tudi vsem drugim zaposlenim na KIKN. Ljudje potrebujemo prijazne besede, dobro voljo in vsakdanji nasmeh.

Hvala kolegici Juditi Jeran za deljenje navdušenja nad znanostjo in dolge telefonske pogovore, ko sem izgubila rdečo nit.

Velika zahvala pa za konec moji mami Marinki, ki me je skozi vsa leta šolanja podpirala in usmerjala, se z menoj veselila uspehov in nikoli dvomila vame, ter mojemu možu Gregorju in otrokom Filipu, Nacetu in Ajdi, ki mi vsak dan pokažejo, da življenje ni le kariera.

## PRILOGE

### Priloga A

#### Dopis Komisije Republike Slovenije za medicinsko etiko



KOMISIJA REPUBLIKE SLOVENIJE ZA MEDICINSKO ETIKO

Teja Maležič, dodiplomska študentka  
Biotehniške fakultete, oddelek za biologijo  
Jamnikarjeva 101  
1000 Ljubljana

Štev.: 97/02/13  
Datum: 24. 3. 2013

Spoštovana gospa Maležič,

Komisiji za medicinsko etiko (KME) ste 30. 1. 2013 poslali v oceno predlog raziskave z naslovom:

*"Analiza zmanjšanja moči elektroencefalografskega ritma mu pri bolnikih z amiotrofično lateralno sklerozo."* Diplomska naloga, mentor prof. dr. Janez Zidar, dr. med., Inštitut za klinično nevrofiziologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 1525 Ljubljana.

KME je na seji 12. februarja 2013 ocenila, da je raziskava etično sprejemljiva, in Vam s tem izdaja svoje soglasje.

Lep pozdrav,

prof. dr. Jože Trontelj  
predsednik Komisije RS za medicinsko etiko

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Jože Trontelj".

Naslov:

Prof. dr. Jože Trontelj, Inštitut za klinično nevrofiziologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 1525 Ljubljana, telefon 01/ 522 1525.  
Tone Žakej, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 1525 Ljubljana, telefon 01/ 522 1509.  
Telefaks 01/ 522 1533; naslova za elektronsko pošto: [joze.trontelj@kcl.si](mailto:joze.trontelj@kcl.si), [tone.zakej@kcl.si](mailto:tone.zakej@kcl.si)  
Spletni naslov: <http://www.kme-nmec.si/>

## Priloga B

### IZJAVA O ZAVESTNI IN SVOBODNI PRIVOLITVI SODELUJOČIH V RAZISKAVI

Podpisani/a \_\_\_\_\_, rojen/a \_\_\_\_\_, izjavljam, da mi je Teja Maležič, absolventka biologije, pojasnila potek raziskave, način mojega sodelovanja ter morebitne koristi, neprijetnosti in tveganja preiskav. Prejel/a in prebral/a sem tudi pisno pojasnilo o raziskavi. Soglašam s svojo udeležbo v raziskavi in vem, da lahko sodelovanje prekinem kadarkoli, ne da bi navedel/a razlog in bil/a zaradi tega oškodovan/a.

Ljubljana, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ podpis

Potrjujem, da sem preiskovancu/ki natančno razložila potek raziskave in način njegovega sodelovanja ter odgovorila na morebitna dodatna vprašanja.

\_\_\_\_\_ Teja Maležič

Ljubljana, \_\_\_\_\_

ZDRAVILA: \_\_\_\_\_

Priloga C

**PREIZKUS ROČNOSTI**

**»EDINBURGH HANDEDNESS INVENTORY«**

Ime in priimek \_\_\_\_\_

Datum rojstva \_\_\_\_\_ Spol Ž M

Označite, s katero roko rajši opravljate naslednje dejavnosti, tako da vpišete + v odgovarjajoči stolpec. Če dejavnosti nikoli ne bi opravljali z nasprotno roko (razen če bi bili prisiljeni), vpišite ++. V primeru, če vam je popolnoma vseeno, s katero roko opravljate dejavnost, vpišite + v oba stolpca.

Nekatere naštete dejavnosti opravljamo z obema rokama. V teh primerih sta del dejavnosti ali predmet, ki zahtevata uporabo ene roke, navedena v oklepaju.

Poskusite odgovoriti na vsa vprašanja, stolpec pustite prazen le, če nimate popolnoma nobenih izkušenj z dejavnostjo ali predmetom.

