

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

**Ovidijus Laucius**

**KLAJOKLIO IR DIAFRAGMINIO NERVŲ  
ULTRAGARSINIŲ PARAMETRŲ  
POKYČIAI SERGANT ŠONINE  
AMIOTROFINE SKLEROZE IR  
PARKINSONO LIGA BEI JŲ SAŠAJOS  
SU AUTONOMINĖS NERVŲ SISTEMOS  
SUTRIKIMAIS**

Daktaro disertacija  
Medicinos sveikatos mokslai,  
medicina (M 001)

Kaunas, 2026

Disertacija rengta 2021–2025 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos fakulteto Neurologijos klinikoje.

**Mokslinis vadovas**

prof. dr. Antanas Vaitkus (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

**Konsultantė**

prof. dr. Renata Balnytė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

**Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos medicinos mokslo krypties taryboje:**

**Pirmininkas**

prof. dr. Andrius Macas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

**Nariai:**

prof. dr. Indrė Čeponienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Saulius Lukoševičius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

doc. dr. Aleksandras Vilionskis (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Toomas Toomsoo (Talino universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija bus ginama viešajame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2026 m. birželio 19 d. 12 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų neurologijos auditorijoje Nr. 7.  
Adresas: Eivenių g. 2, LT-50161 Kaunas, Lietuva.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES

**Ovidijus Laucius**

**ULTRASONOGRAPHIC PARAMETER  
CHANGES OF THE VAGUS AND PHRENIC  
NERVES IN AMYOTROPHIC LATERAL  
SCLEROSIS AND PARKINSON'S DISEASE  
AND THEIR ASSOCIATION WITH  
AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM  
DYSFUNCTION**

Doctoral Dissertation  
Medical and Health Sciences,  
Medicine (M 001)

Kaunas, 2026

The dissertation was prepared in 2021–2025 at the Department of Neurology, Faculty of Medicine, Lithuanian University of Health Sciences.

**Scientific Supervisor**

Prof. Dr. Antanas Vaitkus (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

**Consultant**

Prof. Dr. Renata Balnytė (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

**The dissertation will be defended at the Medical Research Council of the Medical Academy of Lithuanian University of Health Sciences:**

**Chairperson**

Prof. Dr. Andrius Macas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

**Members:**

Prof. Dr. Indrė Čėponienė (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Saulius Lukoševičius (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Assoc. Prof. Dr. Aleksandras Vilionskis (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Toomas Toomsoo (Tallinn University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

The dissertation will be defended in a public meeting of the Medical Research Council on June 19, 2026, at 12:00, in the Neurology Auditorium No. 7 of the Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos. Address: Eivenių 2, LT-50161 Kaunas, Lithuania.

# TURINYS

SANTRUMPOS.....	8
ĮVADAS.....	9
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI .....	12
Darbo tikslas .....	12
Darbo uždaviniai.....	12
Darbo naujumas ir mokslinis aktualumas .....	12
Darbo praktinė reikšmė.....	13
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	14
1.1. Šoninė amiotrofinė sklerozė .....	14
1.1.1. Šoninės amiotrofinės sklerozės apibrėžimas.....	14
1.1.2. Šoninės amiotrofinės sklerozės klinikiniai simptomai.....	14
1.1.3. Šoninė amiotrofinė sklerozė ir autonominės nervų sistemos sutrikimas .....	15
1.1.4. Šoninės amiotrofinės sklerozės diagnostika .....	16
1.1.5. Klajoklio ir diafragminio nervo pokyčiai sergant šonine amiotrofine skleroze .....	16
1.1.6. Šoninės amiotrofinės sklerozės gydymas ir prognozė .....	17
1.2. Parkinsono liga .....	18
1.2.1. Parkinsono ligos apibrėžimas.....	18
1.2.1.1. Parkinsono ligos motoriniai simptomai .....	19
1.2.1.2. Parkinsono ligos nemotoriniai simptomai.....	19
1.2.1.3. Parkinsono liga ir autonominės nervų sistemos sutrikimai.....	20
1.2.2. Klajoklio nervo pokyčiai sergantiesiems Parkinsono liga .....	21
1.2.3. Parkinsono ligos diagnostika .....	22
1.2.4. Parkinsono ligos gydymo principai ir prognozė .....	23
2. TIRIAMIEJI IR METODAI .....	25
2.1. Tiriamųjų atranka ir grupių sudarymas.....	25
2.1.1. Tiriamųjų įtraukimo į biomedicininį tyrimą kriterijai.....	25
2.1.2. Kontrolinė pacientų grupė.....	26
2.2. Klinikinis tyrimas .....	27
2.2.1. Pagrindinės grupės klinikinės charakteristikos.....	27
2.2.2. Kontrolinės grupės charakteristikos.....	28
2.3. Ultragarsinis diafragminio ir klajoklio nervų tyrimas .....	28
2.3.1. Diafragminio nervo vertinimas .....	28
2.3.2. Klajoklio nervo vertinimas.....	30

2.4. Širdies ritmo variabilumas .....	32
2.5. Sudėtinė autonominių simptomų skalė-31 .....	32
2.6. Amiotrofinės lateralinės sklerozės funkcinė vertinimo skalė .....	33
2.7. Statistinė analizė .....	34
2.7.1. Imties tūrio apskaičiavimas.....	35
2.8. Tėkmės diagrama .....	36
2.8.1. Sergančių šonine amiotrofine skleroze pacientų įtraukimo struktūra .....	36
2.8.2. Sergančių Parkinsono liga pacientų įtraukimo struktūra.....	36
3. REZULTATAI.....	38
3.1. Diafragminio nervo ultragarsinių parametrų pokyčių ypatumai sergantiesiems šonine amiotrofine skleroze .....	38
3.1.1. Sergančiųjų šonine amiotrofine skleroze ir kontrolinės grupės asmenų antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos .....	38
3.1.2. Diafragminio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčiai sergantiems šonine amiotrofine skleroze pacientams ir kontrolinėje grupėje .....	39
3.2. Klajoklio nervo ultragarsinių parametrų pokyčių ypatumai pacientams sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir palyginimas su kontroline grupe .....	41
3.2.1. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčiai sergantiems šonine amiotrofine skleroze pacientams ir kontrolinėje grupėje .....	41
3.2.2. Klajoklio nervo pokyčių sąsajos su demografiniais ir klinikiniais radiniais sergantiesiems šonine amiotrofine skleroze.....	43
3.3. Klajoklio nervo ultragarsinių parametrų pokyčių ypatumai sergantiesiems Parkinsono liga .....	44
3.3.1. Sergančiųjų Parkinsono liga ir kontrolinės grupės asmenų antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos .....	44
3.3.2. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčiai sergantiesiems Parkinsono liga ir kontrolinėje grupėje.....	45
3.4. Autonominės nervų sistemos sutrikimo ypatumai pacientams sergantiesiems šonine amiotrofine skleroze ir Parkinsono liga .....	47
3.4.1. Autonominės nervų sistemos sutrikimo ypatumai sergantiesiems šonine amiotrofine skleroze .....	47
3.4.2. Autonominės nervų sistemos sutrikimo ypatumai sergantiesiems Parkinsono liga.....	49

3.5. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo parametrų diagnostinė reikšmė pacientams, sergantiems Parkinsono liga ir šonine amiotrofine skleroze .....	50
3.5.1. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčių diagnostinė reikšmė sergantiems šonine amiotrofine skleroze.....	50
3.5.2. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo parametrų diagnostinė reikšmė pacientams, sergantiems Parkinsono liga.....	53
4. REZULTATŲ APTARIMAS .....	56
IŠVADOS .....	63
PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS .....	64
SUMMARY .....	65
LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	99
MOKSLINĖS PUBLIKACIJOS.....	110
PRIEDAI.....	111
PUBLIKACIJOS.....	129
PADĖKA .....	172
CURRICULUM VITAE .....	173

## SANTRUMPOS

$\alpha$ -syn	–	alfa-sinukleinas
ALSFRS-R	–	šoninės amiotrofinės sklerozės funkcinė vertinimo skalė (angl. <i>The revised amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale</i> )
AMN	–	apatinis motorinis neuronas
ANS	–	autonominė nervų sistema
CNS	–	centrinė nervų sistema
COMPASS-31	–	sudėtinė autonominių simptomų skalė-31 (angl. <i>Composite Autonomic Symptom Score-31</i> )
DN	–	diafragminis nervas
DNSP	–	diafragminio nervo skerspjūvio plotas
ENMG	–	elektroneuromiografija
GSS	–	gilioji smegenų stimuliacija
JM	–	juodoji medžiaga
KF	–	kvėpavimo funkcija
KMI	–	kūno masės indeksas
KN	–	klajoklis nervas
KNSP	–	klajoklio nervo skerspjūvio plotas
KNUG	–	klajoklio nervo ultragarsinis tyrimas
LEDD	–	levodopos ekvivalentinė dienos/paros dozė
NfL	–	neurofilamento lengvosios grandinės
NIV	–	neinvazinė ventiliacija
NL	–	neurodegeneracinės ligos
NSP	–	nervo skerspjūvio plotas
p-syn	–	fosforilintas $\alpha$ -sinukleinas
PL	–	Parkinsono liga
ŠAS	–	šoninė amiotrofinė sklerozė
ŠRV	–	širdies ritmo variabilumas
TKS	–	transkranijinė sonografija
UG	–	ultragarsas
VMN	–	viršutinis motorinis neuronas
vs	–	lot. <i>versus</i>

## ĮVADAS

Neurodegeneracinės ligos (NL) – tai nervų sistemos ligų grupė, kurioms būdingas progresuojantis neuronų nykimas ir jų funkcijos sutrikimas, sukeliantis progresuojančius atminties, kalbos, judėjimo, koordinacijos bei autonominės nervų sistemos funkcijų sutrikimus. Pastaraisiais dešimtmečiais, dėl visuomenės senėjimo ir ilgėjančios gyvenimo trukmės, šių ligų paplitimas pasaulyje sparčiai didėja [1]. Nepaisant pažangių vaizdinių tyrimų, molekuliinių žymenų ir genetinių tyrimų, ankstyva neurodegeneracinių ligų diagnostika išlieka itin sudėtinga. Dažnai ligų simptomai ankstyvoje stadijoje gali būti nespecifiniai, persidengiantys tarp skirtingų ligų, o patikimų biožymenų klinikinėje praktikoje vis dar trūksta [2].

Pasaulio sveikatos organizacija nurodo, kad neurologinės ligos, įskaitant ir NL, kelia milžinišką ekonominę naštą visame pasaulyje, kuri apima tiesiogines sveikatos priežiūros išlaidas, netiesiogines išlaidas dėl prarasto produktyvumo, bei socialinės globos kaštus. NL yra pagrindinė ligotumo ir negalios priežastis pasauliniu mastu, paveikiančios daugiau nei trečdalį pasaulio gyventojų [1].

Atsižvelgiant į didėjančią NL paplitimą ir jų sukeltą visuomeninę bei ekonominę naštą, vis daugiau dėmesio skiriama patogeneziniams mechanizms, galintiems padėti identifikuoti ankstyvus, kliniškai pritaikomus ligos žymenis. Pastarųjų dešimtmečių tyrimai rodo, kad neurodegeneracijos procesai nėra apsiriboję vien centrine nervų sistema, bet dažnai apima ir periferinę nervų sistemą, ypač ligos ankstyvosiose stadijose. Tokie periferiniai pokyčiai gali atspindėti pirminius neurodegeneracinius mechanizmus ir suteikti galimybę ligą nustatyti anksčiau nei atsiranda ryškūs klinikiniai simptomai [3, 4].

Neuropatologiniai tyrimai rodo, kad šoninės amiotrofinės sklerozės (ŠAS) metu gali būti nustatomi diafragminio nervo (DN) ir klajoklio nervo (KN) struktūriniai pokyčiai, susiję su aksonų degeneracija ir gliolinių ląstelių pakitimais. Histologiniuose tyrimuose aprašoma „nykstančio“ (angl. „dying-back“) tipo distalinė aksonų atrofija, kuriai būdingas aksonų nykimas nuo distalinių segmentų link neurono kūno. Šis procesas laikomas svarbiu ŠAS patogenetiniu mechanizmu ir siejamas su sutrikusiu aksonaliniu transportu bei uždegiminiais procesais. Be ŠAS, distalinis aksonų pažeidimas gali būti būdingas ir kitiems neurologiniams sutrikimams, ypač periferinėms polineuropatijoms, tokioms kaip diabeto sukelta simetriška sensorimotorinė polineuropatija, kai kurioms toksinėms polineuropatijoms, atsirandančioms dėl cheminių ar medikamentinių veiksnių poveikio, taip pat paveldimoms aksonopatijoms, pavyzdžiui, Charcot–Marie–Tooth ligos 2 tipas, kurioms

būdingas pirminis distalinių aksonų nykimas ir proksimaliai progresuojantys simptomai [5].

Pagal anterogradinės neuronų degeneracijos (angl. „dying-forward“) hipotezę, neurodegeneracijos procesas prasideda centrinėje nervų sistemoje, ypač smegenų žievės neuronų kūnuose, ir anterogradiniu būdu plinta per aksonus į periferines nervų sistemos struktūras [6]. Šis patogenezės modelis pabrėžia centrinės kilmės eksitotoksinių (perteklinio neuronų sužadinimo sukeltų) procesų bei sutrikusio glutamato perdavimo svarbą ligos pradžioje ir ligos progresavime [7, 8]. „Dying-forward“ mechanizmas plačiausiai nagrinėjamas ŠAS patogenezėje [6], tačiau taip pat aprašomas ir Alzheimerio ligos [9], Parkinsono ligos (PL) [10] bei kai kurių frontotemporalinės demencijos formų patogenezėse [11], kur pirminis neurodegeneracijos procesas siejamas su neuronų kūnų disfunkcija ir vėlesne aksonų degeneracija.

Aksonų degeneraciją dažnai lydi mielino dangalo pažeidimas ir Schwanno ląstelių adaptacinė bei degeneracinė hiperplazija kompensacinio ląstelinio atsako metu. Ankstyvosiose stadijose Schwanno ląstelės gali perduoti poliribosomas aksonui, siekdamos palaikyti vietinę baltymų sintezę [12, 13]. Nors šie procesai vyksta mikroskopiniu lygmeniu ir tiesiogiai ultragarsu nevertinami, ultragarsiniai tyrimai leidžia nustatyti jų struktūrines pasekmes – nervo atrofiją. Sergantiems ŠAS, diafragminio nervo skerspjūvio plotas (DNSP) yra reikšmingai sumažėjęs abipus, palyginti su kontrolinėmis grupėmis [14], kas laikoma lėtinės aksonalinės degeneracijos makroskopiniu požymiu.

Pastaraisiais metais PL patogenezės tyrimuose vis daugiau dėmesio skiriama periferinės nervų sistemos, ypač KN ir autonominės nervų sistemos (ANS), struktūriniais ir molekuliniais pokyčiams. Moksliniai tyrimai rodo, kad NL sergančių pacientų periferinėje nervų sistemoje – įskaitant KN bei virškinimo sistemos nervų pluoštus – gali būti aptinkami fosforilinto  $\alpha$ -sinukleino (p-syn) kaupimosi židiniai, ypač tais atvejais, kai centrinėje nervų sistemoje (CNS) jau nustatomi neurodegeneraciniai pažeidimai [10, 11, 15]. Tai rodo, kad periferinė p-syn infiltracija gali pasireikšti dar prieš atsirandant pažeidimui CNS. Be to, naujausi tyrimai patvirtina vadinamąjį somatinės pradžios (angl. „body-first“)  $\alpha$ -sinukleino ( $\alpha$ -syn) plitimo modelį, kai patologinis procesas prasideda žarnyne ar parasimpatinėje sistemoje ir per KN plinta į CNS – tai gali būti laikoma vienu iš PL progresavimo mechanizmų [15–18]. Didelės apimties autopsinių tyrimų duomenys rodo, kad iki 89 proc. PL sergančiųjų KN nustatomas p-syn sankaupos, o net 46 proc. atsitiktinės Lewy kūnelių ligos (angl. *incidental Lewy body disease*) atveju taip pat nustatomos p-syn sankaupos KN, leidžiančios manyti, kad patologinis procesas gali prasidėti periferijoje [15].

ANS gali būti pažeidžiama sergant įvairiomis neurodegeneracinėmis ligomis. Jos veiklos sutrikimai yra vieni iš ryškiausių PL nemotorinių požymių.

ANS veiklos sutrikimas, sergant PL, gali pasireikšti visose ligos stadijose ir reikšmingai bloginti gyvenimo kokybę, sukelti ortostatinę hipotenziją, šlapinimosi, virškinimo, termoreguliacijos bei lytinės funkcijos sutrikimus [19–21]. ANS pažeidimo sunkumas sergant PL gali būti siejamas su lokaliais  $\alpha$ -syn kaupimosi procesais, kurie gali parodyti ligos progresavimą. [19, 22, 23]. ŠAS laikyta tik motorinį neuroną pažeidžiančia liga, tačiau vis gausėja duomenų ir apie ANS funkcijos sutrikimą, nes sergantiesiems ŠAS gali pasireikšti sumažėjęs širdies ritmo variabilumas (ŠRV), kraujospūdžio labilumas, virškinimo ir šlapinimosi sutrikimai [1, 24]. Klinikinėje praktikoje tikslinga derinti struktūrizuotą simptomų vertinimą su objektyviais funkciniais tyrimais. Šiuo tikslu plačiai taikomas klausimynas – sudėtinė autonominių simptomų skalė-31 (angl. *Composite Autonomic Symptom Score-31*), leidžianti greitai ir patikimai įvertinti ANS simptomų spektrą bei jų sunkumą [25, 26].

Kardiovaskulinės ANS sutrikimo vertinimui itin svarbi ŠRV analizė tiek ramybės būsenoje, tiek gilaus kvėpavimo metu. Šis neinvazinis tyrimas leidžia įvertinti parasimpatinės ir simpatinės nervų sistemos veiklos pusiausvyrą bei nustatyti galimus jos reguliacijos sutrikimus. Tyrimai rodo, kad sergant PL ŠRV rodikliai dažnai nustatomi sumažėję, tai siejama su ortostatinės hipotenzijos ir kitų ANS funkcijos sutrikimų pasireiškimu [27, 28]. Panašūs ŠRV pokyčiai stebimi ir sergantiesiems ŠAS. Jiems nustatomas sumažėjęs ŠRV tiek ramybės būsenoje, tiek gilaus kvėpavimo metu, o tai patvirtina kardiovaskulinį ANS sutrikimą [29, 30]. Šių metodų derinimas suteikia galimybę standartizuotai, neinvaziškai ir pakankamai jautriai nustatyti ANS pažeidimą tiek sergantiesiems PL, tiek ŠAS, bei padeda atskirti jį nuo gretutinių veiksnių poveikio ir individualizuoti gydymo strategiją [27, 29, 30].

Tarptautiniuose tyrimuose vis daugiau dėmesio skiriama ankstyviems, neinvaziniams biožymenims, įskaitant periferinių nervų ultragarsą (pvz., KN ultragarsinius parametrus sergant PL) [31, 32] bei DN ultragarsinio tyrimo vertinimą sergant ŠAS [33]. Be to, ŠRV vis dažniau naudojamas kaip neinvazinis ANS funkcijos rodiklis sergant PL ir ŠAS [14].

Mūsų tyrimas prisideda prie tarptautinės neinvazinių biožymenų paieškos krypties, nes ultragarsiniu tyrimu sistemiškai įvertinti DN struktūriniai pokyčiai sergant ŠAS bei KN pakitimai sergant PL ir ŠAS. Pirmą kartą pasaulyje šie periferinių nervų struktūriniai pakitimai buvo analizuoti ir lyginti su ANS funkcijos rodikliais – ŠRV, siekiant prisidėti prie ankstyvos, neinvazinės neurodegeneracinių ligų diagnostikos modelio kūrimo. Ankstyva ir tiksli neurodegeneracinių ligų diagnostika yra itin svarbi tiek paciento gyvenimo kokybei, tiek galimybei laiku taikyti ligos progresavimą lėtinančias terapijas.

# DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

## Darbo tikslas

Įvertinti klajoklio ir diafragminio nervų ultragarsinius parametrus pacientams, sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir Parkinsono liga, bei nustatyti jų ryšį su autonominės nervų sistemos funkcijos sutrikimais.

## Darbo uždaviniai

1. Nustatyti diafragminio nervo ultragarsinių parametrų pokyčių ypatumus pacientams sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir palyginti su kontroline grupe.
2. Nustatyti klajoklio nervo ultragarsinių parametrų pokyčių ypatumus pacientams sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir palyginti su kontroline grupe.
3. Nustatyti klajoklio nervo ultragarsinių parametrų pokyčių ypatumus pacientams sergantiems Parkinsono liga ir palyginti su kontroline grupe.
4. Įvertinti autonominės nervų sistemos funkcijos sutrikimus ir jų sąsajas su ultragarsiniais nervų pokyčiais pacientams, sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir Parkinsono liga.
5. Įvertinti klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo parametrų diagnostinę reikšmę pacientams, sergantiems Parkinsono liga ir šonine amiotrofine skleroze.

## Darbo naujumas ir mokslinis aktualumas

Neurodegeneracinės ligos (NL) yra viena didžiausių šiuolaikinės neurologijos problemų dėl savo progresuojančios eigos, ribotų gydymo galimybių ir reikšmingo poveikio pacientų funkciniam savarankiškumui bei gyvenimo kokybei. Pastaraisiais dešimtmečiais, senėjant visuomenei ir ilgėjant gyvenimo trukmei, šių ligų našta sveikatos apsaugos sistemoms nuosekliai didėja visame pasaulyje [1]. Nepaisant spartaus neurologijos mokslo progreso, ankstyvas NL nustatymas išlieka sudėtingas, nes pirmieji ligų simptomai dažnai būna nespecifiniai, persidengiantys su kitų ligų simptomais, o patikimų ir lengvai pritaikomų biožymenų klinikinėje praktikoje vis dar trūksta [2].

Šiame darbe pirmą kartą pasaulyje sistemingai ištirti DN ir KN ultragarsiniai pokyčiai sergant ŠAS ir PL bei įvertintos jų sąsajos su ANS

funkcijos sutrikimais. Tyrimas išsiskiria tuo, kad nervų ultragarsinių parametrų pokyčiai buvo lyginami su klinikinių ir funkcinių tyrimų rodikliais, siekiant nustatyti ligas kuo ankstyvesnėse stadijose, kadangi ANS sutrikimai sergant šiomis ligomis gali pasireikšti anksčiau nei motoriniai simptomai [34]. Gauti rezultatai palyginti su kitais ANS funkcijos sutrikimo rodikliais – ŠRV parametrais ir sudėtine autonominių simptomų skale-31 (angl. *Composite Autonomic Symptom Score-31*, COMPASS-31) bei nustatytos sąsajos su klinikiniais ANS pažeidimo požymiais; kartu įvertinti antropometriniai duomenys (ūgis, svoris, kūno masės indeksas – (KMI), liemens apimtis, klubų apimtis); nustatyta DN ir KN ultragarsinio tyrimo parametrų diagnostinė reikšmė pacientams, sergantiems PL ir ŠAS.

Naudotas aukštos raiškos ultragarsinis tyrimas yra neinvazinis, greitas ir lengvai prieinamas metodas, todėl šio tyrimo rezultatai turi tiesioginę praktinę vertę – jie gali būti integruoti į multidisciplininį pacientų vertinimą, padedantį anksčiau įvertinti ligos progresavimą ir tiksliau taikyti individualizuotas prieinamas terapijas.

Atsižvelgiant į ŠAS ir PL epidemiologinę reikšmę, didelį sergamumą bei poveikį gyvenimo kokybei, šio darbo rezultatai prisideda prie naujų diagnostinių ir ligos eigos progresavimo priemonių kūrimo, plečia klinikinės neurologijos žinias ir atveria galimybes tolimesniems tarpdisciplininiais tyrimams.

### **Darbo praktinė reikšmė**

Atliekant tyrimus, nagrinėjančius KN ir DN ultragarsinius pokyčius sergant ŠAS ir PL, atveriamos naujos galimybės ankstyvai diagnostikai ir diferencinei diagnostikai. Didelės raiškos ultragarsinio tyrimo matavimai – skerspjuvio plotas, echogeniškumas, homogeniškumas – derinami su klinikišku ištyrimu bei ŠRV tyrimais, leidžia nustatyti periferinių nervų morfologinius pokyčius dar ankstyvose ligos stadijose. Šio darbo rezultatai gali prisidėti prie ankstyvesnės ir tikslesnės PL bei ŠAS diagnostikos, naujų biožymenų paieškos, kurie galėtų tapti papildomais įrankiais stebint ligos progresavimą ir vertinant gydymo efektyvumą, taip pat prie multidisciplininio požiūrio stiprinimo (neurologų, pulmonologų, kardiologų ir ANS specialistų bendradarbiavimo), siekiant individualizuoti pacientų priežiūrą. Be to, klinikinėje praktikoje šie rezultatai gali praplėsti ultragarsinės diagnostikos taikymą, nes tai yra prieinamas, neinvazinis ir pakankamai greitas metodas, tinkamas tiek moksliniams tyrimams, tiek praktinei veiklai neurologijos klinikoje.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Šoninė amiotrofinė sklerozė

### 1.1.1. Šoninės amiotrofinės sklerozės apibrėžimas

ŠAS – tai progresuojanti neurodegeneracinė liga, pažeidžianti viršutinius ir apatinius motorinius neuronus, dėl kurių atsiranda raumenų silpnumas, sunki negalia ir letali išėitis [35–37]. Daugeliu atvejų ŠAS priežastis lieka nežinoma. Apie 90–95 proc. atvejų yra sporadiniai, o genetiniai veiksniai patvirtinami 5–10 proc. pacientų [38, 39]. Naujausiais duomenimis, sergamumas svyruoja nuo 0,6 iki 3,8 atvejų 100 000 gyventojų, o pasaulinis vidurkis siekia apie 1,6–1,76 atvejo 100 000 gyventojų [39–42]. Pagrindinis ŠAS centras Lietuvoje, veikiantis Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikose, kasmet nustato apie 20 naujų atvejų. ŠAS gali pasireikšti bet kuriame amžiuje, tačiau sergamumas didėja su kiekvienu gyvenimo dešimtmečiu, ypač po 40 metų. Dažniausiai liga diagnozuojama vyresnio amžiaus pacientams – dažniausiai tarp 51 ir 66 metų [43–45]. Visose amžiaus grupėse ŠAS dažniau pasitaiko vyrams nei moterims. Didžiausias sergamumo pikas vyrams fiksuojamas tarp 85–89 metų, o moterims – tarp 80–84 metų. Manoma, kad motorinių neuronų degeneracijai įtakos turi daugybė patofiziologinių mechanizmų. Standartizuotas vyrų ir moterų santykis padidėjo nuo 1,22 (1990 m.) iki 1,25 (daugiau nei 1 reiškia dažnesnį pasireiškimą vyrams). Įvairūs patogeniniai veiksniai lemia platų klinikinių požymių ir simptomų spektrą sergant ŠAS, todėl diagnozė tampa sudėtinga [46–48]. Dėl šių veiksnių ŠAS pasireiškia labai įvairiais klinikiniais simptomais, todėl diagnozės nustatymas tampa sudėtingas [49].

### 1.1.2. Šoninės amiotrofinės sklerozės klinikiniai simptomai

ŠAS būdinga viršutinių ir apatinių motorinių neuronų degeneracija, sukelianti raumenų silpnumą, atrofiją ir palaipsniui progresuojantį funkcinį gebėjimų praradimą. Klinikinė ŠAS išraiška yra heterogeninė, tačiau pagrindiniai simptomai kyla dėl motorinių neuronų nykimo ir neuroraumeninės sistemos sutrikimo [50]. Vienas ankstyviausių ir dažniausių ŠAS simptomų yra progresuojantis raumenų silpnumas, kuris dažnai prasideda lokalizuotai – vienoje galūnėje ar konkrečioje raumenų grupėje – ir ligai progresuojant plinta į kitas kūno sritis. Šį procesą lydi raumenų atrofija, atsirandanti dėl motorinių neuronų denervacijos ir sumažėjusio raumenų aktyvumo [51]. Raumenų silpnumas paprastai progresuoja asimetriškai, o tai yra vienas iš klinikinių požymių, padedančių atskirti ŠAS nuo kitų neuroraumeninių ligų.

Kitas būdingas ŠAS simptomas yra raumenų fascikuliacijos, kurios atsiranda dėl apatinių motorinių neuronų pažeidimo ir denervacijos procesų bei dažnai matomos dar prieš ryškią raumenų atrofiją [50]. Nors fascikuliacijos nėra specifinis, tik sergantiesiems ŠAS būdingas simptomas, tačiau derinys su progresuojančiu raumenų silpnumu gali turėti diagnostinę reikšmę.

Viršutinių motorinių neuronų (VMN) pažeidimas ŠAS atveju paprastai pasireiškia centrinio motoneurono pažeidimo simptomatika – padidėjusiu raumenų tonusu, hiperrefleksija ir patologiniais refleksais. Šie simptomai dažnai gali pasireikšti kartu su AMN pažeidimo požymiais, sudarydami būdingą mišrų klinikinį vaizdą ir yra vieni iš pagrindinių ŠAS diagnostinių kriterijų [36].

Ligai progresuojant, daliai pacientų išsivysto bulbariniai simptomai (dizatrija, disfagija), susiję su galvos smegenų kamieno motorinių branduolių pažeidimu, o tai gali reikšmingai bloginti paciento gyvenimo kokybę bei didinti aspiracijos ir mitybos nepakankamumo riziką [51, 52]. Bulbarinė simptomatika gali pasireikšti tiek ligos pradžioje, tiek išsivystyti vėlesnėse ligos stadijose.

Nors ŠAS tradiciškai laikoma motorinio neurologo liga, klinikiniai tyrimai rodo, kad daliai pacientų gali pasireikšti ir kognityviniai bei elgesio pokyčiai. Šie simptomai apima vykdomųjų funkcijų sutrikimus, elgesio pokyčius ir emocinį labilumą, o kai kuriais atvejais gali atitikti frontotemporalinės demencijos kriterijus [36, 50].

Kvėpavimo raumenų silpnumas kaip pirmasis simptomas pasireiškia tik nedidelei daliai ŠAS pacientų, nes kvėpavimo funkcijos sutrikimas dažniau išsivysto vėlesnėse ligos stadijose ir yra susijęs su blogesne ligos prognoze [53, 54].

### **1.1.3. Šoninė amiotrofinė sklerozė ir autonominės nervų sistemos sutrikimas**

Nors ŠAS yra motorinių neuronų pažeidimo liga, tačiau vis daugiau tyrimų rodo, kad ligos eigoje gali būti pažeidžiamos ir nemotorinės nervų sistemos struktūros, įskaitant ANS. ANS yra atsakinga už organizmo nevalingų funkcijų reguliavimą, tokių kaip širdies ritmo ir kraujospūdžio kontrolė, virškinimas, šlapinimasis, prakaitavimas, vyzdžių reaktyvumas bei kvėpavimo reguliacija. ANS sutrikimo metu gali pasireikšti įvairūs klinikiniai simptomai: ortostatinė hipotenzija su galvos svaigimu ar alpimu, širdies ritmo sutrikimai, virškinimo trakto motorikos pokyčiai, šlapimo pūslės funkcijos sutrikimai, prakaitavimo ir termoreguliacijos sutrikimai bei seksualinės disfunkcijos [55–57].

ANS sutrikimai ŠAS sergantiems pacientams dažniausiai pasireiškia be aiškių klinikinių simptomų, tačiau objektyvūs tyrimai atskleidžia reikšmingus simpatinės ir parasimpatinės nervų sistemos reguliacijos sutrikimus. Moksliniai tyrimai rodo, kad sergantiems ŠAS pacientams nustatomi kardiovaskulinės autonominės kontrolės pakitimai, tokie kaip sumažėjęs ŠRV ir sutrikęs barorefleksinis atsakas, rodantys pakitusį simpatinės ir parasimpatinės nervų sistemos balansą [58]. Vėlesni elektrofiziologiniai tyrimai, vertinę simpatinės odos reakcijos ir ŠRV parametrus, patvirtino, kad ANS sutrikimai sergantiems ŠAS pacientams yra dažni ir gali pasireikšti jau ankstyvose ligos stadijose, nepriklausomai nuo motorinių simptomų sunkumo [59].

Šie simptomai gali turėti reikšmingą neigiamą poveikį pacientų gyvenimo kokybei ir ligos prognozei, todėl jų sistemingas vertinimas tampa vis svarbesnis klinikinėje praktikoje ir moksliniuose tyrimuose.

#### **1.1.4. Šoninės amiotrofinės sklerozės diagnostika**

ŠAS diagnozuojama remiantis šoninės amiotrofinės sklerozės diagnostiniais kriterijais (angl. *Gold Coast*) [60], kurie buvo sukurti siekiant supaprastinti ir standartizuoti diagnozės patvirtinimą. ŠAS diagnozė patvirtinama, kai stebimas progresuojantis viršutinių ir apatinių motorinių neuronų pažeidimas, kuris nėra susijęs su kita patologija. Nors diagnozė remiasi klinikiniais požymiais ir ligos eigos stebėjimu, įvairūs diagnostiniai testai gali padidinti vertinimo tikslumą ir sumažinti klaidų tikimybę [61]. Tik nedidelė dalis sergančiųjų ŠAS atvejų yra paveldimi ir siejami su genų mutacijomis, tokiomis kaip SOD1, C9orf72 ir TARDBP [62]. Nors elektroneuromiografija (ENMG) yra diagnostikos aukso standartas nustatant ŠAS, jos jautrumas nėra absoliutus ir gali priklausyti nuo specialisto patirties. Šis apribojimas ypač ryškus ŠAS atvejais, kai dominuoja VMN pažeidimas, ypač kai liga prasideda bulbarine forma. Vis dėlto ENMG išlieka naudinga nustatant subklininius apatinių motorinių neuronų (AMN) pažeidimus, pateikdama svarbių duomenų klinicinei ŠAS diagnozei pagrįsti [63].

#### **1.1.5. Klajoklio ir diafragminio nervo pokyčiai sergant šonine amiotrofine skleroze**

Sergant ŠAS gali būti nustatomi ne tik KN [64–66], DN [14], bet ir galūnių periferinių nervų degeneraciniai pokyčiai [12]. Aukštos raiškos ultragarsiniai tyrimai parodė reikšmingą KN atrofiją pacientams, kuriems pasireiškė bulbariniai simptomai, o tai rodo motorinių skaidulų degeneraciją nervo viduje. Manoma, kad ši atrofija atsiranda dėl motorinių neuronų dege-

neracijos smegenų kamieno branduoliuose, tokiuose kaip dvejiniam branduolyje (lot. *nucleus ambiguus*), kuris inervuoja rijimo ir kalbos raumenis [65], todėl KN atrofija gali prisidėti prie dažnai ŠAS būdingų bulbarinių funkcijų sutrikimų, tokių kaip disfagija ir dizartrija [67].

Sergant ŠAS periferinių nervų struktūriniai pokyčiai apima aksonų degeneraciją, mielino pažeidimus ir nervinių skaidulų atrofiją, kurie gali pasireikšti dar ankstyvose ligos stadijose [68]. Šie pakitimai siejami su degeneraciniais ir uždegiminiais procesais, veikiančiais nervo vientisumą, o periferinių nervų struktūros vertinimas, įskaitant skerspjūvio plotą ir echostruktūrą, gali suteikti papildomos informacijos apie ligos patofiziologiją ir ankstyvą diagnostiką. Kartu su autonominės nervų sistemos disfunkcija, pasireiškiančia kardiovaskuliniais, kvėpavimo, virškinimo ir urogenitaliniais sutrikimais [69], šie duomenys rodo, kad periferinės ir autonominės nervų sistemos pažeidimai gali išryškėti dar prieš kliniškai akivaizdžią raumenų atrofiją, patvirtinamą klinikiniu ištyrimu ar ENMG tyrimu [70].