		LEVA	DESNA
1	Pisanje		
2	Risanje		
3	Metanje		
4	Škarje		
5	Zobna ščetka		
6	Nož (brez vilice)		
7	Žlica		
8	Metla (zgornja roka)		
9	Prižiganje vžigalice (vžigalica)		
10	Odpiranje škatle (pokrov)		
i	S katero nogo rajši brcate?		
ii	Katero oko uporabljate (če uporabljate le enega)?		

K.L.

Ta prostora pustite prazna

DECIL

## Priloga D

### Norrisova lestvica

Ime in priimek \_\_\_\_\_

Datum testiranja\_\_\_\_\_

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> 1. Dvig glave (preizkus)<br>3 brez težav<br>2 glava se povesi pri utrujenosti ali ne zmore testa z brado<br>1 glava se brez podporne ovratnice vedno povesi, leže jo dvigne z blazine<br>0 leže ne dvigne glave z blazine                                | <input type="checkbox"/> 9. Kašelj (preizkus)<br>3 preiskovalec s prijemom od zadaj ne more zadržati premikov spodnjega dela prsnega koša<br>2 kašelj je učinkovit, vendar lahko preiskovalec zadrži premike prsnega koša<br>1 kašelj ponavadi ni učinkovit, n.pr. plitvo pokašljevanje po aspiraciji<br>0 kašelj ni učinkovit                              |
| <input type="checkbox"/> 2. Žvečenje (anamneza)<br>3 brez težav<br>2 potrebuje nekaj mehke ali pasirane hrane, nekaj počitka<br>1 v celoti mehka/pasirana prehrana, pogosto počiva<br>0 hrano je treba potisniti proti žrelu  | <input type="checkbox"/> 10. Pisanje (preizkus)<br>3 napiše ime in naslov; soprog/-a potrdi normalno pisavo<br>2 kakršnakoli težava s čitljivostjo imena, naslova<br>1 ne zmore dokončati imena, naslova, ali v glavnem nečitljivo<br>0 zmore le oznake   |
| <input type="checkbox"/> 3. Požiranje (preizkus)<br>3 brez težav popije kozarec vode<br>2 aspirira nekaj vode, ne pa sline v času celotnega pregleda<br>1 občasno aspirira slino, ki tudi pogosto izteka iz ust<br>0 voda izteka iz ust, pogosto aspirira slino                   | <input type="checkbox"/> 11. Gumbi, zadrge (preizkus)<br>3 zapne gumbe na srajci; lahko uporabi obe roki, čas ni omejen, vendar ne uporabi pripomočkov; zapre zadrgo<br>2 ne zmore zgoraj naštetega brez pomoči<br>1 zapre le dva gumba s pripomočkom, polovico zadrge<br>0 ne zmore zgoraj naštetega, potrebna je skoraj popolna pomoč                     |
| <input type="checkbox"/> 4. Govor (preizkus)<br>3 brez težav ves čas med pregledom<br>2 kakršnakoli težava med pregledom<br>1 preprosti stavki komaj razumljivi<br>0 momlja, redki razumljivi zvoki   | <input type="checkbox"/> 12. Hranjenje (anamneza)<br>3 brez težav ali potrebuje le enostavne pripomočke, velika prijemala<br>2 potrebuje pomoč pri rezanju mesa ali potrebuje več pripomočkov, opornic za prste, vodil za roko, itd.<br>1 ne more rezati ali uporabljati vilice, vendar dvigne hrano do ust<br>0 ga/jo morajo hraniti                       |
| <input type="checkbox"/> 5. Obračanje leže (preizkus)<br>3 leže se na preiskovalni mizi brez težav obrne vsaj na eno stran<br>2 kakršnakoli težava (lahko tudi zaradi oslabelosti rok)<br>1 komajda se obrne z velikim naporom le na eno stran<br>0 pri obračanju potrebuje pomoč | <input type="checkbox"/> 13. Prijem/dvig samega sebe (preizkus)<br>3 se z eno roko potegne pokonci iz ležečega položaja<br>2 z eno roko se potegne pokonci le z velikim naporom ali pa se mora potegniti z obema rokama<br>1 pokonci se lahko posede le z uporabo fleksorjev trupa (preiskovalec otipa trebuh)<br>0 potrebuje poteg ali potisk preiskovalca |
| <input type="checkbox"/> 6. Posedanje (preizkus)<br>3 iz ležečega položaja se na preiskovalni mizi usede popolnoma pokonci<br>2 dvigne glavo in ramena, trupa pa brez potega ne<br>1 dvigne glavo, ramen pa brez potega ne<br>0 potrebuje pomoč za dvig glave in trupa            | <input type="checkbox"/> 14. Prijem/dvig knjige, pladnja (preizkus)<br>3 dvigne večjo knjigo iz naročja do višine obraza<br>2 dvigne iz naročja, vendar ne doseže višine obraza<br>1 dvigne zepno knjigo iz naročja do višine obraza<br>0 dvigne iz naročja, vendar ne doseže višine obraza   |
| <input type="checkbox"/> 7. Pritisk v črevesu/mehurju (anamneza)<br>3 brez očitnih težav<br>2 težave z odvajanjem; vsak teden potrebuje odvajalo ali mehčalo blata<br>1 pogosteje potrebuje odvajalo ali mehčalo, občasno klistir<br>0 večinoma potrebuje klistir                 | <input type="checkbox"/> 15. Prijem/dvig vilice, svinčnika (preizkus)<br>3 drži svinčnik pri pisjanju, čitljivost ni pomembna<br>2 dvigne svinčnik, vendar ga ne more držati, da bi pisal<br>1 svinčnik dvigne z mize le za krajši čas<br>0 lahko premakne svinčnik, ne more pa ga dvigniti   |
| <input type="checkbox"/> 8. Dihanje (preizkus)<br>3 brez težav med celotnim pregledom<br>2 dispneja pri prihodu v ambulanto ali med preizkušanjem moči<br>1 dispneja med pogovorom<br>0 dihalna stiska  | <input type="checkbox"/> 16. Sprememba položaja zgornjega uda (preizkus)<br>3 iz naročja dvigne oba zgornja uda nad glavo<br>2 zgornja uda dvigne iz naročja, ne pa nad višino ramen<br>1 premakne oba zgornja uda iz naročja do naslonjal<br>0 premakne zgornja uda, vendar ne iz naročja  |