### **1.1.6. Šoninės amiotrofinės sklerozės gydymas ir prognozė**

ŠAS vis dar išlieka progresuojanti nepagydoma NL. Vieninteliai patvirtinti vaistai, kurie gali sulėtinti ligos progresavimą, yra riluzolis. Riluzolio poveikis atsitiktinių imčių kontroliuojamuose tyrimuose parodė, kad 12 mėnesių išgyvenamumo tikimybė išauga nuo 58 proc. (placebo) iki 74 proc. (100 mg/d riluzolio) [71] ir buvo įrodyta, jog šio vaisto poveikis yra priklausomas nuo dozės [72, 73]. Taip pat gydymui skiriamas edaravonas, kuris, vertinant pagal pakoreguotą ŠAS funkcinės būklės skalę (ALSFRS-R), parodė lėtesnį ligos progresavimą ankstyvos ligos stadijos pacientams [74]. Vienas svarbiausių gydymo metodų yra neinvazinė ventiliacija (NIV) – atsitiktinių imčių kontroliuoto tyrimo duomenimis, pacientams, neturintiems ryškios bulbarinės disfunkcijos, NIV prailgino išgyvenamumą vidutiniškai 205 dienomis ir pagerino gyvenimo kokybės rodiklius. [75–79]. Be to, didelės apimties populiacinis tyrimas, atliktas Airijoje ir Šiaurės Airijoje, parodė, kad pacientai, lankantys multidisciplines ŠAS klinikas, turi reikšmingai geresnę išgyvenamumo perspektyvą, palyginti su tais, kurie gavo įprastinę bendrosios medicinos priežiūrą [80]. Metodai apimantys kvėpavimo sistemos palaikymą, mitybos priežiūrą ir koordinuotą multidisciplininį specialistų komandos darbą – sudaro tvirtą pagrindą šoninės ŠAS priežiūrai, net ir esant vaistų stokai, kurie galėtų tiesiogiai veikti ligos eigą. ŠAS prognozė yra itin įvairi: vidutinė išgyvenamumo trukmė nuo simptomų pradžios paprastai siekia 2–5 metus, tačiau dalis pacientų išgyvena dešimtmetį ar dar ilgiau. Tuo tarpu vyresnis amžius ligos pradžioje ir bulbarinė ligos forma gali būti

siejamas su trumpesniu išgyvenamumu, o ligos pradžia pasireiškianti piramidinės sistemos pažeidimu galūnėse ir jaunesnis amžius dažniau būna susiję su palankesne ligos eiga ir ilgesniu išgyvenamumu. Be to, kvėpavimo funkcijos sutrikimai ir greitesnis funkcinės būklės blogėjimas taip pat gali būti susijęs su nepalankesne ligos prognoze [50, 81, 82]. Asmeninės rizikos vertinimas pagerėjo įdiegus amiotrofinės lateralinės sklerozės tyrimų tinklo (angl. *European network to cure ALS*, ENCALS) išgyvenamumo modelį, kuris integruoja pagrindinius klinikinius ir genetinius rodiklius – amžių, ligos formą, ALSFRS-R balų mažėjimo spartą, kvėpavimo funkciją bei C9orf72 mutacijos statusą – siekiant sudaryti individualizuotas ŠAS išgyvenamumo prognozes [83]. Taip pat kraujyje ir smegenų skystyje randamos padidėjusios neurofilamento lengvosios grandinės (NfL) ŠAS atvejais gali koreliuoti su greitesniu ligos progresavimu bei trumpesniu išgyvenamumu, todėl NfL ištyrimas gali būti naudojamas kartu su klinikiniu ištyrimu [84, 85].

Apibendrinant galima teigti, kad ŠAS yra heterogeninė NL, pasižyminti ne tik AMP ir VMN pažeidimu, bet ir ANS sutrikimu. Nors klinikinėje praktikoje ŠAS diagnostika daugiausia remiasi motorinių simptomų vertinimu ir elektroneuromiografija, vis daugiau duomenų rodo, kad periferinių nervų struktūriniai pokyčiai ir ANS gali pasireikšti ankstyvose ligos stadijose, nepriklausomai nuo motorinių simptomų sunkumo. DN ir KN nervų ultragarsiniai struktūriniai pakitimai bei kardiovaskulinės ANS sutrikimai gali suteikti papildomos informacijos apie ligos patofiziologiją, eigą ir prognozę. Tačiau šių pokyčių sisteminis vertinimas ir jų tarpusavio sąsajų analizė vis dar išlieka nepakankamai iširta sritis, sudaranti prielaidas tolesniems tyrimams ir naujų neinvazinių diagnostinių žymenų paieškai.

## **1.2. Parkinsono liga**

### **1.2.1. Parkinsono ligos apibrėžimas**

PL pirmą kartą 1817 m. daktaro Jameso Parkinsono aprašyta ir pavadinta „drebulio paralyžiumi“, yra ilgalaikė, progresuojanti liga, pasižyminti tiek motorinių, tiek nemotorinių funkcijų nykimu. Ši liga daro reikšmingą poveikį ja sergantiems asmenims, jų šeimoms ir slaugytojams, nes palaipsniui blogina judesių tikslumą bei raumenų koordinaciją [86].

PL sergamumas paprastai siekia 10–50 atvejų 100 000 asmenų per metus, o paplitimas – 100–300 atvejų 100 000 gyventojų [87]. Liga pasireiškia 1 proc. asmenų, vyresnių nei 60 metų. Jaunesniems nei 50 metų asmenims ši liga pasitaiko retai, tačiau vyresnio amžiaus gyventojų grupėje jos paplitimas padidėja iki 4 proc. Šie duomenys pabrėžia aiškų amžiui priklausomą ligos

paplitimo pobūdį – vyresniame amžiuje stebimas ryškus sergamumo padidėjimas [88]. PL rečiau pasitaiko Azijoje nei Šiaurės Amerikoje, Europoje ir Australijoje [89].

Aplinkos rizikos veiksniai, tokie kaip rūkymas, kavos ir arbatos vartojimas bei kontaktas su pesticidais, ypač chlororganiniais insekticidais, yra siejami su PL. Šie veiksniai pabrėžia sudėtingą genetinių ir aplinkos veiksnių sąveiką, lemiančią PL vystymąsi [90].

PL vystymasis gali būti nulemtas genetinių ir aplinkos veiksnių bei senėjimo procesų sąveikos. Nors egzistuoja paveldimos šios ligos formos, dauguma atvejų yra idiopatiniai ir neturi aiškiai apibrėžtos priežasties. Šis PL etiologijos neapibrėžtumas paskatino įvairių galimų rizikos veiksnių tyrimus [91]. PL plačiai pripažįstama kaip motorinius įgūdžius veikianti liga, tačiau ji taip pat stipriai pažeidžia daugelį sistemų, įskaitant ANS. ANS sutrikimai dažnai pasireiškia dar prieš motorinių simptomų atsiradimą, pabrėždami sisteminį PL pobūdį [34].

#### **1.2.1.1. Parkinsono ligos motoriniai simptomai**

PL kliniškai pasireiškia motorinių simptomų kompleksu, apibrėžiamu kaip parkinsonizmas, kurio pagrindinis ir būtinas diagnostinis kriterijus yra bradikinezė, kuri pasireiškia judesių sulėtėjimu, sumažėjusia judesių amplitude bei sunkumu pradėti judesį [92]. Bradikinezę dažnai lydi kiti motoriniai simptomai, tokie kaip ramybės tremoras, rigidiškumas bei laikysenos ir eisenos sutrikimai. Ramybės tremoras paprastai pasireiškia ligos pradžioje vienoje kūno pusėje, yra ryškesnis ramybės būsenoje bei sumažėja atliekant valingus judesius. Nors ramybės tremoras dažnai nustatomas PL sergantiems pacientams, jis nėra privalomas diagnostinis kriterijus ir gali nepasireikšti visiems pacientams. Rigidiškumas apibūdinamas nuolat padidėjusiu raumenų tonusu, kuris išlieka viso pasyvaus judesio metu ir nepriklauso nuo judesio greičio; klinikinio ištyrimo metu dažnai nustatomas vadinamasis „dantračio“ fenomenas [93]. Progresuojant ligai, ryškėja eisenos ir laikysenos sutrikimai, sumažėja fiziologinės sinkinezės einant, atsiranda sunkumas pradėti judesį, pasisukti ar atsistoti iš sėdimos padėties, taip pat atsiranda „eisenos užšalimo“ (angl. *freezing of gait*) epizodai, kurie reikšmingai didina griuvimų riziką ir blogina pacientų funkcinį pajėgumą bei gyvenimo kokybę, ypač vėlesnėse PL stadijose [94].

#### **1.2.1.2. Parkinsono ligos nemotoriniai simptomai**

PL pasižymi ne tik motoriniais, bet ir įvairiais nemotoriniais simptomais, kurie gali pasireikšti dar prieš motorinių požymių atsiradimą ir reikšmingai prisidėti prie ligos klinikinės naštos bei gyvenimo kokybės blogėjimo. Vieni

dažniausių nemotorinių simptomų yra kognityviniai sutrikimai, apimantys dėmesio, vykdomųjų funkcijų, atminties ir informacijos apdorojimo greičio pablogėjimą; progresuojant ligai, daliai pacientų išsivysto PL demencija [94]. Ne mažiau svarbūs yra afektiniai ir neuropsichiatriniai simptomai, tokie kaip depresija, nerimas ir apatija, kurie gali pasireikšti bet kurioje ligos stadijoje, dažnai nepriklausomai nuo motorinių simptomų sunkumo, ir neretai lieka nepakankamai diagnozuoti [95]. PL sergantiems pacientams taip pat būdingi miego sutrikimai, įskaitant nemigą, fragmentuotą miegą, dieninį mieguistumą bei greitų akių judesių miego sutrikimą (angl. *rapid eye movement*, REM), kuris laikomas vienu svarbiausių prodrominių Parkinsono ligos požymių ir gali pasireikšti daugelį metų prieš motorinių simptomų pradžią [96]. Be to, dažnai nustatomi sensoriniai ir suvokimo sutrikimai, ypač uoslės susilpnėjimas ar praradimas, kuris pasireiškia didžiąjai daliai pacientų ankstyvose ligos stadijose ir laikomas ankstyvu neurodegeneracijos žymeniu [97]. Prie nemotorinių simptomų taip pat priskiriami skausmas, nuovargis, nuotaikos svyravimai ir kiti nespecifiniai pojūčiai, kurie dažnai būna lėtiniai, sunkiai koreguojami ir daro reikšmingą neigiamą poveikį kasdinei paciento veiklai bei psichosocialinei savijautai [98].

### 1.2.1.3. Parkinsono liga ir autonominės nervų sistemos sutrikimai

PL turi klasikinius motorinius simptomus (tremorą, bradikinezę, rigidiškumą), tačiau ligos metu gali pasireikšti nemotoriniai ANS funkcijos sutrikimo simptomai. Pastaraisiais dešimtmečiais ANS sutrikimai gali atsirasti tiek ankstyvose PL ligos stadijose, tiek progresuojant ligai, ir yra susiję su žymiu pacientų gyvenimo kokybės blogėjimu – ne tik dėl tiesioginių simptomų, bet ir dėl padidėjusios komplikacijų rizikos bei gydymo iššūkių [99].

Patofiziologiškai PL ANS funkcijų sutrikimai yra susiję su  $\alpha$ -syn pokyčiais, kurie yra vieni pagrindinių ligos neuropatologijų požymių. Lewy kūnelių ir Lewy neuritų sankaupos nustatomos ne tik dopaminerginėse motorinėse struktūrose, bet ir centrinėse autonominės reguliacijos srityse, įskaitant smegenų kamieno branduolius (ypač dorsalinį KN branduolį), pogumburyje bei kituose centrinio autonominio tinklo komponentuose [100, 101]. Be to, daugelis neuropatologinių tyrimų parodė, kad  $\alpha$ -syn sankaupos aptinkamos ir periferinėse autonominėse struktūrose, tokiose kaip KN, simpatiniai ganglijai ir enterinė nervų sistema, net ir tais atvejais, kai motoriniai simptomai dar nėra ryškūs [99, 100]. Šie pakitimai sudaro pagrindą vadinamajai „body-first“ PL hipotezei, pagal kurią patologinis procesas gali prasidėti periferinėje autonominėje nervų sistemoje – ypač virškinimo trakte ar KN aferentinėse skaidulose – ir vėliau pereiti ir išplisti į centrinę nervų sistemą. Šią hipotezę

patvirtina autopsiniai tyrimai, kuriuose  $\alpha$ -syn patologija nustatoma periferinėse struktūrose ankstyvose Lewy kūnelių ligos stadijose, laikomose pradinėmis Parkinsono ligos formomis [99, 101, 102]. Nors tai ir nepaaiškina visų PL fenotipų, ji padeda suprasti ankstyvą autonominių simptomų atsiradimą ir periferinės nervų sistemos vaidmenį ligos patogenezėje.

ANS funkcijos sutrikimai apima kardiovaskulinę, virškinimo, urogenitalinę, seksualinę bei termoreguliacinę funkcijas. Remiantis epidemiologiniais duomenimis, įvairaus laipsnio ANS disfunkcija skundžiasi iki 70–90 proc. pacientų. [99, 103]. Kardiovaskulinė ANS disfunkcija pasireiškia ortostatine hipotenzija, kuri yra susijusi su silpnu simpatiniu atsaku ir baroreflexinės funkcijos sutrikimu, todėl gali sukelti galvos svaigimą, sinkopę bei padidinti kritimų riziką. Tokia neurogeninė ortostatinė hipotenzija yra diagnozuojama, kai sistolinis arterinis kraujospūdis sumažėja bent  $\geq 20$  mm Hg ar diastolinis  $\geq 10$  mm Hg po 3 minučių stovint [103, 104]. Virškinimo trakto funkcijos sutrikimai yra vieni ankstyviausių ir dažniausių nemotorinių PL požymių. Vidurių užkietėjimas, disfagija ir sulėtėjęs skrandžio išsituštinimas dažnai pasireiškia dar prodrominėje ligos stadijoje ir siejami su enterinės nervų sistemos, bei KN patologija [99, 103]. Urogenitaliniai ir seksualiniai sutrikimai, tokie kaip šlapinimosi dažnumo pokyčiai, šlapimo nelaikymas ar erekcijos disfunkcija, yra dažni ir dažnai nepakankamai įvertinami klinikinėje praktikoje. Šie simptomai turi reikšmingą psichosocialinį poveikį ir prisideda prie bendros ligos naštos [98].

Ankstyvas ANS disfunkcijos atpažinimas yra būtinas siekiant efektyvaus gydymo, nes laiku pradėtas valdymas gali reikšmingai pagerinti pacientų būklę. Gydymas paprastai reikalauja kompleksinio požiūrio, pradedant nuo galimai simptomus sukeliančių vaistų identifikavimo ir jų nutraukimo. Individualizuotas, daugiadisciplininis gydymo metodas, kuriame dalyvauja neurologas, kardiologas ir ANS specialistas, leidžia optimizuoti pacientų priežiūrą [105].

### **1.2.2. Klajoklio nervo pokyčiai sergantiesiems Parkinsono liga**

KN inervuoja daugumą ryklės ir gerklų raumenų, būtinų rijimui ir kalbai, taip pat atlieka svarbų vaidmenį kalbos valdyme ir kvėpavimo takų apsaugoje, reguliuodamas šių raumenų veiklą. Krūtinės ląstoje KN suteikia pagrindinę parasimpatinę inervaciją širdžiai, dalyvaudamas širdies ritmo reguliacijoje ir skatindamas širdies aktyvumo sumažėjimą [106, 107], taip palaikydamas širdies ir kraujagyslių sistemos pusiausvyrą ramybės ir virškinimo metu [108, 109].

KN tradiciškai buvo daugiausia tiriamas dėl savo poveikio vidaus organų funkcijų reguliacijai, ypač dėl vaidmens kaip simpatinės nervų sistemos

antagonisto. Dauguma vidaus organų parasimpatinę inervaciją gauna per KN. Parasimpatinė ir simpatinė nervų sistemos veikia dinamiškai priešingai, kartu reguliuodamos pagrindines ANS funkcijas ir palaikydamos fiziologinę pusiausvyrą [110]. Simpatinės sistemos aktyvacija sukelia kraujagyslių susiaurėjimą, bronchų išsiplėtimą, širdies ritmo padažnėjimą bei žarnyno ir šlapimo pūslės sfinkterių susitraukimą – tai paruošia organizmą stresui ir aktyvumui. Tuo tarpu KN užtikrina parasimpatinę įtaką šioms sistemoms, skatindamas atsipalaidavimą ir vidaus organų veiklos normalizavimą [111].

Neuropatologiniai tyrimai rodo, kad centrinį ANS tinklą, apimantį smegenų žievę, insuliarinę žievę, pagumburį, smegenų kamieną ir nugaros smegenis, pažeidžia tiek neuronų nykimas, tiek  $\alpha$ -syn sankaupos [112–117]. Periferinėje ANS taip pat rodo reikšmingą neuronų nykimą bei  $\alpha$ -sinukleino pakitimus sergant PL ypač KN, simpatinių nervinių skaidulų ir enterinių nervinių rezginių. Svarbu, kad  $\alpha$ -syn sankaupos šiose periferinėse struktūrose gali kauptis anksčiau nei centrinėje nervų sistemoje, o tai leidžia daryti prielaidą apie galimą ir periferinę ligos kilmę [117–120].

Senstant KN aferentinėse skaidulose atsiranda struktūrinių pakitimų, kurie sutrikdo virškinamojo trakto jutiminį grįžtamąjį ryšį ir motorikos reguliaciją. Taip pat stebimi struktūriniai (morfologiniai, histopatologiniai ir neurodegeneraciniai) pokyčiai mazginiuose ir nugaros smegenų ganglijuose bei KN aferentinėse nervinėse galūnėse virškinimo trakte, dėl kurių blogėja nervinių impulsų perdavimas. Šie pokyčiai lemia KN aferentinių skaidulų funkcijos silpnėjimą ir prisideda prie virškinimo funkcijos sutrikimų, įskaitant virškinamojo trakto motorikos sutrikimus bei visceralinį hiperjautrumą [121].

### **1.2.3. Parkinsono ligos diagnostika**

Klinikinėje praktikoje PL diagnostika kelia iššūkių, nes šiuo metu nėra vieno specifinio biologinio žymens, todėl diagnozė dažniausiai grindžiama klinikiniais kriterijais. Pastaraisiais dešimtmečiais sukurta keletas diagnostinių sistemų, iš kurių šiuo metu plačiausiai taikomi Judesių sutrikimų asociacijos (angl. *Movement Disorder Society*, MDS) kriterijai [92]. Jie pasižymi didesniu jautrumu ir specifiškumu, palyginti su anksčiau naudotais Jungtinės Karalystės Parkinsono ligos asociacijos smegenų banko (angl. *UK Parkinson's Disease Society Brain Bank*) kriterijais [122]. Pagal MDS kriterijus, PL diagnozei patvirtinti svarbios specifinės motorinių simptomų kombinacijos – bradikinezija, tremoras ir rigidiškumas – bei būdinga teigiama reakcija į gydymą. Papildomi vaizdiniai ar laboratoriniai tyrimai dažniausiai atliekami siekiant atmesti kitas galimas ligas [92]. Naujesni biožymenimis grįsti tyri-

mai rodo daug žadančias galimybes.  $\alpha$ -syn aptikimas kraujo ir seilių mėginiuose, taikant  $\alpha$ Syn-SAA metodą, pasiekia aukštą diagnostinį tikslumą – apie 95 proc. jautrumą ir 92 proc. specifiškumą – panašų į smegenų skysčio tyrimų rodiklius, tačiau yra mažiau invazyvus. Platesnės biožymenų apžvalgos rodo reikšmingą pažangą smegenų skysčių, vaizdinimo (angl. *neuroimaging*) ir genetinių metodų srityse [123, 124]. Be to, taikomi ir neinvaziniai pagalbiniai tyrimai, tokie kaip transkranijinė sonografija (TKS) [125] bei uoslės funkcijos vertinimas [126]. Taigi, nors šiuo metu PL diagnostika vis dar pagrįsta klinikiniais kriterijais, žymenų ir technologinių metodų plėtra leidžia tikėtis tikslesnės ir ankstyvesnės diagnostikos ateityje.