17. Hoja po stopnicah (preizkus)
- 3 se vzpne eno nadstropje brez počitka ali opiranja  
 2 se vzpne eno nadstropje, vendar mora počivati ali se opirati ob ograji  
 1 se povzpne za dve ali več stopnic brez pomoči  
 0 se povzpne za manj kot dve stopnici, verjetno potrebuje poteg na preiskovalno mizo
18. Hoja (preizkus)
- 3 hodnik prehodi štirikrat brez postanka (lahko nosi primerne čevlje, opornico za gleženj, itd.) v manj kot petih minutah  
 2 prehodi razdaljo s kakršnokoli težavami ali potrebuje več kot pet minut  
 1 prehodi le s pomočjo ali z večkratnim počitkom  
 0 ne zmore
19. Hoja po dolžini sobe (preizkus pet metrov)
- 3 opravi brez težav  
 2 opravi s kakršnokoli težavo  
 1 opravi, a potrebuje minimalno pomoč ali se utrudi  
 0 ne zmore brez znatne pomoči, vključno s palico/berglo
20. Hoja ob pomoči (preizkus le, če je pomoč potrebna pri prejšnjih vprašanjih; oceni s tremi točkami, če je pri 19. vprašanju ocena ena ali več)
- 3 zmore pet metrov s palico/berglo ali z držanjem preiskovalčeve roke  
 2 ne zmore brez druge dodatne pomoči  
 1 naredi nekaj korakov pri premiku s stola na preiskovalno mizo  
 0 noge vleče za sabo pri prestavljanju s pomočjo
21. Vstajanje (preizkus)
- 3 brez težav in brez potiskanja vstane s stola  
 2 kakršnakoli težava  
 1 aktivno sodeluje, vendar proti koncu vstajanja potrebuje pomoč  
 0 potrebuje pomoč ves čas med vstajanjem
22. Sprememba položaja spodnjega uda (preizkus)
- 3 leže dvigne obo spodnja uda do 45°  
 2 dvigne z mize, vendar enega uda ne dvigne do 45°  
 1 le za kratek čas dvigne z mize ali popolna paraliza enega uda  
 0 le neučinkovit premik
23. Bicepsovi, brahioradialisovi, tricepsovi kitni refleksi (preizkus)
- 3 vsi simetrični in v grobem normalni  
 2 asimetrija ali vsaj en jasno abnormen  
 1 katerikoli trije neizzivni, ostali trije le nakazani  
 0 katerikoli trije klonični
24. Patelarni, Ahilovi, adduktorni kitni refleksi (preizkus)
- 3 vsi simetrični in v grobem normalni  
 2 asimetrija ali vsaj en jasno abnormen  
 1 katerikoli trije neizzivni, ostali trije le nakazani  
 0 katerikoli trije klonični
25. Masetrski refleks (preizkus)
- 3 neizziven  
 2 izziven  
 1 živahno izziven  
 0 kloničen
26. Plantarni odziv – desno (preizkus)
- 3 v fleksiji  
 2 ugasel (tudi zaradi paralize ekstenzorjev palca)  
 1 nejasen  
 0 v ekstenziji
27. Plantarni odziv – levo (preizkus)
- 3 v fleksiji  
 2 ugasel (tudi zaradi paralize ekstenzorjev palca)  
 1 nejasen  
 0 v ekstenziji
28. Fascikulacije (opazovanje med celotnim pregledom, bolnik slečen do spodnjega perila, brez majice)
- 3 ni  
 2 blage  
 1 zmerne  
 0 obsežne
29. Atrofija – obraz, jezik (opazovanje)
- 3 ni atrofije  
 2 blaga  
 1 zmerna  
 0 izrazita
30. Atrofija – zgornji udi, rame (opazovanje)
31. Atrofija – spodnji udi, medenica (opazovanje)
32. Labilno čustvovanje (anamneza in opazovanje)
- 3 brez težav, potrdi soprog  
 2 občasno neprimerno jokanje ali hahljanje  
 1 vsaj vsakodnevno pojavljvanje  
 0 jokanje (redkeje smeh) pri večini dražljajev, pri vstopu v ambulanto
33. Utrudljivost (preizkus)
- 2 brez abnormalnosti (lahko občasno med pregledom zmanjšanje mišične moči s hitrim izboljšanjem v nekaj minutah)  
 0 pogosto zmanjšanje mišične moči med pregledom ali splošen upad delovanja s časom
34. Spastičnost spodnjih udov (preizkus)
- 2 mišični tonus normalen ali blago povišan v obeh spodnjih udih (ali normalen v enem in zmerno povišan /se upira težnosti/ v drugem; brez mišičnega relaksanta zadnjih 24 ur  
 0 zmerno zvišan v obeh spodnjih udih, »kot deska« v enem ali huje

**SKUPAJ TOČK**

Testiral \_\_\_\_\_

## Priloga E

### Dopolnjena funkcjska lestvica ALS (ALSFRSr)

Ime in priimek \_\_\_\_\_

Datum testiranja \_\_\_\_\_

#### 1. Govor

- 4 Normalen
- 3 Zaznati je motnje
- 2 Razumljiv s ponavljanjem
- 1 Je v povezavi z neglasovnim sporazumevanjem
- 0 Neuporaben

#### 2. Slinjenje

- 4 Normalno
- 3 Blag, a jasen presežek sline v ustih; lahko nočno iztekanje sline
- 2 Zmeren presežek sline; lahko minimalno iztekanje sline
- 1 Izrazit presežek in nekaj iztekanja sline
- 0 Izrazito iztekanje sline; stalno potrebuje robček za brisanje

#### 3. Požiranje

- 4 Normalno prehranjevanje
- 3 Zgodnje prehranjevalne težave; občasno zaletavanje
- 2 Uporaba kašaste hrane
- 1 Potreba po dodatnem hranjenju po sondi
- 0 Samo parenteralno ali enteralno hranjenje

#### 4. Pisanje (z roko, ki je bila dominantna pred začetkom bolezni)

- 4 Normalno
- 3 Počasno, grše vendar čitljivo
- 2 Nekatere besede niso čitljive
- 1 Lahko drži pisalo, vendar ne more pisati
- 0 Ne more držati pisala

#### 5a. Uporaba jedilnega pribora

- (bolniki brez gastrostome)
- 4 Normalna
  - 3 Nekoliko počasna in nerodna, vendar ne potrebuje pomoči
  - 2 Lahko nareže večino hrane, čeprav počasi in nerodno; potrebuje nekaj pomoči
  - 1 Hrano mora narezati nekdo drug, sam pa se lahko še vedno počasi hrani
  - 0 Bolnika mora hraniti nekdo drug