#### 1.2.4. Parkinsono ligos gydymo principai ir prognozė

PL gydymas yra kompleksinis ir individualizuotas, siekiant palengvinti simptomus bei pagerinti paciento gyvenimo kokybę, kadangi ligos progresavimo sustabdyti šiuo metu nėra galimybių. Pagrindinis gydymo principas – dopaminerginės funkcijos atkūrimas arba kompensacija. Pirmo pasirinkimo medikamentas dažniausiai yra levodopa kartu su dekarboksilazės inhibitoriumi, kuris išlieka efektyviausias simptomų kontrolės būdas [127]. Kiti dopaminerginiai preparatai, tokie kaip dopamino agonistai (pvz., pramipeksolis, ropiniolis) ar monoaminooksidazės B (MAO-B) inhibitoriai (selegilinas, rasagilinas), gali būti skiriami ankstyvose ligos stadijose arba vartojami kartu su levodopa, siekiant sumažinti motorinių komplikacijų riziką [128]. Progresuojant ligai, dažnai pasireiškia motorinės fluktuacijos ir diskinezijos, todėl taikomos kombinuotos gydymo schemos, įskaitant COMT inhibitorius ar levodopos infuzijas [129]. Nemotorinių simptomų valdymas apima anti-depresantų vartojimą, ANS sutrikimų korekciją bei kognityvinių simptomų kontrolę. Chirurginis gydymas – gilioji smegenų stimuliacija (GSS) – taikomas pažengusiose ligos stadijose pacientams, kurių simptomų nebeįmanoma efektyviai kontroliuoti farmakologinėmis priemonėmis [130]. Vis daugiau dėmesio skiriama nefarmakologiniams metodams: kineziterapijai, ergoterapijai, logopedinei pagalbai, psichosocialinei paramai bei naujoms technologijoms, pavyzdžiui, virtualios realybės treniruotėms. Šios priemonės gali padėti išlaikyti funkcinis gebėjimus ir pagerinti kasdienį gyvenimą [131]. Ateityje daug žadanti kryptis yra neuroprotektiniai bei ligos progresavimą modifikuojantys gydymo būdai, kurie šiuo metu dar tebėra klinikinių tyrimų stadijoje [94].

PL gydymo prognozė daugiausia susijusi su ilgaamžiškumu ir gyvenimo kokybe. Tinkamai parinkta dopaminerginė farmakoterapija, DSS bei nuoseklus fizinis aktyvumas leidžia ilgus metus išlaikyti gerą funkciją ir nepriklausomybę, nors liga išlieka progresuojanti. Nepalankesnę ligos eigą dažniausiai

prognozuoja vyresnis amžius, vyriškoji lytis, ryški motorinė negalia ar ašiniai simptomai (PIGD fenotipas), dažni kritimai, disfagija, infekcijos, demencija bei psichozė. Šių „klininių riboženklių“ atsiradimas ženkliai didina mirtinumo riziką, o jų kumuliacija ją dar labiau padidina. Ilgalaikėje perspektyvoje GSS patikimai ir ilgalaikiai pagerina motorinę funkciją bei gyvenimo kokybę, tačiau nekeičia ligos biologinės trajektorijos – levodopai atsparūs simptomai ir nemotorinės problemos vis tiek progresuoja. Tuo pat metu reguliarus fizinis aktyvumas išlieka vienu stipriausių teigiamų prognostinių veiksnių: aukštesnis fizinio aktyvumo lygis siejamas su lėtesne klinikine eiga ir geresniais ilgalaikiais rezultatais. Taigi, taikant šiuolaikinį simptominių gydymą ir reabilitaciją, dauguma pacientų gali daugelį metų išlaikyti gerą funkcinę būklę, tačiau sumažėjęs išgyvenamumas vis tiek išlieka, ypač esant kognityviniams bei ašiniams simptomams ir komplikacijoms, tokioms kaip kritimai ar infekcijos [132–138].

Apibendrinant galima teigti, kad PL yra sisteminė NL, pasireiškianti ne tik būdingais motoriniais simptomais, bet ir plačiu nemotorinių požymių spektru, tarp kurių ypač svarbūs ANS sutrikimai. Vis daugiau klinikinių ir neuropatologinių duomenų rodo, kad ANS ir periferinės nervų sistemos pažeidimai, įskaitant KN ir enterinę nervų sistemą, gali atsirasti ankstyvose ligos stadijose ir kai kuriais atvejais net preceduoti motorinių simptomų pasireiškimą. A-syn patologijos nustatymas periferinėse ANS struktūrose sudaro pagrindą „body-first“ PL patogenezės hipotezei ir pabrėžia periferinių nervų struktūros bei ANS funkcijos vertinimo svarbą. Nepaisant to, periferinių nervų struktūrinių pokyčių ir ANS funkcijos sutrikimo tarpusavio sąsajos klinikinėje praktikoje išlieka nepakankamai ištirtos, o neinvazinių, lengvai pritaikomų metodų ankstyvai diagnostikai vis dar trūksta. Tai pagrindžia poreikį sistemingai tirti KN struktūrinius pokyčius ir jų ryšį su ANS funkcijos sutrikimais sergant PL.

## 2. TIRIAMIEJI IR METODAI

### 2.1. Tiriamųjų atranka ir grupių sudarymas

Tyrimas vykdytas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos, Medicinos fakulteto (LSMU MA MF) bei Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (Kauno klinikų) Neurologijos klinikoje 2021–2025 metais. Jo atlikimui buvo gautas Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto patvirtinimas (protokolo Nr. BE-2-46).

Į tiriamųjų grupę įtraukti šonine amiotrofinė skleroze ir Parkinsono liga sergantys pacientai, kurie 2021–2024 metais buvo gydyti ir tirti Kauno klinikų Neurologijos klinikoje. Prieš atliekant tyrimą, visi dalyviai buvo informuoti apie tyrimo tikslą ir eigą bei pasirašė informuoto sutikimo dokumentus (informuoto asmens sutikimo forma pateikiama 1 priede).

#### 2.1.1. Tiriamųjų įtraukimo į biomedicininį tyrimą kriterijai

Siekiant užtikrinti tyrimo rezultatų patikimumą ir tiriamųjų grupių homogeniškumą, prieš įtraukiant pacientus į biomedicininį tyrimą buvo nustatyti aiškūs įtraukimo kriterijai. Tiriamųjų atranka vykdyta remiantis klinikiniais, diagnostiniais ir instrumentiniais duomenimis, leidžiančiais patvirtinti PL arba ŠAS diagnozę ir atmesti kitas galimas neurologines ar neurorauumenines patologijas, galinčias turėti įtakos ANS funkcijai ar periferinių nervų struktūrai.

Į tyrimą buvo įtraukiami pacientai, atitinkantys šiuos kriterijus:

1. Vyresni nei 18 metų pacientai.
2. Gydomi Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (Kauno klinikų) Neurologijos klinikos Nervų sistemos ligų ambulatoriniame skyriuje ir Neurologijos skyriuje, kuriems diagnozuota Parkinsono liga ar šoninė amiotrofinė sklerozė.  
PL diagnozė patvirtinta remiantis MDS klinikiniais diagnostiniais kriterijais [92].  
ŠAS patvirtinta remiantis *Gold Coast* diagnostiniais kriterijais [60].
3. Elektrofiziologiniais ir vaizdiniais tyrimais nėra įtariama kita liga: daugiažidininė motorinė polineuropatija, lėtinė uždegiminė polineuropatija, smulkių skaidulų polineuropatija, ūmi polineuropatija (Guillain-Barre sindromas, toksinė polineuropatija); nustatyta kita neurodegeneracinė liga (frontotemporalinė demencija, supranuklearinis paralyžius, išsėtinė sklerozė, Huntingtono liga), neurorauumeninės jungties ligos (generalizuota miastenija).

Tyrimo kriterijus atitiko 60 PL pacientų ir 32 ŠAS pacientai, kurie buvo gydyti Kauno klinikų Nervų sistemos ligų ambulatoriniame ir Neurologijos skyriuje.

PL pacientams buvo atliekami šie tyrimai:

- 1) klinikinis tyrimas (neurologinis ištyrimas, ligos stadijos patikslinimas naudojant Hoehn Yhr skalę (2 priedas), įvertinti antropometriniai duomenys, demografiniai rodikliai);
- 2) klajoklio nervo ultragarsinis tyrimas atliktas naudojant aukštos raiškos ultragarso aparatą „Philips EPIQ 7“ (Philips Healthcare, Koninklijke Philips N.V., Nyderlandai, 2019.04.25) su linijiniu 4–18 MHz davikliu. Tyrimo metu taikyti aukšti dažniai (12–18 MHz), optimizuoti paviršinių nervų vizualizacijai, vaizdinimas atliktas B režimu, fokusą nustatant tiriamo nervo gylyje (CE 0086);
- 3) 24 val. trukmės Holterio monitoravimas;
- 4) Sudėtinė autonominių simptomų skalė-31 (COMPASS-31).

ŠAS pacientams buvo atliekami šie tyrimai:

- 1) klinikinis ištyrimas (neurologinis ištyrimas, ligos formos patikslinimas, įvertinti antropometriniai duomenys, demografiniai rodikliai (3 priedas));
- 2) klajoklio ir diafragminio nervų ultragarsinis tyrimas atliktas naudojant aukštos raiškos ultragarso aparatą „Philips EPIQ 7“ (Philips Healthcare, Koninklijke Philips N.V., Nyderlandai, 2019.04.25) su linijiniu 4–18 MHz davikliu. Tyrimo metu taikyti aukšti dažniai (12–18 MHz), optimizuoti paviršinių nervų vizualizacijai, vaizdinimas atliktas B režimu, fokusą nustatant tiriamo nervo gylyje (CE 0086);
- 3) 24 val. trukmės Holterio monitoravimas;
- 4) Sudėtinė autonominių simptomų skalė-31 (COMPASS-31).

### **2.1.2. Kontrolinė pacientų grupė**

Siekiant įvertinti periferinių nervų ultragarsinių ir ANS funkcijos rodiklių pokyčius sergant PL ir ŠAS bei juos palyginti su normatyviniais rodikliais, į tyrimą buvo įtraukta kontrolinė pacientų grupė. Kontrolinės grupės tiriamieji parinkti taip, kad nebūtų nustatyta neurologinių, neurodegeneracinių ar neuroraumeninės jungties ligų, galinčių turėti įtakos periferinių nervų struktūrai ar autonominės nervų sistemos funkcijai.

Buvo įtraukti:

1. Vyresni nei 18 metų pacientai.
2. Asmenys, kuriems klinikinio neurologinio ištyrimo, elektroneuromiografijos ir vaizdinių tyrimų (galvos smegenų magnetinio rezonanso ar kompiuterinės tomografijos) metu nenustatyta polineuropatijų, neurodegeneracinių ar neuroraumeninės jungties ligų.
3. Kontrolinę grupę sudarė tiriamieji, tirti Kauno klinikų Nervų sistemos ligų ambulatoriniame ir Neurologijos skyriuje, kuriems atlikus klinikinį ir instrumentinį ištyrimą nenustatyta neurologinė patologija, galinti turėti įtakos tyrimo rezultatams.

## 2.2. Klinikinis tyrimas

Kiekvienam pacientui, sergančiam PL ir ŠAS buvo užpildytas individualus klausimynas (2 priedas (PL) ir 3 priedas (ŠAS)), o surinkti duomenys įvesti į kompiuterinę duomenų bazę analizei. Klausimyne buvo pateikti klausimai apie demografinius ir klinikinius požymius: lytį, amžių, ligos trukmę, gretutines ligas, vartojamus vaistus; fiziologinius parametrus: ūgį, svorį, KMI, liemens ir klubų apimtį; įvertinta neurologinė būklė (ligos stadija ar ligos forma) diagnozės nustatymo metu ir tyrimo metu, remiantis klinikiniais simptomais ir objektyvaus neurologinio ištyrimo duomenimis. Prieš ištyrimą peržiūrėta medicininė dokumentacija, susistemintos žinios apie ligos pradžią, vyraujančius simptomus. Įvertinti atlikti tyrimai (elektroneuromiografija, magnetinio rezonanso tyrimas).

### 2.2.1. Pagrindinės grupės klinikinės charakteristikos

Siekiant apibūdinti tiriamųjų grupę ir įvertinti galimus klinikinius veiksnius, galinčius turėti įtakos tyrimo rezultatams, buvo surinktos ir išanalizuotos pagrindinės PL ir ŠAS sergančių pacientų klinikinės charakteristikos. Šios charakteristikos apėmė demografinius duomenis, ligos pradžios ir eigos ypatumus, gretutines ligas, šeiminių anamnezę, autonominės nervų sistemos funkcijos rodiklius bei taikomą medikamentinį gydymą.

*Amžius ligos pradžioje:* įvertintas tiriamojo paciento amžius metais pasireiškus pirmiesiems ligos simptomams.

*Pirmieji simptomai ligos pradžioje:* buvo įvertinta, kokie buvo pirmieji ligos simptomai (kuri klinikinė išraiška ŠAS ligos atveju ir kuri pusė PL ligos atveju).

*Ligos trukmė:* abiejų ligų atvejų ligos trukmė laikytas periodas nuo diagnozės nustatymo dienos iki įtraukimo į tyrimą. Įvertintos gretutinės ligos nuo ligos nustatymo dienos iki įtraukimo į tyrimą.

*Šeiminė anamnezė:* buvo vertinama neurodegeneracinių ligų anamnezė pirmos eilės giminaičiams (tėvams, broliams, seserims). Tais atvejais, kai tiriamieji neturėjo informacijos apie tokių ligų buvimą šeimoje, buvo laikoma, kad šeiminė anamnezė yra neigiama.

*ANS vertinimas:* vertinta naudojant sudėtinę autonominių simptomų skalę 31 – COMPASS-31 (kartu 1 ir 2 prieduose). Vertinta ortostatinis netoleravimas, vazomotorinė, sekretinė, virškinimo, šlapimo pūslės ir vyzdžio funkcija.

*Medikamentinis gydymas:* ŠAS ligos atveju įvertinta ar pacientas gauna specifinį gydymą riluzoliu ar kitu preparatu.

### **2.2.2. Kontrolinės grupės charakteristikos**

Kontrolinės grupės tiriamiesiems buvo įvertintos demografinės savybės – lytis ir amžius – bei fiziologiniai rodikliai, tokie kaip ūgis, svoris, KMI, liemens ir klubų apimtis. Kontrolinės grupės duomenys buvo surinkti iš pačių tiriamųjų bei jų medicininės dokumentacijos, įskaitant informaciją apie nustatytas ligas ir anksčiau atliktus tyrimus.

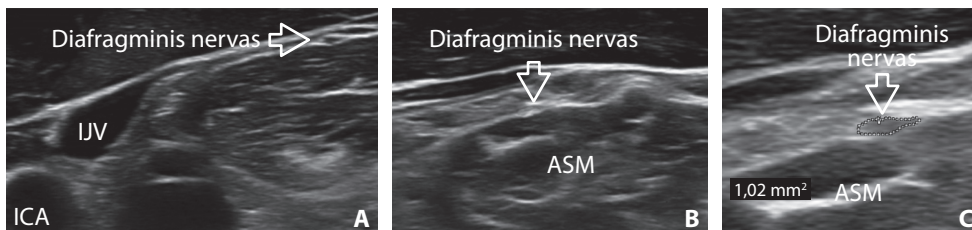
## **2.3. Ultragarsinis diafragminio ir klajoklio nervų tyrimas**

Abiejų nervų – diafragminio ir klajoklio – ultragarsinį tyrimą atliko du nepriklausomi tyrėjai, naudodami aukštos raiškos ultragarso aparatą „Philips EPIQ 7“ (Philips Healthcare, Koninklijke Philips N.V., Nyderlandai, 2019.04.25) su linijiniu 4–18 MHz davikliu. Tyrimo metu taikyti aukšti dažniai (12–18 MHz), optimizuoti paviršinių nervų vizualizacijai, vaizdinimas atliktas B režimu, fokusą nustatant tiriamo nervo gylyje (CE 0086). KN ultragarsinis tyrimas atliktas kaklo srityje, skersinėje plokštumoje, miego makštyje tarp bendrosios miego arterijos ir vidinės jungo venos. DN ultragarsinis tyrimas atliktas kaklo srityje virš raktikaulio, skersinėje plokštumoje, priekinio laiptinio raumens (lot. *m. scalenus anterior*) paviršiuje.

### **2.3.1. Diafragminio nervo vertinimas**

B režimo ultragarso vaizduose jungiamojo audinio makštyje, ant priekinio laiptinio raumens paviršiaus, buvo matoma verpstės formos struktūra su hipoechogenine šerdimi ir hiperechogenine periferija, identifikuota kaip DN. Buvo vertintas dešinysis ir kairysis DN. Siekiant tiksliai atskirti nervą nuo gretimų kraujagyslių, papildomai buvo naudojamas Doplerio režimas. Įvertintos kiekybinės ir kokybinės nervo savybės: echosandara (homogeniška arba heterogeniška) ir echogeniškumas (hipoechogeniškas, izoechogeniškas

ar hiperechogeniškas). DNSP buvo matuojamas rankiniu būdu, taikant rankinio kontūravimo (angl. *freehand tracing*) metodiką, apibrėžiant hipoechogeninę nervo šerdį hipoechogeniško–hiperechogeniško riboje ir neįtraukiant aplinkinio jungiamojo audinio, vadovaujantis Walter ir kt. (2019) aprašyta metodika (2.3.1.1 pav. C). Kiekvienas tyrėjas kiekvieną pusę matavo tris kartus (0,01 mm<sup>2</sup> tikslumu), apskaičiuotas vidurkis, o vėliau – bendras vidutinis rezultatas. Ultragarsinius nervų tyrimus atliko du nepriklausomi tyrėjai, turintys klinikinės patirties periferinių nervų ultragarsiniuose tyrimuose ir prieš tyrimo pradžią susipažinę su standartizuota tyrimo metodika. Pagrindinis tyrėjas turėjo periferinių nervų ultragarsinių tyrimų patirties, įgytos klinikinės stažuotės metu Viurcburge (Vokietija), kuri buvo perduota antrajam tyrėjui prieš tyrimo pradžią, taikant standartizuotą mokymo ir metodikos suderinimo procesą. Tyrėjai buvo neinformuoti apie vienas kito gautus duomenis, siekiant užtikrinti vertinimo objektyvumą.



**2.3.1.1 pav. (A) Normalus diafragminio nervo vaizdas sveikam savanoriui. (B) Diafragminio nervo ultragarso vaizdas ŠAS (šoninės amiotrofinės sklerozės) tiriamajam. (C) Metodika, skirta diafragminio nervo skerspjūvio ploto matavimui**

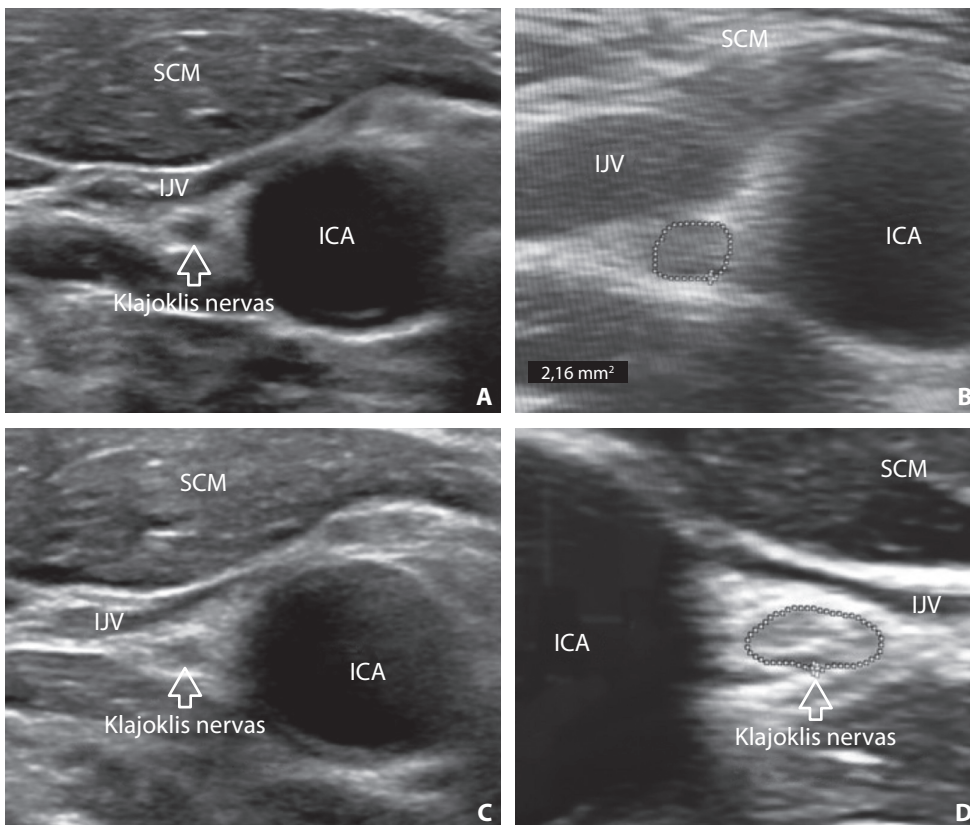
ASM (angl. *anterior scalenus muscle*) – priekinis laiptinis raumuo. IJV (angl. *internal jugular vein*) – vidinė miego vena. ICA (angl. *internal carotid arteria*) – vidinė miego arterija.

Kontrolinėje grupėje dešiniojo DNSP vidurkis buvo  $1,12 \pm 0,16$  mm<sup>2</sup>, o 95 proc. referentiniai normos dydžiai, apskaičiuotas kaip vidurkis  $\pm 1,96$  standartinio nuokrypio, siekė 0,80–1,43 mm<sup>2</sup>. Kairiojo diafragminio nervo storio vidurkis buvo  $1,08 \pm 0,13$  mm<sup>2</sup>, o 95 proc. referentinis normos dydis – 0,82–1,33 mm<sup>2</sup>.

Matavimų patikimumui įvertinti buvo apskaičiuotas tyrėjų preciziškumas. Vieno tyrėjo pakartotinių matavimų (*intra-rater*) patikimumas buvo labai geras (ICC = 0,92; 95 proc. PI: 0,89–0,94), taip pat nustatytas labai geras dviejų nepriklausomų tyrėjų matavimų suderinamumas (*inter-rater*) (ICC = 0,90; 95 proc. PI: 0,87–0,93). Gauti rezultatai patvirtina aukštą taikomo ultragarsinio tyrimo metodo patikimumą.

### 2.3.2. Klajoklio nervo vertinimas

B režimo ultragarsiniuose vaizduose KN buvo vizualizuotas šalia miego arterijos išsišakojimo, už vidinės ir bendrosios miego arterijos jungties. Buvo vertintas dešinysis ir kairysis KN. KNUG metu jis identifikuotas kaip struktūra su jungiamojo audinio membrana, turinti hipoechogeninę vidinę dalį ir hiperechogeninę išorinę sluoksnį (2.3.2.1 pav.). Nervo skersmuo milimetrais buvo matuojamas dviejose vietose – ties miego arterijos lempute ir bendrosios miego arterijos išsišakojimo lygyje. Įvertinta nervo struktūra (homogeniška ar heterogeniška) bei echogeniškumas (hipoechogeniškas, izoechogeniškas arba hiperechogeniškas). Klajoklio nervo skerspjūvio ploto (KNSP) matavimui taikyta skersinės projekcijos metodika, aprašyta Walter (2018), apibrėžiant hipoechogeninę nervo ribą jo hiperechogeniškame pakraštyje. Kiekvienas tyrėjas kiekvieną pusę matavo tris kartus (0,01 mm<sup>2</sup> tikslumu); apskaičiuoti atskiri vidurkiai, o vėliau – bendras vidutinis rezultatas. Ultragarsinius nervų tyrimus atliko du nepriklausomi tyrėjai, turintys periferinių nervų ultragarsinių tyrimų patirties; pagrindinio tyrėjo patirtis, įgyta klinikinės stažuotės metu Viurcburge (Vokietija), prieš tyrimo pradžią buvo perduota antrajam tyrėjui, taikant standartizuotą mokymo ir metodikos suderinimo procesą. Abu tyrėjai dirbo nepriklausomai ir buvo neinformuoti apie vienas kito gautus duomenis, siekiant užtikrinti vertinimo objektyvumą.



**2.3.2.1 pav. (A)** Normalus klajoklio nervo vaizdas sveikam savanoriui (hipoechogeniškas, homogeniškas). **(B)** Metodika klajoklio nervo skerspjūvio ploto matavimui (izoechogeniškas, homogeniškas). **(C)** ŠAS paciento klajoklio nervo ultragarso vaizdas (hiperechogeniškas, homogeniškas). **(D)** ŠAS paciento klajoklio nervo vaizdas (hiperechogeniškas, heterogeniškas)

ASM (angl. *anterior scalenus muscle*) – priekinis laiptinis raumuo. IJV (angl. *internal jugular vein*) – vidinė jungo vena. ICA (angl. *internal carotid arteria*) – vidinė miego arterija.

Sveikų asmenų dešiniojo KNŠP buvo  $2,07 \pm 0,18 \text{ mm}^2$  (95 proc. PI: 2,03–2,12), o kairiojo –  $1,87 \pm 0,21 \text{ mm}^2$  (95 proc. PI: 1,82–1,93). Dešiniojo klajoklio nervo skerspjūvio ploto reikšmės svyravo nuo 1,76 iki 2,54  $\text{mm}^2$ , kairiojo – nuo 1,35 iki 2,38  $\text{mm}^2$ . Pagal 2,5–97,5 procentiles nustatytos dešiniojo klajoklio nervo skerspjūvio ploto referentinės ribos buvo 1,77–2,47  $\text{mm}^2$ , o kairiojo – 1,41–2,32  $\text{mm}^2$ .

## 2.4. Širdies ritmo variabilumas

Tyrimas atliktas Kauno klinikų Neurologijos klinikos Nervų sistemos ligų ambulatoriniame skyriuje ir Neurologijos skyriuje, pacientams, kuriems diagnozuota ŠAS ar PL. Tyrimą atliko vienas tyrėjas – gydytojas neurologas laikydamasis rekomendacijų, naudojant keturių elektrodų sistemą [139]. Elektrodai buvo tvirtinami ant krūtinės sienos ir priekinio liemens paviršiaus, laikantis modifikuotos galūnių derivacijų schemas, pritaikytos ilgalaikiam monitoravimui. Trys elektrodai buvo naudojami aktyviems EKG signalams registruoti, o ketvirtasis elektrodas – kaip referentinis („žemės“, angl. *ground*) elektrodas, skirtas triukšmui ir judėjimo artefaktams sumažinti. Toks elektrodų išdėstymas leidžia patikimai registruoti EKG signalą kasdienės veiklos metu, užtikrina gerą signalo kokybę ir yra plačiai taikomas ilgalaikiame širdies ritmo ir ritmo variabilumo vertinime [139]. Šiame tyrime ŠRV buvo apskaičiuotas naudojant 24 val. širdies ritmo monitoravimo duomenis, gautus iš ŠAS pacientų, dėvėjusių „Holter“ monitorius. Analizuoti trys pagrindiniai ŠRV rodikliai: normalių sinusinių širdies dūžių intervalų standartinis nuokrypis (SDNN), kvadratinių šaknų vidurkis iš nuoseklių normalių širdies dūžių intervalų skirtumas (RMSSD) ir procentinė dalis gretimų NN intervalų, kurie skiriasi daugiau nei 50 milisekundžių (ms) (pNN50) [140], kurie leidžia neinvaziniu būdu įvertinti ANS, ypač parasimpatinės – KN reguliacijos būklę bei įvertinti ANS funkcijos sutrikimo laipsnį. SDNN laikomas aukso standartu medicininėje širdies rizikos stratifikacijoje, RMSSD parodo trumpalaikius širdies ritmo svyravimus ir yra pagrindinis laiko srities rodiklis, naudojamas vertinant KN veiklos sukeltus ŠRV svyravimus. o pDNN50 glaudžiai susijusi su parasimpatinės nervų sistemos aktyvumu.

## 2.5. Sudėtinė autonominių simptomų skalė-31

COMPASS-31 buvo sukurta kaip sutrumpinta ir klinicinei praktikai pritaikyta 169 klausimų autonominių simptomų anketos (angl. *Autonomic Symptom Profile*, ASP) versija, išlaikant psichometrines savybes vertinant ANS sutrikimus [25]. Skalė apima šešias autonominių funkcijų sritis – ortostatinių netoleravimą (0–40 balų), vazomotorinę (0–5 balų), sekrecinę (0–15 balų), virškinimo (0–25 balų), šlapimo pūslės (0–10 balų) ir vyzdžio funkciją (0–5 balų) – ir leidžia kiekybiškai įvertinti ANS simptomų pasireiškimą. COMPASS-31 balai apskaičiuojami ir interpretuojami kaip nuolatinis kintamasis, netaikant nustatytų norminių ar pataloginių ribų, o galutinis rezultatas (0–100) interpretuojamas kaip tęstinis kintamasis, kur didesnis bendras balas

rodo didesnę ANS funkcijos sutrikimą, todėl skalė tinkama grupiniams palyginimams ir ryšio su kitais klinikiniais rodikliais analizei.

Pirminis COMPASS-31 kalbinis validavimas buvo sudarytas iš trijų etapų. Pirmajame etape buvo atlikti du nepriklausomi vertimai iš originalios angliškos COMPASS-31 versijos į lietuvių kalbą: vieną vertimą atliko profesionalus vertėjas, kitą – gydytojas, puikiai mokantis anglų kalbą. Antrajame etape buvo atlikti du atgaliniai vertimai iš lietuvių kalbos į anglų kalbą, kuriuos atliko du vertėjai, kurių gimtoji kalba yra anglų, tačiau jie taip pat gerai moka lietuvių kalbą. Šešių gydytojų ekspertų komisija palygino atgalinius vertimus su originalia versija. Tuomet buvo pasirinktas geriausias vertimo variantas. Vėliau jis buvo galutinai patikslintas ekspertų kartu su vertėjais ir profesionaliu lietuvių kalbos redaktoriumi. Buvo parengta pirminė COMPASS-31 lietuviška versija, prie kiekvieno COMPASS-31 klausimo pridėtas papildomas klausimas „Ar suprantate klausimą?“, ir trečiajame etape atliktas pilotinis tyrimas su 20 sveikų kontrolinės grupės asmenų. Visi klausimai buvo suprantami, jokių pataisymų neprireikė, o ekspertų grupė patvirtino galutinę COMPASS-31 versiją. Taip pat gautas autorių leidimas naudoti skalę.

## **2.6. Amiotrofinės lateralinės sklerozės funkcinė vertinimo skalė**

Pacientų funkcinė būklė buvo vertinama naudojant pakoreguotą amiotrofinės lateralinės sklerozės funkcinę vertinimo skalę (angl. *Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale – Revised* – ALSFRS-R) klausimyną. Tai 12 punktų skalė, skirta įvertinti pagrindines kasdienio gyvenimo funkcijas, kurių bendras balas svyruoja nuo 0 iki 48 [141]. Šiame tyrime naudota originali ALSFRS-R skalė (4 priedas). Atsakymų surinkimui ir rezultatų sumavimui buvo pasitelkta internetinė medicininių skaičiuoklių platforma (angl. MDCalc) [142].

Kaip ir COMPASS-31 skalės, pirminis ALSFRS-R skalės kalbinio validavimo procesas buvo vykdomas trimis etapais. Pirmojo etapo metu buvo atlikti du nepriklausomi originalios angliškos ALSFRS-R skalės vertimai į lietuvių kalbą: vieną vertimą parengė profesionalus vertėjas, o kitą – gydytojas, puikiai mokantis anglų kalbą. Antrojo etapo metu du vertėjai, kurių gimtoji kalba yra anglų ir kurie gerai moka lietuvių kalbą, atliko atgalinį vertimą iš lietuvių kalbos į anglų kalbą. Gauti atgaliniai vertimai buvo palyginti su originalia skale šešių gydytojų ekspertų komisijos. Įvertinus visus variantus, buvo pasirinkta tinkamiausia vertimo versija. Vėliau ji buvo papildomai koreguota ekspertų komandos bendradarbiaujant su vertėjais bei

profesionalių lietuvių kalbos redaktoriumi. Parengus pirminę lietuvišką ALSFRS-R skalės versiją, prie kiekvieno klausimo buvo pridėtas papildomas klausimas „Ar suprantate klausimą?“. Trečiajame etape atliktas pilotinis tyrimas, kuriame dalyvavo 20 sveikų kontrolinės grupės asmenų. Tyrimo metu nustatyta, kad visi klausimai buvo aiškūs ir suprantami, todėl papildomų pataisymų nereikėjo, o galutinę lietuvišką ALSFRS-R skalės versiją patvirtino ekspertų grupė.

## 2.7. Statistinė analizė

Statistinė duomenų analizė atlikta asmeniniu kompiuteriu naudojant statistinės analizės programų paketą „IBM SPSS Statistics 29.0“ (Statistical Package for the Social Sciences for Windows, JAV). Hipotezėms tikrinti taikytas statistinio reikšmingumo lygmuo  $p < 0,05$ . Duomenų pasiskirstymo normalumo prielaida tikrinta naudojant Šapiro–Wilko testą. Kiekybiniai duomenys, atitinkantys normalųjį skirstinį, pateikti kaip vidurkis ir standartinis nuokrypis (vid. (SN)), o neatitinkantys normalumo prielaidos – kaip mediana, nurodant mažiausią ir didžiausią reikšmes. Kiekybinių rodiklių palyginimui tarp dviejų nepriklausomų grupių, kai duomenys neatitiko normaliojo skirstinio, taikytas Mann–Whitney U testas. Esant normaliai duomenų sklaidai ir lyginant daugiau nei dvi nepriklausomas grupes, naudota vienfaktorinė dispersinė analizė (One-Way ANOVA). Nustačius statistiškai reikšmingus skirtumus, *post hoc* analizei taikytas Fisher LSD kriterijus. Ryšiams tarp kintamųjų ir nepriklausomiems veiksniams, susijusiems su tiriamuoju požymiu, įvertinti taikyta binarinė logistinė regresija. Priklausomu kintamuoju pasirinkta grupė pagal analizuojamo požymio buvimą, o nepriklausomais kintamaisiais – demografiniai, klinikiniai ar ultragarsiniai rodikliai, kurie vienfaktorėje analizėje parodė statistiškai reikšmingus skirtumus arba reikšmingas sąsajas ( $p < 0,05$ ). Binarinės logistinės regresijos rezultatai pateikti apskaičiuojant šansų santykį (ŠS) su 95 proc. pasikliautinaisiais intervalais (PI). Tiriamų rodiklių diagnostinei vertei įvertinti atlikta ROC (angl. *Receiver Operating Characteristic*) analizė, apskaičiuojant plotą po kreive (AUC), jautrumą ir specifiškumą. Statistiškai reikšmingais laikyti skirtumai, kai  $p$  reikšmė buvo mažesnė nei 0,05.

### 2.7.1. Imties tūrio apskaičiavimas

Minimalus reikalingas tiriamųjų skaičius buvo apskaičiuotas remiantis dviejų nepriklausomų vidurkių palyginimo formule, naudojant dvipusį Student t-testą, esant 95 proc. reikšmingumo lygiui ( $\alpha = 0,05$ ) ir 80–90 proc. statistinei galiai ( $1 - \beta$ ) skaičiavimui taikyta formulė:

$$n = \frac{2 \cdot (z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2 \cdot s^2 p}{\Delta^2}$$

kur:  $n$  – minimali kiekvienos grupės imtis;  
 $z_{\alpha/2}$  – standartinės normaliosios skirstinio kritinė reikšmė pagal pasirinktą reikšmingumo lygį  $\alpha$ ;  
 $z_{\beta}$  – standartinės normaliosios skirstinio kritinė reikšmė pagal pasirinktą statistinę galią ( $1 - \beta$ );  
 $s^2 p$  – jungtinė dviejų grupių dispersija;  
 $\Delta$  – tikėtinas vidurkių skirtumas tarp grupių.

Efekto dydis buvo nustatytas remiantis mūsų grupės anksčiau publikuotais duomenimis apie KNSP ir DNSP ŠAS bei PL pacientams ir sveikiems kontrolinės grupės tiriamiesiems [143, 144]:

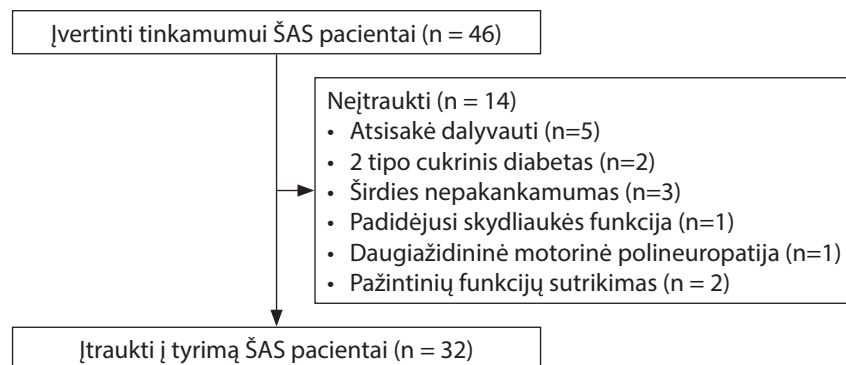
- ŠAS grupė (DNSP): vidutiniai skirtumai tarp kontrolės ir ŠAS siekė  $\sim 0,30 \text{ mm}^2$ , esant labai mažam standartiniam nuokrypiui ( $0,016\text{--}0,02 \text{ mm}^2$ ), todėl formaliai reikalinga imtis būtų  $< 10$  tiriamųjų kiekvienoje grupėje. Tačiau dėl klinikinio heterogeniškumo ir papildomų tyrimų (ENMG, KF, COMPASS-31) įtraukimo, rekomenduota ne mažiau kaip 20 tiriamųjų kiekvienoje grupėje.
- ŠAS grupė (KNSP): nustatytas vidutinis skirtumas tarp kontrolės ir ŠAS buvo  $0,18\text{--}0,21 \text{ mm}^2$  (SD  $\sim 0,20 \text{ mm}^2$ ), atitinkantis didelį efekto dydį (Cohen  $d = 0,86\text{--}1,07$ ). Apskaičiuota, kad norint pasiekti 80 proc. galią reikia 22–26 tiriamųjų kiekvienoje grupėje, o 90 proc. galiai – 29–30. Atsižvelgiant į galimus duomenų praradimus, rekomenduojama imtis padidinta iki  $\sim 30\text{--}35$  asmenų kiekvienoje grupėje.
- PL grupė (KNSP): nustatytas skirtumas tarp kontrolės grupės tiriamųjų ir PL pacientų buvo mažesnis ( $0,13\text{--}0,17 \text{ mm}^2$ , SD  $\sim 0,20 \text{ mm}^2$ ; Cohen  $d = 0,6\text{--}0,9$ ). Apskaičiuota, kad 80 proc. galios užtikrinimui reikia 43–52 tiriamųjų kiekvienoje grupėje, o 90 proc. – 57–60. Todėl PL tyrimui buvo suplanuota ne mažiau kaip 60 tiriamųjų kiekvienoje grupėje.