#### 5b. Ravnanje z gastrostomou

- (lestvica za bolnike z gastrostomo)
- 4 Normalno
  - 3 Nerodno, vendar zmore vsa opravila sam
  - 2 Potrebuje nekaj pomoči pri zapiranju in tesnenju
  - 1 Oskrbniku nudi minimalno sodelovanje
  - 0 Ne more opravljati nobenega opravila

#### 6. Oblačenje in osebna higiena

- 4 Normalno
- 3 Opravi sam v celoti vendar z naporom in zmanjšano učinkovitostjo
- 2 Občasno rabi pomoč ali nadomestne metode
- 1 Potrebuje pomočnika
- 0 Popolna odvisnost

#### 7. Obračanje v postelji in popravljanje posteljnine

- 4 Normalno
- 3 Nekoliko počasno in nerodno, vendar ne potrebuje pomoči
- 2 Se lahko sam obrača in popravlja posteljnino, vendar s težavo
- 1 Brez pomoči lahko sam le začne z obračanjem in popravljanjem posteljnine
- 0 Ne zmore brez pomoči

#### 8. Hoja

- 4 Normalna
- 3 Zgodnje težave pri hoji
- 2 Hodi s pomočjo (kakršenkoli pripomoček)
- 1 Ne hodi, vendar še giblje z nogama
- 0 Ni hotenih gibov spodnjih udov

#### 9. Hoja po stopnicah

- 4 Normalna
- 3 Počasna
- 2 Blaga nezanesljivost ali utrudljivost
- 1 Potrebuje pomoč (npr. ograjo za oprijemanje)
- 0 Ne zmore

#### 10. Dispnea

- 4 Brez
- 3 Se pojavi pri hoji
- 2 Pri hranjenju, kopanju, oblačenju
- 1 Med počitkom
- 0 Mehanska dihalna podpora

#### 11. Ortopneja

- 4 Brez
- 3 Nekaj težav, do 2 blazini
- 2 Za spanje več kot 2 blazini
- 1 Lahko spi le sede
- 0 Ne more spati

#### 12. Dihalna nezadostnost

- 4 Brez
- 3 Intermittentna uporaba BiPAP
- 2 Stalna uporaba BiPAP ponoči
- 1 Stalno BiPAP ponoči in podnevi
- 0 Invazivno umetno predihavanje

**SKUPAJ TOČK**

Testiral \_\_\_\_\_

## Priloga F

### **Modificirana Ashworthova lestvica**

Ime in priimek \_\_\_\_\_

Datum testiranja \_\_\_\_\_

0 Mišični tonus ni povišan

1 Blago povišan mišični tonus, ki se kaže kot fenomen žepnega noža ali kot minimalni odpor proti koncu obsega giba

1+ Blago povišan mišični tonus, ki se kaže kot fenomen žepnega noža, ki mu sledi minimalno povišan odpor med preostalim obsegom giba (manj kot polovica celotnega obsega giba)

2 Bolj izraženo povišanje mišičnega tonusa med večino obsega giba, vendar prizadeti telesni del zlahka premikamo

3 Znatno povišan mišični tonus, pasivni gibi so oteženi

4 Prizadeti telesni del v sklepu ni premakljiv



desni komolec

levi komolec

desno koleno

levo koleno

Testiral \_\_\_\_\_

## Priloga G

### BREME ZGORNJEGA MOTORIČNEGA NEVRONA - refleksi

**0 – odsoten**

Ime in priimek: \_\_\_\_\_

**1 – šibak**

Datum pregleda: \_\_\_\_\_

**2 – zmeren**

**3 – živahno izziven**

**4 – kloničen**

Pregledal: \_\_\_\_\_

	LEVO					DESNO				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
bicepsov refleks										
brahioradialni refleks	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
tricepsov refleks	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
refleks prstov	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
patelarni refleks	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
ahilov refleks	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4

#### Masetrski refleks

0 neizziven

1 izziven

2 živahno izziven

3 kloničen

#### Plantarni odziv—DESNO

0 v fleksiji

1 ugasel (tudi zaradi paralize ekstenzorjev palca)