Planuojant tyrimą buvo nustatyta, kad ŠAS grupei pakanka  $\sim 30\text{--}35$  pacientų ir tiek pat kontrolinės grupės asmenų, o PL grupei –  $\sim 60$  pacientų ir 60 kontrolinės grupės tiriamųjų. Tokios imtys užtikrina pakankamą statistinę galią ( $\geq 80$  proc.) KN ir DN ultragarsinių rodiklių analizei.

## 2.8. Tėkmės diagrama

### 2.8.1. Sergančių šonine amiotrofinė skleroze pacientų įtraukimo struktūra

2.8.1.1 pav. pateikta ŠAS sergančių pacientų atrankos ir įtraukimo į tyrimą tėkmės diagrama. Iš viso buvo įvertinti 46 pacientai dėl tinkamumo dalyvauti tyrime. Keturiolika pacientų nebuvo įtraukti: 5 pacientai atsisakė dalyvauti tyrime, o 9 pacientai nebuvo įtraukti dėl gretutinių ligų (2 tipo cukrinio diabeto, širdies nepakankamumo, skydliaukės hiperfunkcijos, daugiažidininės motorinės polineuropatijos ar pažintinių funkcijų sutrikimo). Galutinę tiriamųjų grupę sudarė 32 šonine amiotrofinė skleroze sergantys pacientai, kurie buvo įtraukti į tyrimą ir analizuoti.

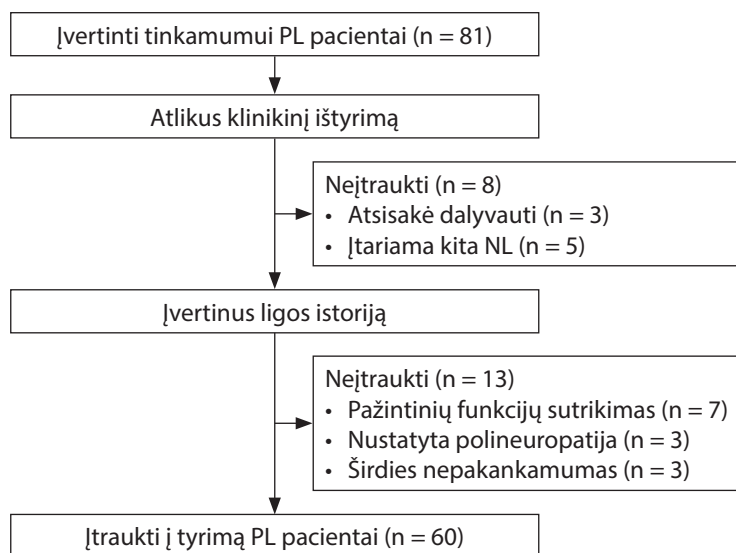


**2.8.1.1 pav.** *Sergančių šonine amiotrofinė skleroze pacientų įtraukimo į tyrimą struktūra.*

ŠAS – šoninė amiotrofinė sklerozė.

### 2.8.2. Sergančių Parkinsono liga pacientų įtraukimo struktūra

Iš 81 įvertinto Parkinsono liga sergančio paciento 21 nebuvo įtrauktas į tyrimą. Aštuoni pacientai nebuvo įtraukti pirminiame etape (3 atsisakė dalyvauti, 5 – dėl įtariamos kitos neurodegeneracinės ligos), o dar 13 pacientų nebuvo įtraukti dėl gretutinių ligų, galinčių turėti įtakos autonominės nervų sistemos funkcijai (pažintinių funkcijų sutrikimo, polineuropatijos ar širdies nepakankamumo). Galutinę tyrimo imtį sudarė 60 Parkinsono liga sergančių pacientų (2.8.2.1 pav.).



**2.8.2.1 pav.** *Parkinsono liga sergančių pacientų įtraukimo į tyrimą struktūra*

PL – Parkinsono liga. NL – neurodegeneracinė liga.

### 3. REZULTATAI

#### 3.1. Diafragminio nervo ultragarsinių parametru pokyčių ypatumai sergantiesiems šonine amiotrofinė skleroze

##### 3.1.1. Sergančiųjų šonine amiotrofinė skleroze ir kontrolinės grupės asmenų antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos

Į perspektyvinį tyrimą buvo įtraukti 32 sergantys ŠAS pacientai ir 64 kontrolinės grupės dalyviai. Kontrolinės grupės tiriamųjų amžiaus vidurkis buvo 60,84 (SN = 10,67) metų, o sergančiųjų ŠAS grupėje – 59,34 (SN = 9,93) metų. Tarp sergančiųjų ŠAS ir kontrolinės grupės tiriamųjų amžius, lytis, ūgis ir kūno svoris statistiškai reikšmingai nesiskyrė (atitinkamai  $p = 0,508$ ;  $p = 0,193$ ;  $p = 0,381$  ir  $p = 0,558$ ). ŠAS pacientų klubų apimtis ( $p = 0,003$ ) ir KMI ( $p = 0,001$ ) buvo statistiškai reikšmingai mažesnė, palyginus su kontrolinės grupės tiriamaisiais, o liemens apimties skirtumo tarp grupių nebuvo nustatyta ( $p = 0,068$ ) (3.1.1.1 lentelė).

**3.1.1.1 lentelė.** *Sergančiųjų šonine amiotrofinė skleroze pacientų ir kontrolinės grupės demografinių charakteristikų ir antropometrinių duomenų palyginimas*

Demografiniai ir antropometriniai rodikliai	Kontrolinė grupė (n = 64)	Sergančiųjų ŠAS grupė (n = 32)	p reikšmė
Amžius, metais (vidurkis (SN))	60,84 (10,67)	59,34 (9,93)	0,508
Lytis (V:M)	1:1,37	1,28:1	0,193 <sup>a</sup>
Svoris, kg (vidurkis (SN))	80,81 (14,48)	72,22 (15,59)	0,558
Ūgis cm, vidurkis (SN)	170,56 (9,92)	170,16 (8,98)	0,381
Klubų apimtis, cm (vidurkis (SN))	103,19 (8,07)	98,97 (13,62)	0,003
Liemens apimtis, cm (vidurkis (SN))	92,92 (10,48)	84,84 (13,87)	0,068
KMI, kg/m <sup>2</sup> (mediana (min.–maks.))	27,72 (18,67–36,63)	24,89 (18,99–36,57)	0,001 <sup>b</sup>

p reikšmės be raidės – Student t-testas; <sup>a</sup> – Chi-kvadrato testas; <sup>b</sup> – Mann–Whitney U testas; Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (standartinis nuokrypis); KMI – kūno masės indeksas; ŠAS – šoninė amiotrofinė sklerozė.

3.1.1.2 lentelėje pateikiami duomenys apie sergančiųjų ŠAS klinikinių formų pasiskirstymą pagal lytį. Nustatyta, kad VMN forma dažniau nustatyta vyrams (72,2 proc.), palyginti su moterimis (35,7 proc.), o bulbarinė / pseudobulbarinė forma dažniau nustatyta moterims (66,7 proc.) nei vyrams

(33,3 proc.). AMN forma nustatyta panašiu dažniu abiejų lyčių tiriamiesiems. Tačiau bendras klinikinių ŠAS formų pasiskirstymas tarp vyrų ir moterų statistiškai reikšmingai nesiskyrė ( $p = 0,115$ ).

**3.1.1.2 lentelė.** *Sergančiųjų šoninės amiotrofinės sklerozės pacientų pasiskirstymas pagal klinikinę formą ir lytį.*

ŠAS forma	Moterys	Vyrai	Visi ŠAS pacientai	p reikšmė
AMN, n (proc.)	3 (60,0)	2 (40,0)	5 (15,6)	0,115
VMN, n (proc.)	5 (35,7)	13 (72,2)	18 (56,3)	
Bulbarinė/pseudobulbarinė, n (proc.)	6 (66,7)	3 (33,3)	9 (28,1)	
Visi, n (proc.)	14 (43,8)	18 (56,3)	32 (100)	

Reikšmės pateiktos absoliučiais dydžiais (procentai); ŠAS – šoninė amiotrofinė sklerozė; AMN – apatinis motorinis neuronas; VMN – viršutinis motorinis neuronas.

### 3.1.2. Diafragminio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčiai sergantiems šonine amiotrofine skleroze pacientams ir kontrolinėje grupėje

Sergantiems ŠAS pacientams nustatytas statistiškai reikšmingai mažesnis diafragminio nervo skerspjūvio plotas abipus, palyginti su kontroline grupe. Dešiniojo diafragminio nervo skerspjūvio plotas ŠAS grupėje buvo  $0,81 \text{ mm}^2$  (SN 0,21), kontrolinėje grupėje –  $1,12 \text{ mm}^2$  (SN 0,16) ( $p < 0,001$ ), o kairiojo – atitinkamai  $0,82 \text{ mm}^2$  (SN 0,18) ir  $1,08 \text{ mm}^2$  (SN 0,13) ( $p < 0,001$ ) (3.1.2.1 lentelė).

**3.1.2.1 lentelė.** *Diafragminio nervo ultragarsinio tyrimo skerspjūvio ploto palyginimas tarp sergančiųjų šonine amiotrofine skleroze ir kontrolinės grupės*

Diafragminis nervas	Kontrolinė grupė (n = 64)	Sergančiųjų ŠAS grupė (n = 32)	p reikšmė
Dešiniojo DNSP, $\text{mm}^2$ (vidurkis (SN))	1,12 (0,16)	0,81 (0,21)	< 0,001
Kairiojo DNSP, $\text{mm}^2$ (vidurkis (SN))	1,08 (0,13)	0,82 (0,18)	< 0,001

Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN-standartinis nuokrypis); ŠAS – šoninė amiotrofinė sklerozė; DNSP – diafragminio nervo skerspjūvio plotas; Grupės lygintos naudojant nepriklausomų imčių Student t-testą.

Sergantiems ŠAS pacientams diafragminio nervo ultragarsinio tyrimo metu dažniau nustatyti homogeniškumo ir echogeniškumo pokyčiai, palyginti su kontroline grupe. ŠAS grupėje abipus dažniau stebėtas heterogeniškas DN vaizdas, o kontrolinėje grupėje dažniau nustatytas homogeniškas DN. Taip pat ŠAS pacientams dažniau nustatyti izoechogeniški ir hiperechogeniški pokyčiai, tuo tarpu kontrolinėje grupėje dažniau buvo nustatomas hipoechogeniški DN pokyčiai. Šie skirtumai buvo statistiškai reikšmingi ( $p < 0,001$ ) (3.1.2.2 lentelė).

**3.1.2.2 lentelė.** *Diafragminio nervo ultragarsinių pokyčių, echogeniškumo ir homogeniškumo, palyginimas sergantiems šonine amiotrofinė skleroze ir kontrolinėje grupėje*

DNUG parametrai		Kontrolinė grupė	Sergančiųjų ŠAS grupė	P reikšmė	Kontrolinė grupė	Sergančiųjų ŠAS grupė	P reikšmė
		dešinė, proc.			kairė, proc.		
Homogeniškumas	Homogeniškas	92,2	43,8	< 0,001	87,5	40,6	< 0,001
	Heterogeniškas	7,8	56,2		12,5	59,4	
Echogeniškumas	Hipoechogeniškas	75	37,5	< 0,001	78,1	37,5	< 0,001
	Izoechogeniškas	25	40,6		21,9	34,4	
	Hiperechogeniškas	0	21,9		0	28,1	

Reikšmės pateiktos absoliučiais dydžiais (proc.); DNUG – diafragminio nervo ultragarsinis tyrimas; ŠAS – šoninė amiotrofinė skleroze; proc. – procentai; Proporcijų lygybei įvertinti taikytas  $\chi^2$  testas.

Sergančiųjų ŠAS grupėje nustatyta statistiškai reikšminga neigiama sąsaja tarp tiriamųjų amžiaus ir kairiojo diafragminio nervo skerspjūvio ploto ( $r = -0,428$ ;  $p = 0,015$ ). Tarp kitų demografinių, antropometrinių ir klinikinių rodiklių, taip pat ALSFRS-R balų, statistiškai reikšmingų sąsajų su DNSP nenustatyta ( $p > 0,05$ ) (3.1.2.3 lentelė).

**3.1.2.3 lentelė.** Diafragminio nervo skerspjūvio ploto sąsajos su antropometriniais rodikliais, demografinėmis ir klinikinėmis charakteristikomis sergantiems šonine amiotrofine skleroze

Antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos	Rodiklio reikšmė	Sergančiųjų ŠAS dešiniojo DNSP (n = 32)		Sergančiųjų ŠAS kairiojo DNSP (n = 32)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
Ūgis, cm (vidurkis (SN))	170,16 (8,98)	-0,021	0,908	-0,044	0,809
Svoris, kg (vidurkis (SN))	72,22 (15,59)	0,105	0,566	0,133	0,469
KMI, kg/m <sup>2</sup> (mediana (min.–maks.))	27,72 (18,67–36,63)	0,178	0,329 <sup>a</sup>	0,191	0,294 <sup>a</sup>
Liemens apimtis, cm (vidurkis (SN))	84,84 (13,87)	0,107	0,560	0,101	0,582
Klubų apimtis, cm (vidurkis (SN))	98,97 (13,62)	0,190	0,297	0,148	0,149
Amžius, metai (vidurkis (SN))	59,34 (9,93)	-0,025	0,890	-0,428	0,015
Amžius ligos pradžioje, mėn. (mediana (min.–maks.))	57,97 (30–72)	0,276	0,126 <sup>a</sup>	0,314	0,080 <sup>a</sup>
Ligos trukmė, mėn. (mediana (min.–maks.))	15,41 (5–44)	0,083	0,653	0,087	0,635
ALFSR-R, balai (vidurkis (SN))	38,41 (5,86)	-0,025	0,890	0,101	0,583

p reikšmės be raidės – Pearson koreliacija; <sup>a</sup> – Spearman koreliacija; reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN – standartinis nuokrypis); DNSP – diafragminio nervo skerspjūvio plotas; ŠAS – šoninė amiotrofinė skleroze; KMI – kūno masės indeksas; ALSFRS-R – pakoreguota amiotrofinės lateralinės sklerozės funkcinė vertinimo skalė.

### 3.2. Klajoklio nervo ultragarsinių parametrų pokyčių ypatumai pacientams sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir palyginimas su kontroline grupe

#### 3.2.1. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčiai sergantiems šonine amiotrofine skleroze pacientams ir kontrolinėje grupėje

Vertinant KNSP, sergantiems ŠAS pacientams nustatyti statistiškai reikšmingi skerspjūvio ploto pokyčiai abiejose pusėse. Dešiniojo KNSP reikšmė ŠAS grupėje siekė 1,86 mm<sup>2</sup> (SN = 0,21), o kontrolinėje grupėje – 2,07 mm<sup>2</sup> (SN = 0,18) (p < 0,001). Kairėje pusėje KNSP vidurkis sergančiųjų ŠAS grupėje buvo 1,69 mm<sup>2</sup> (SN = 0,21), palyginti su 1,87 mm<sup>2</sup> (SN = 0,21) kontrolinėje grupėje (p < 0,001) (3.2.1.1 lentelė).

**3.2.1.1 lentelė.** Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo skerspjūvio ploto palyginimas tarp sergančių šonine amiotrofinė skleroze pacientų ir kontrolinės grupės

Klajoklis nervas	Kontrolinė grupė (n = 64)	Sergančiųjų ŠAS grupė (n = 32)	p reikšmė
Dešiniojo KNSP, mm <sup>2</sup> (vidurkis (SN))	2,07 (0,18)	1,86 (0,21)	< 0,001
Kairiojo KNSP, mm <sup>2</sup> (vidurkis (SN))	1,87 (0,21)	1,69 (0,21)	< 0,001

Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN – standartinis nuokrypis); ŠAS – šoninė amiotrofinė skleroze; KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; Grupės lygintos naudojant nepriklausomų imčių Student t-testą.

Sergantiems ŠAS pacientams klajoklis nervas abiejose pusėse dažniau buvo heterogeniškas, palyginti su kontrolinės grupės tiriamaisiais (p < 0,001). Vertinant echogeniškumą, sergančiųjų ŠAS grupėje statistiškai reikšmingai dažniau nustatyti izoechogeniški ir hiperechogeniški klajoklio nervo pokyčiai (3.2.1.2 lentelė).

**3.2.1.2 lentelė.** Klajoklio nervo ultragarsiniai echogeniškumo ir homogeniškumo pokyčiai sergantiems šonine amiotrofinė skleroze ir kontrolinėje grupėje

KNUG parametrai		Kontrolinė grupė	Sergančiųjų ŠAS grupė	p reikšmė	Kontrolinė grupė	Sergančiųjų ŠAS grupė	p reikšmė
		dešinė, proc.			kairė, proc.		
Homogeniškumas	Homogeniškas	96,9	37,5	< 0,001	100,0	37,5	< 0,001
	Heterogeniškas	3,1	62,5		0	62,5	
Echogeniškumas	Hipoecho-geniškas	100,0	21,9	< 0,001	100,0	25,0	< 0,001
	Izoecho-geniškas	0	50,0		0	34,4	
	Hiperecho-geniškas	0	28,1		0	40,6	

Reikšmės pateikiamos absoliučiais ir procentiniais dydžiais; KNUG – klajoklio nervo ultragarsinis tyrimas; ŠAS – šoninė amiotrofinė skleroze; proc. – procentai; Proporcijų lygybei įvertinti taikytas  $\chi^2$  testas.

### 3.2.2. Klajoklio nervo pokyčių sąsajos su demografiniais ir klinikiniais radiniais sergantiesiems šonine amiotrofinė skleroze

Sergantiesiems šonine amiotrofinė skleroze didėjant klubų apimčiai statistiškai reikšmingai didėjo dešiniojo KNSP ( $r = 0,517$ ;  $p = 0,002$ ), o didėjant KMI reikšmingai didėjo kairiojo KNSP ( $r = 0,349$ ;  $p = 0,049$ ). Nustatyta, kad didėjant sergančiųjų ŠAS amžiui ir ligos trukmei reikšmingai mažėjo KNSP (atitinkamai  $r = -0,374$ ;  $p = 0,035$  ir  $r = -0,406$ ;  $p = 0,021$ ). Kitų demografinių ir klinikių rodiklių statistiškai reikšmingų sąsajų su KN parametrais nenustatyta (3.2.2.1 lentelėje).

**3.2.2.1 lentelė.** Klajoklio nervo skerspjūvio ploto sąsajos su demografiniais ir klinikiniais radiniais sergantiesiems šonine amiotrofinė skleroze

Antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos	Rodiklio reikšmė	Sergančiųjų ŠAS dešiniojo KNSP (n = 32)		Sergančiųjų ŠAS kairiojo KNSP (n = 32)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
Ūgis, cm (vidurkis (SN))	170,16 (8,98)	-0,092	0,617	0,086	0,642
Svoris, kg (vidurkis (SN))	72,22 (15,59)	0,328	0,066	0,356	0,045
KMI, kg/m <sup>2</sup> (mediana (min.–maks.))	27,72 (18,67–36,63)	0,294	0,103 <sup>a</sup>	0,349	0,049 <sup>a</sup>
Liemens apimtis, cm (vidurkis (SN))	84,84 (13,87)	0,286	0,113	0,187	0,305
Klubų apimtis, cm (vidurkis (SN))	98,97 (13,62)	0,517	0,002	0,307	0,088
Amžius, metai (vidurkis (SN))	59,34 (9,93)	0,107	0,559	-0,374	0,035
Amžius ligos pradžioje, metai (mediana (min.–maks.))	57,97 (30–72)	0,133	0,486 <sup>a</sup>	0,443	0,385 <sup>a</sup>
Ligos trukmė, mėn. (mediana (min.–maks.))	57,97 (30–72)	0,116	0,526 <sup>a</sup>	-0,406	0,021 <sup>a</sup>
ALFSR-R, balai (vidurkis (SN))	38,41 (5,86)	-0,227	0,125	-0,057	0,757

p reikšmės be raidės – Pearson koreliacija; <sup>a</sup> – Spearman koreliacija; reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN-standartinis nuokrypis); ŠAS – šoninė amiotrofinė skleroze; KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; KMI – kūno masės indeksas; ALSFRS-R – pakoreguota amiotrofinės lateralinės sklerozės funkcinė vertinimo skalė.

### 3.3. Klajoklio nervo ultragarsinių parametru pokyčių ypatumai sergantiesiems Parkinsono liga

#### 3.3.1. Sergančiųjų Parkinsono liga ir kontrolinės grupės asmenų antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos

Sergantiems PL pacientams klubų apimtis buvo didesnė lyginant su kontrolinės grupės tiriamaisiais ( $p = 0,04$ ). Pagal amžių, lytį ir kūno išmatavimus – svorį, ūgį, liemens apimtį ir KMI abi grupės nesiskyrė (3.3.1.1 lentelė).

**3.3.1.1 lentelė.** *Sergančiųjų Parkinsono liga ir kontrolinės grupės tiriamųjų demografinių bei klinikinų charakteristikų palyginimas*

Antropometriniai ir demografiniai rodikliai	Kontrolinė grupė (n = 60)	Sergančiųjų PL grupė (n = 60)	p reikšmė
Amžius, metai (vidurkis (SN))	63,62 (10,96)	65,23 (9,22)	0,123
Lytis (V:M)	1,07:1	1:1,31	0,361 <sup>a</sup>
Ūgis, cm (vidurkis (SN))	170,43 (9,553)	170,88 (9,152)	0,905
Svoris, kg (vidurkis (SN))	80,47 (13,207)	79,07 (14,343)	0,679
Klubų apimtis, cm (vidurkis (SN))	92,55 (9,722)	95,00 (12,337)	0,04
Liemens apimtis, cm (vidurkis (SN))	103,03 (7,811)	102,30 (8,850)	0,504
KMI, kg/m <sup>2</sup> (mediana (min.–maks.))	26,93 (19,48–39,5)	26,93 (18,67–36,57)	0,258 <sup>b</sup>

p reikšmės be raidės – Student t-testas; <sup>a</sup> – Chi-kvadrato testas; <sup>b</sup> – Mann–Whitney U testas; Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN-standartinis nuokrypis); PL – Parkinsono liga; KMI – kūno masės indeksas.

Sergančiųjų PL pacientų pasiskirstymas pagal Hoehn–Yahr stadijas pateiktas 3.3.1.2 lentelėje. Didžioji dalis tiriamųjų priklausė 3 ligos stadijai, kuri nustatyta 18 pacientų (30 proc.). Pažengusios ligos stadijos (4–5) sudarė reikšmingą dalį tiriamosios imties – 25 pacientus (41,6 proc). Ankstyvos ligos stadijos (1–2,5) buvo nustatytos rečiau ir sudarė 36,6 proc. visų tiriamųjų. Vertinant Hoehn–Yahr stadijų pasiskirstymą tarp lyčių, statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta ( $\chi^2$  testas,  $p = 0,061$ ).

**3.3.1.2 lentelė.** Parkinsono liga sergančiųjų pasiskirstymas pagal Hoehn–Yahr stadijas

Hoehn–Yahr stadijos	Tiriamųjų skaičius	Vyrai (proc.)	Moterys (proc.)	p reikšmė
1	3	3 (5)	0 (0)	0,061
1,5	3	0	3 (5)	
2	6	3 (5)	3 (5)	
2,5	5	4 (6,7)	1 (1,7)	
3	18	12 (20)	6 (10)	
4	14	7 (11,7)	7 (11,7)	
5	11	2 (3,3)	9 (15)	
viso	60	31 (51,7)	29 (48,3)	

$\chi^2$  testas proporcijų lygybei įvertinti; Hoehn–Yahr stadijos – sistema, apibūdinanti, kaip progresuoja Parkinsono ligos simptomai; proc. – procentai.

**3.3.2. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčiai sergantiesiems Parkinsono liga ir kontrolinėje grupėje**

Sergantiesiems PL tiek dešiniojo, tiek kairiojo KNSP buvo statistiškai reikšmingai mažesnis, palyginti su kontroline grupe. Dešiniojo KNSP sergančiųjų PL grupėje buvo 1,90 mm<sup>2</sup> (SN 0,19), o kontrolinėje grupėje – 2,07 mm<sup>2</sup> (SN 0,18) (p < 0,001). Analogiškai mažesnis KNSP nustatytas ir kairėje pusėje: sergančiųjų PL grupėje – 1,74 mm<sup>2</sup> (SN 0,21), o kontrolinėje grupėje – 1,87 mm<sup>2</sup> (SN 0,22) (p = 0,02) (3.3.2.1 lentelė).

**3.3.2.1 lentelė.** Klajoklio nervo skerspjūvio ploto palyginimas tarp sergančiųjų Parkinsono liga ir kontrolinės grupės

Klajoklis nervas	Kontrolinė grupė (n = 60)	Sergančiųjų ŠAS grupė (n = 60)	p reikšmė
Dešiniojo KNSP, mm <sup>2</sup> (vidurkis (SN))	2,07 (0,18)	1,90 (0,19)	< 0,001
Kairiojo KNSP, mm <sup>2</sup> (vidurkis (SN))	1,87 (0,22)	1,74 (0,21)	0,02

Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN-standartinis nuokrypis); ŠAS – šoninė amiotrofinė sklerozė; KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; Grupės lygintos naudojant nepriklausomų imčių Student t-testą.

Sergančiųjų PL grupėje dešinysis KN buvo homogeniškas tik 23,3 proc. pacientų, o kontrolinėje grupėje – 96,7 proc. (p < 0,001). Kairysis KN sergančiųjų PL grupėje buvo homogeniškas 3,3 proc, tiriamųjų, palyginti su 83,3 proc. kontrolinės grupės dalyvių (p < 0,001). Kontrolinėje grupėje abiejose pusėse dominavo hipoehogeniškumas (73,3 proc. dešinėje ir 68,3 proc. kairėje), o PL grupėje jis nustatytas atitinkamai tik 16,7 proc. ir 15,0 proc. atvejų. Duomenys pateikiami 3.3.2.2 lentelėje.

**3.3.2.2 lentelė.** Klajoklio nervo echogeniškumo ir homogeniškumo pokyčiai Parkinsono liga sergantiesiems pacientams ir kontrolinėje grupėje

KNUG parametrai		Kontrolinė grupė	Sergančiųjų PL grupė	p reikšmė	Kontrolinė grupė	Sergančiųjų PL grupė	p reikšmė
		dešinė, proc.			kairė, proc.		
Homogeniškumas	Homogeniškas	96,7	23,3	< 0,001	83,3	3,3	< 0,001
	Heterogeniškas	3,3	76,7		16,7	96,7	
Echogeniškumas	Hipoecho- geniškas	73,3	16,7	< 0,001	68,3	15,0	< 0,001
	Izoecho- geniškas	26,7	63,3		31,7	65,0	
	Hiperecho- geniškas	0	20,0		0	20,0	

Reikšmės pateikiamos absoliučiais ir procentiniais dydžiais; KNUG – klajoklio nervo ultragarsinis tyrimas; PL – Parkinsono ligas; proc. – procentai; proporcijų lygybei įvertinti taikytas  $\chi^2$  testas.

Sergantiems PL nustatyta, kad didėjant kūno svoriui, didėja dešiniojo ir kairiojo KNSP ( $p < 0,001$ ). Didėjant amžiui mažėja kairiojo KNSP. Sergantiems PL ilgėjant ligos trukmei mažėja abiejų KNSP ( $p < 0,001$ ), kairiojo ryšys buvo stipresnis ( $r = -0,413$ ). Taip pat nustatyta, kad didėjant trečiojo skilvelio pločiui mažėja abiejų KNSP (3.3.2.3 lentelė).

**3.3.2.3 lentelė.** Klajoklio nervo skerspjūvio ploto sąsajos su antropometriniais, demografiniais ir klinikiniais duomenimis sergantiesiems Parkinsono liga

Antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos	Rodiklio reikšmė	Sergančiųjų PL dešiniojo KNSP (n = 60)		Sergančiųjų PL kairiojo KNSP (n = 60)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
Ūgis, cm (vidurkis (SN))	170,88 (9,15)	0,184	0,159	0,253	0,051
Svoris, kg (vidurkis (SN))	79,07 (14,34)	0,296	0,021	0,289	0,025
KMI, kg/m <sup>2</sup> (vidurkis (SN))	26,93 (4,06)	0,220	0,092 <sup>a</sup>	0,152	0,245 <sup>a</sup>
Liemens apimtis, cm (vidurkis (SN))	95,00 (12,34)	0,190	0,145 <sup>a</sup>	0,188	0,151 <sup>a</sup>
Klubų apimtis, cm (vidurkis (SN))	102,30 (8,85)	0,032	0,807	-0,123	0,348

### 3.3.2.3 lentelės tęsinys

Antropometriniai rodikliai, demografinės ir klinikinės charakteristikos	Rodiklio reikšmė	Sergančiųjų PL dešiniojo KNSP (n = 60)		Sergančiųjų PL kairiojo KNSP (n = 60)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
Amžius, metai (vidurkis (SN))	65,23 (7,98)	0,107	0,559	-0,374	0,035
Ligos trukmė, mėn. (mediana (min.–maks.))	7 (1–20)	-0,280	0,030	-0,413	0,001
Uoslė testas, balais (mediana (min.–maks.))	6,5 (1–12)	0,157	0,232	0,252	0,052
JM plotas dešinėje, cm <sup>2</sup> (vidurkis (SN))	0,29 (0,08)	-0,169	0,197	-0,110	0,402
JM plotas kairėje, cm <sup>2</sup> (vidurkis (SN))	0,32 (0,08)	-0,067	0,609 <sup>a</sup>	-0,010	0,942 <sup>a</sup>
III skilvelio plotis, cm (vidurkis (SN))	0,81 (0,15)	-0,287	0,026 <sup>a</sup>	-0,405	0,001 <sup>a</sup>

p reikšmės be raidės – Pearson koreliacija; a – Spearman koreliacija; Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN-standartinis nuokrypis); KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; PL – Parkinsono ligas; KMI – kūno masės indeksas; JM – juodoji medžiaga; TKS – transkranijinė sonografija; ALSFRS-R – pakoreguota amiotrofinės lateralinės sklerozės funkcinė vertinimo skalė.

## 3.4. Autonominės nervų sistemos sutrikimo ypatumai pacientams sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir Parkinsono liga

### 3.4.1. Autonominės nervų sistemos sutrikimo ypatumai sergantiems šonine amiotrofine skleroze

Sergantiems ŠAS, didėjant bendram COMPASS-31 balui nustatytos sąsajos su kairiojo ir dešiniojo KNSP mažėjimu. Vertinant atskiras COMPASS-31 subskales, esant didesniems virškinamojo trakto funkcijos sutrikimų balams mažėja kairiojo KNSP, taip pat nustatyta, kad didėjant šlapimo pūslės funkcijos sutrikimų balams mažėja kairiojo KNSP (3.4.1.1 lentelė).

**3.4.1.1 lentelė.** Klajoklio nervo skerspjūvio ploto ir sudėtinės autonominių simptomų skalės 31 sąsajos sergantiems šonine amiotrofinė skleroze

COMPASS-31 charakteristikos	Rodiklio reikšmė	Sergančiųjų ŠAS dešiniojo KNSP (n = 32)		Sergančiųjų ŠAS kairiojo KNSP (n = 32)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
Bendras COMPASS-31, balas (vidurkis (SN))	8,89 (12,69)	-0,321	0,01	-0,272	0,02
Ortostatinės intolerancijos, balas (mediana (min.–maks.))	0 (0–36)	0,042	0,819	-0,096	0,600
Vazomotorinės funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	0 (0–5)	-0,059	0,747	-0,013	0,945
Sekrecinės funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	5 (0–15)	-0,187	0,305	-0,123	0,502
Virškinamojo trakto funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	2,5 (0–14)	-0,285	0,113	-0,358	0,044
Šlapimo pūslės funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	0 (0–3)	-0,157	0,391	-0,364	0,041
Vyzdžio funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	1 (0–3)	0,105	0,566	0,022	0,907

Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN-standartinis nuokrypis) arba mediana (min.–maks.); COMPASS-31 – sudėtinė autonominių simptomų skalė 31; KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; Koreliacijos buvo vertinamos taikant Spearman testą.

Sergantiems ŠAS pacientams tarp dešiniojo ir kairiojo KNSP ir ŠRV rodiklių reikšmingų sąsajų nustatyta nebuvo (3.4.1.2 lentelė).

**3.4.1.2 lentelė.** Klajoklio nervo skerspjūvio ploto sąsajos su širdies ritmo variabilumo parametrais sergantiems šonine amiotrofinė skleroze

Širdies variabilumo parametrai	Vidurkis (SN)	Sergančiųjų ŠAS dešiniojo KNSP (n = 32)		Sergančiųjų ŠAS kairiojo KNSP (n = 32)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
SDNN, ms	70,91 (20,39)	-0,057	0,975	-0,067	0,681
RMSSD, ms	28,94 (13,38)	-0,139	0,213	-0,161	0,358
pNN50, proc.	2,61 (1,83)	-0,109	0,741	-0,193	0,219

Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN-standartinis nuokrypis); KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; SDNN – normalių sinusinių širdies dūžių tarplaikių standartinis nuokrypis; RMSSD – iš eilės einančių normalių širdies dūžių skirtumų kvadratinių vidurkių šaknis; pNN50 – NN50 proporcija, padalinta iš bendro NN (R–R) intervalų skaičiaus. Koreliacijos buvo vertinamos taikant Pearsono testą.

### 3.4.2. Autonominės nervų sistemos sutrikimo ypatumai sergantiesiems Parkinsono liga

Didėjant bendram COMPASS-31 balui mažėja dešinio KNSP, tuo tarpu, didėjant ortostatines intolercijos balams mažėja tiek dešiniojo, tiek kairiojo KNSP. Taip pat didėjant vazomotorinės funkcijos sutrikimų balams kairiojo KNSP mažėja. Vertinant virškinimo sistemos simptomus, nustatyta, kad didėjant gastrointestalinės funkcijos sutrikimų balams mažėja dešiniojo KNSP (3.4.2.1 lentelė).

#### 3.4.2.1 lentelė. Klajoklio nervo skerspjūvio ploto ir sudėtinės autonominių simptomų skalės 31 sąsajos Parkinsono liga sergantiems pacientams

COMPASS-31 charakteristikos	Rodiklio reikšmė	Sergančiųjų PL dešiniojo KNSP (n = 60)		Sergančiųjų PL kairiojo KNSP (n = 60)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
Bendras COMPASS-31, balas (vidurkis (SN))	23,77 (13,458)	-0,257	0,047	0,830	0,528
Ortostatines intolercijos, balas (mediana (min.–maks.))	12 (0–40)	-0,242	0,022	-0,341	0,016
Vazomotorinės funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	1 (0–5)	-0,128	0,069	-0,294	0,009
Sekrecinės funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	8 (0–15)	-0,092	0,409	-0,075	0,365
Virškinamojo trakto funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	12 (0–25)	-0,365	0,034	-0,205	0,056
Šlapimo pūslės funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	3 (0–10)	-0,141	0,329	-0,256	0,237
Vyzdžio funkcijos, balas (mediana (min.–maks.))	0 (0–4)	0,331	0,635	0,018	0,741

Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN – standartinis nuokrypis) arba mediana (min.–maks.); COMPASS-31 – sudėtinė autonominių simptomų skalė 31; PL – Parkinsono liga; KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; Koreliacijos buvo vertinamos taikant Spearman testą.

Sergantiesiems PL nebuvo nustatyta reikšmingų sąsajų tarp dešiniojo KNSP ir ŠRV parametrų, įskaitant SDNN ( $r = -0,057$ ;  $p = 0,667$ ), RMSSD ( $r = -0,139$ ;  $p = 0,289$ ) ir pNN50 ( $r = -0,134$ ;  $p = 0,306$ ). Priešingai, didėjant RMSSD, mažėja kairiojo KNSP ( $r = -0,421$ ;  $p = 0,025$ ). Duomenys pateikti 3.4.2.2 lentelėje.