2 nejasen

3 v ekstenziji

#### Plantarni odziv—LEVO

0 v fleksiji

1 ugasel (tudi zaradi paralize ekstenzorjev palca)

2 nejasen

3 v ekstenziji

## Priloga H

Prijelago po M. F. Folstein: Mini Mental State Examination (MMSE)

### Kratek preizkus spoznavnih sposobnosti (KPSS)

Ime: \_\_\_\_\_ Datum rojstva: \_\_\_\_\_

Priimek: \_\_\_\_\_ Datum testiranja: \_\_\_\_\_

Časovna orientacija		Kje se sedaj nahajamo?
1.	Katerega leta smo?	6. Država?
2.	V katerem letnem času smo?	7. Kraj?
3.	Katerega meseca smo?	8. Del mesta (sosekska)?
4.	Kateri dan v tednu je danes?	9. Stavba (ustanova ali vrsta zgradbe)?
5.	Kateri datum je danes?	10. Nadstropje (vrsta sobe ali naslov)?

<b>Povedal(a) vam bom tri besede. Ponovite jih, ko jaz končam.</b> <i>(Besede izgovarjam v razmaku 1 sekunde, največ petkrat. Ocenimo samo prvo ponovitev.)</i> <b>Zapomnite si besede, ker vas bom kasneje spet vprašal(a).</b>	11.	DREVO	
	12.	MIZA	
	13.	ŽOGA	

<b>Odštevajte od 100 po 7, od dobljenega števila spet 7 in tako naprej.</b> <b>Torej: 100 manj 7 je ...? (93, 86, 79, 72, 65, ...)</b>  <i>Alternativno vprašanje (če preiskovanec odkloni odštevanje):</i> <b>Črkujte besedo NJIVA.</b> <b>Zdaj jo črkujte še v obratnem vrstnem redu (nazaj).</b>	14.	93	A	
	15.	86	V	
	16.	79	I	
	17.	72	J	
	18.	65	N	

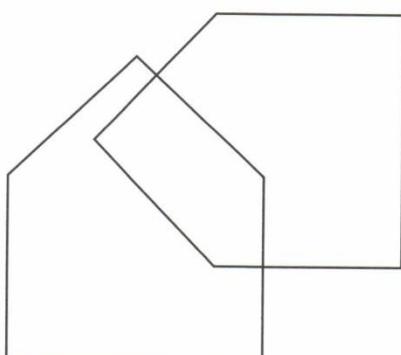
<b>Ponovite, prosim, tri besede, za katere sem vam prej naročil(a), da si jih zapomnите.</b>	19.	DREVO	
	20.	MIZA	
	21.	ŽOGA	

<b>22.</b> Kaj je to? (URA) <b>23.</b> Kaj je to? (SVINČNIK) <b>24.</b> Natančno ponovite tale stavek: NOBENIH IN, ČE, AMPAK.			

<b>25.</b> Vzemite list papirja v desno roko, <b>26.</b> ga prepognite na polovico, <b>27.</b> in položite na tla.			

<b>28.</b> Preberite, kaj piše na listu in potem to naredite (ZAPRITE OČI, predloga 1). <b>29.</b> Napišite, prosim, nek stavek (Napišite na primer kaj o vremenu). <b>30.</b> Prepišite tole (predloga 2).			



**Testiranje opravil:** \_\_\_\_\_

**Skupno število točk:** \_\_\_\_\_

/30

Literatura: 1. Gal Granda, Janez Miškar, David, B. Vodusek. Kratek preizkus spoznavnih sposobnosti – umerjanje pri preiskovalcih, starih od 55 do 75 let. Zdravstveni vestnik 2003; 72:575 - 581. 2. Jože Jensterle, Janez Miškar, David B. Vodusek. Uporaba kratkega preizkusa spoznavnih sposobnosti pri ocenjevanju demenc. Zdravstveni vestnik 1996; 65: 577 - 582. 3. M. Rakusa, G. Granda, A. Kogoj, J. Miškar, D.B. Vodusek. Mini - mental State Examination: standardization and validation for the elderly Slovenian population. European Journal of Neurology 2006; 13: 141 - 145.

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Teja MALEŽIČ

**ANALIZA MOČI  
ELEKTROENCEFALOGRAFSKEGA RITMA MU PRI  
BOLNIKIH Z AMIOTROFIČNO LATERALNO  
SKLEROZO**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2015