**3.4.2.2 lentelė.** Klajoklio nervo skerspjūvio ploto sąsajos su širdies ritmo variabilumo parametrais sergantiesiems Parkinsono liga

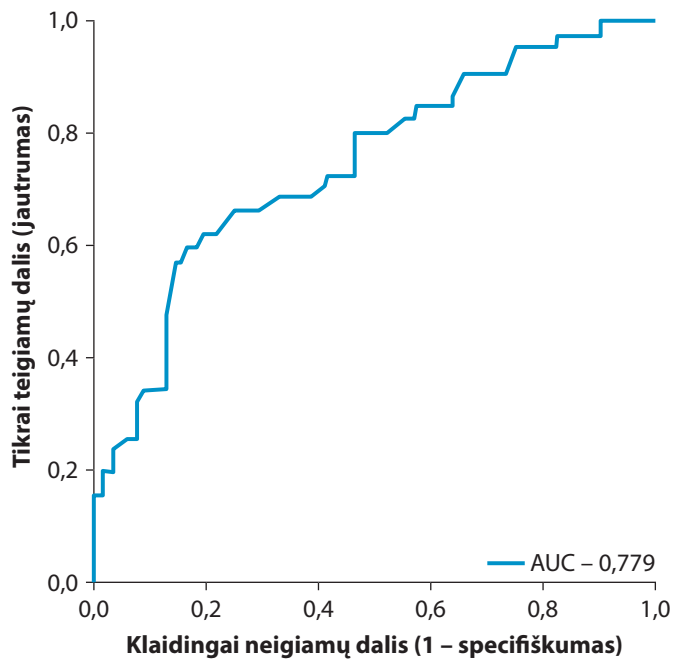
ŠRV parametrai	Vidurkis (SN)	Sergančiųjų PL dešiniojo KNSP (n = 60)		Sergančiųjų PL kairiojo KNSP (n = 60)	
		r reikšmė	p reikšmė	r reikšmė	p reikšmė
SDNN, ms	67,80 (19,422)	-0,057	0,667	0,120	0,930
RMSSD, ms	27,82 (11,967)	-0,1390	0,289	-0,421	0,025
pNN50, proc.	3,73 (2,736)	-0,134	0,306 <sup>b</sup>	-0,209	0,109

Reikšmės pateikiamos kaip vidurkis (SN – standartinis nuokrypis); ŠRV – širdies variabilumas; PL – Parkinsono liga; KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; SDNN – normalių sinusinių širdies dūžių tarplaikių standartinis nuokrypis; RMSSD – iš eilės einančių normalių širdies dūžių skirtumų kvadratinį vidurkių šaknis; pNN50 – NN50 proporcija, padalinta iš bendro NN (R–R) intervalų skaičiaus. Koreliacijos buvo vertinamos taikant Pearsono testą.

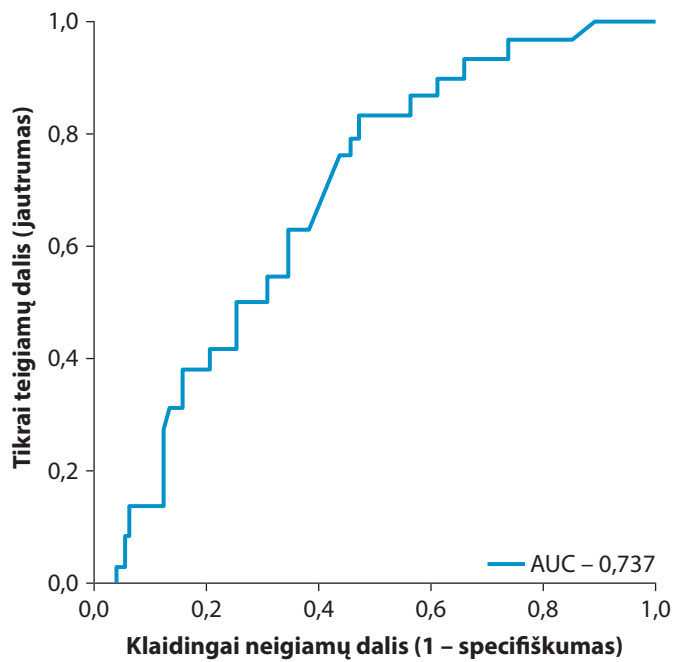
**3.5. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo parametru diagnostinė reikšmė pacientams, sergantiems Parkinsono liga ir šonine amiotrofine skleroze**

**3.5.1. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo pokyčių diagnostinė reikšmė sergantiesiems šonine amiotrofine skleroze**

ROC analizės rezultatai pateikti 3.5.1.1 ir 3.5.1.2 pav. KNSP pasižymi gera diskriminacine geba vertinant sergančiuosius ŠAS. Dešiniojo KN plotas po ROC kreive (AUC = 0,779), o optimali ribinė vertė buvo 1,89 mm<sup>2</sup>, kuriai nustatytas 62,5 proc. jautrumas ir 85,9 proc. specifiškumas. Kairiojo KN diskriminacinė geba buvo kiek mažesnė (AUC = 0,737), o ribinė vertė siekė 1,89 mm<sup>2</sup>, kuriai nustatytas 84,4 proc. jautrumas ir 54,7 proc. specifiškumas.



**3.5.1.1 pav.** ROC kreivė – sergančiųjų šonine amiotrofine skleroze dešiniojo klajoklio nervo skerspjūvio plotas



**3.5.1.2 pav.** ROC kreivė – sergančiųjų šonine amiotrofine skleroze kairiojo klajoklio nervo skerspjūvio plotas

Dvinarės logistinės regresijos rezultatai parodė, kad vertinant KNSP sąsajas su ŠAS, abiejų pusių KNSP sumažėjimas statistiškai reikšmingai didina ŠAS tikimybę. Sumažėjus dešiniojo KNSP plotui 0,01 mm<sup>2</sup>, ŠAS galimybė padidėja 6,4 proc. (ŠS = 1,064; 95 proc. PI: 1,033–1,111; p < 0,001), o sumažėjus kairiojo KNSP plotui 0,01 mm<sup>2</sup> padidėja 4,2 proc. (ŠS = 1,042; 95 proc. PI: 1,018–1,066; p < 0,001).

Tiriamiesiems, turintiems izoechogenišką dešinįjį KN, ŠAS šansai buvo 6,319 karto didesni, o turintiems izoechogenišką kairįjį – 3,257 karto didesni, palyginti su hipoechogenišką nervą turinčiais tiriamaisiais.

Nepriklausomi kintamieji, dešiniojo KN heterogeniškumas bei kairiojo KN heterogeniškumas, buvo statistiškai reikšmingi kintamieji ŠAS galimybei (gautos p < 0,001).

Lyties ir amžiaus nepriklausomi kintamieji nebuvo statistiškai reikšmingai susiję su ŠAS liga (p = 0,195 ir p = 0,504, atitinkamai) (3.5.1.1 lentelė).

**3.5.1.1 lentelė.** *Lyties, amžiaus, klajoklio nervo skerspjūvio ploto, echogeniškumo ir homogeniškumo sąsajos su šonine amiotrofine skleroze (logistinės regresijos modelis)*

Veiksny	$\beta$	ŠS (95 proc. PI)	p reikšmė
Lytis (V/M)	-0,568	0,566 (0,241–1,337)	0,195
Amžius, metai	-0,014	0,986 (0,946–1,027)	0,504
Dešiniojo KNSP, mm <sup>2</sup>	-6,50	1,064 <sup>a</sup> (1,033–1,112)	< 0,001
Dešiniojo KN homogeniškumas (homo vs hetero)	3,945	51,667 (10,647–250,719)	< 0,001
Dešiniojo KN echogeniškumas (hipo vs izo)	1,844	6,319 (2,218–18,007)	< 0,001
Kairiojo KNSP, mm <sup>2</sup>	-4,103	1,042 <sup>a</sup> (1,018–1,066)	< 0,001
Kairiojo KN homogeniškumas (homo vs hetero)	4,032	56,364 (11,509–276,036)	< 0,001
Kairiojo KN echogeniškumas (hipo vs izo)	1,181	3,257 (1,132–9,370)	0,029

$\beta$  (beta) koeficientas yra regresinės analizės koeficientas; ŠS – šansų santykis; 95 proc. PI – 95 procentų pasikliautinis intervalas; <sup>a</sup> – rezultatai pateikiami atvejui kai nervo skerspjūvio plotas sumažėja 0,01 mm<sup>2</sup>; KN – klajoklis nervas. KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; homo – homogeniškas; hetero – heterogeniškas; hipo – hipoechogeniškas; izo – izoechogeniškas.

Mažesnis abiejų pusių DNSP yra susijęs su didesniais ŠAS šansais. Nustatyta, kad sumažėjus dešiniojo DN plotui 0,01 mm<sup>2</sup>, ŠAS šansai padidėja 16,6 proc. (ŠS = 1,166; 95 proc. PI: 1,093–1,245; p < 0,001), o sumažėjus kairiojo – 17,3 proc. (ŠS = 1,173; 95 proc. PI: 1,099–1,252; p < 0,001). Abiejų pusių DNSP mažėjimas buvo statistiškai reikšmingai susijęs su didesniais

ŠAS šansais ( $p < 0,001$ ). 3.5.1.2 lentelėje pateikiami DN ultragarsinio tyrimo rodiklių sąsajos su ŠAS.

Tiriamiesiems, turintiems izoechogenišką diafragminį nervą, ŠAS šansai buvo didesni, palyginti su hipoechogenišką nervą turinčiais tiriamaisiais (dešinėje – 22,028 karto, kairėje – 3,596 karto).

Be to, abiejų pusių diafragminio nervo heterogeniškumas buvo statistškai reikšmingai susijęs su didesne ŠAS galimybe (gautos  $p < 0,001$ ).

**3.5.1.2 lentelė.** *Lyties, amžiaus, diafragminio nervo skerspjūvio ploto, echogeniškumo ir homogeniškumo sąsajos su šonine amiotrofinė skleroze (logistinės regresijos modelis)*

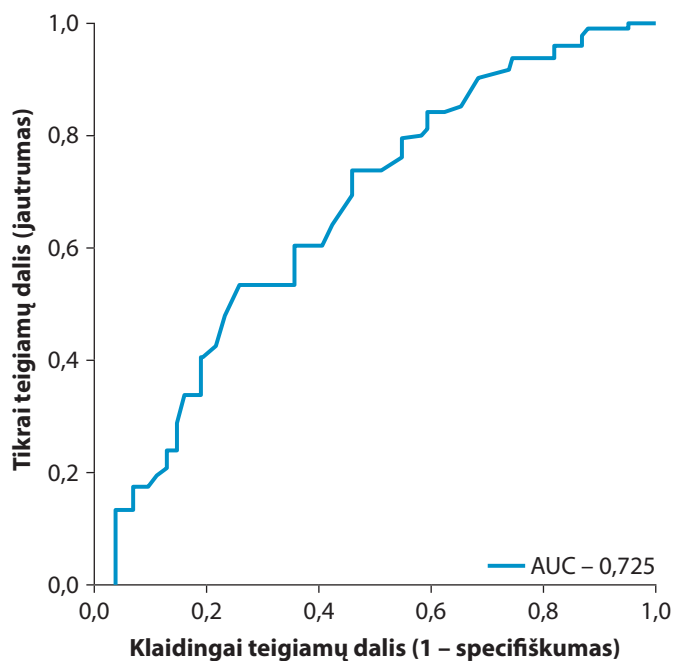
Veiksny	$\beta$	ŠS (95 proc. PI)	p reikšmė
Lytis (V/M)	-0,568	0,566 (0,241–1,337)	0,195
Amžius, metai	-0,014	0,986 (0,946–1,027)	0,504
Dešiniojo DNSP, mm <sup>2</sup>	-15,389	1,166 <sup>a</sup> (1,093–1,245)	< 0,001
Dešiniojo DN homogeniškumas (homo vs hetero)	2,761	15,815 (4,087–61,203)	< 0,001
Dešiniojo DN echogeniškumas (hipo vs izo)	3,092	22,028 (5,434–89,298)	< 0,001
Kairiojo DNSP, mm <sup>2</sup>	-15,967	1,173 <sup>a</sup> (1,099–1,252)	< 0,001
Kairiojo DN homogeniškumas (homo vs hetero)	1,478	4,385 (1,775–10,831)	< 0,001
Kairiojo DN echogeniškumas (hipo vs izo)	1,280	3,596 (1,297–9,972)	0,014

$\beta$  (beta) koeficientas yra regresinės analizės koeficientas; ŠS – šansų santykis; 95 proc. PI – 95 procentų pasikliautinis intervalas; a – rezultatai pateikiami atvejui kai nervo skerspjūvio plotas sumažėja 0,01 mm<sup>2</sup>; DN – diafragminis nervas. DNSP – diafragminio nervo skerspjūvio plotas. homo – homogeniškas; hetero – heterogeniškas; hipo – hipoechogeniškas; izo – izoechogeniškas.

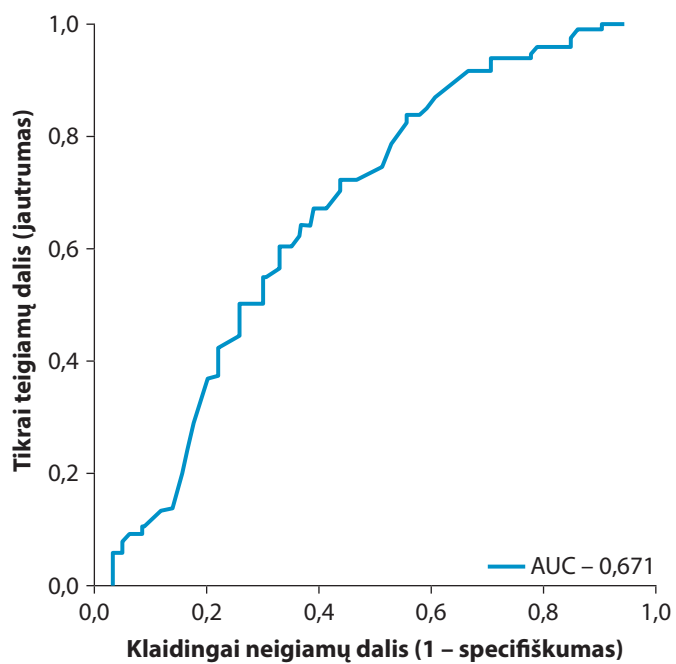
### 3.5.2. Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo parametrų diagnostinė reikšmė pacientams, sergantiems Parkinsono liga

ROC analizės duomenys pateikti 3.5.2.1 ir 3.5.2.2 pav. Nustatyta, kad KNSP turi vidutinę diagnostinę vertę atskiriant PL sergančius pacientus nuo kontrolinės grupės. Dešiniojo KN plotas po ROC kreive buvo AUC = 0,725 (95 proc. PI: 0,636–0,815;  $p < 0,001$ ), o nustatyta optimali ribinė vertė – 1,93 mm<sup>2</sup>, kuriai būdingas 55 proc. jautrumas ir 81,7 proc. specifiskumas.

Kairiojo KN atveju diskriminacinė geba buvo mažesnė (AUC = 0,671), o optimali riba siekė 1,83 mm<sup>2</sup>; šiai vertei nustatytas 66,7 proc. jautrumas ir 63,3 proc. specifiskumas.



**3.5.2.1 pav.** ROC kreivė – sergančiųjų Parkinsono liga dešiniojo klajoklio nervo skerspjūvio plotas



**3.5.2.2 pav.** ROC kreivė – sergančiųjų Parkinsono liga kairiojo klajoklio nervo skerspjūvio plotas

Vertinant KNSP sąsajas su PL, dvinarės logistinės regresijos rezultatai parodė, kad abiejų pusių KNSP sumažėjimas statistiškai reikšmingai didina PL šansus. Sumažėjus dešiniojo KNSP plotui 0,01 mm<sup>2</sup>, PL šansai padidėja 5,0 proc. (ŠS = 1,050; 95 proc. PI: 1,027–1,096; p < 0,001), o sumažėjus kairiojo – 2,9 proc. (ŠS = 1,029; 95 proc. PI: 1,010–1,068; p = 0,002).

Tiriamiesiems, turintiems izoechogenišką dešinįjį KN, PL šansai buvo 10,450 karto didesni, o turintiems izoechogenišką kairįjį – 9,351 karto didesni, palyginti su hipoechogenišką nervą turinčiais tiriamaisiais.

Be to, dešiniojo ir kairiojo KN heterogeniškumas buvo statistiškai reikšmingai susijęs su didesniais PL šansais (atitinkamai p = 0,005 ir p = 0,04). Dešinėje pusėje PL šansai padidėjo 8,826 karto (95 proc. PI: 1,909–40,813), o kairėje – 5,118 karto (95 proc. PI: 1,057–24,789).

Lytis ir amžius nebuvo statistiškai reikšmingai susiję su PL (atitinkamai p = 0,361 ir p = 0,053) (3.5.2.1 lentelė).

**3.5.2.1 lentelė.** *Lyties, amžiaus, klajoklio nervo skerspjūvio ploto, echogeniškumo ir homogeniškumo sąsajos su Parkinsono liga (logistinės regresijos modelis)*

Kintamasis	$\beta$	ŠS (95 proc. PI)	p reikšmė
Lytis (V/M)	-0,335	0,715 (0,349–1,468)	0,361
Amžius, metai	-0,051	1,052 (1,011–1,094)	0,053
Dešiniojo KNSP, mm <sup>2</sup>	-4,940	1,050 <sup>a</sup> (1,027–1,096)	< 0,001
Dešiniojo KN homogeniškumas (homo vs hetero)	2,178	8,826 (1,909–40,813)	0,005
Dešiniojo KN echogeniškumas (hipo vs izo)	2,347	10,450 (4,242–25,740)	< 0,001
Kairiojo KNSP, mm <sup>2</sup>	-2,889	1,029 <sup>a</sup> (1,010–1,068)	0,002
Kairiojo KN homogeniškumas (homo vs hetero)	1,633	5,118 (1,057–24,789)	0,04
Kairiojo KN echogeniškumas (hipo vs izo)	2,235	9,351 (3,778–23,143)	<0,001

$\beta$  (beta) koeficientas yra regresinės analizės koeficientas; ŠS – šansų santykis; 95 proc. PI – 95 procentų pasikliautinis intervalas; a – rezultatai pateikiami atvejui kai nervo skerspjūvio plotas sumažėja 0,01 mm<sup>2</sup>; KN – klajoklis nervas. KNSP – klajoklio nervo skerspjūvio plotas; homo – homogeniškas; hetero – heterogeniškas; hipo – hipoechogeniškas; izo – izoechogeniškas.

## 4. REZULTATŲ APTARIMAS

Tai pirmasis tokio pobūdžio tyrimas, kuris analizuotų KN ir DN sąsajas su neurodegeneracinėmis ligomis bei ANS sutrikimais. Šiame tyrime siekta nustatyti ultragarsinių parametrų pokyčius sergant ŠAS ir PL bei nustatyti jų sąsajas su ANS funkcijos rodikliais ir klinikinėmis charakteristikomis.

Įvertinus sergančiųjų ŠAS ir kontrolinės grupės demografinius rodiklius, nustatyti reikšmingi skirtumai pagal amžių ar lytį. Sergantys ŠAS pacientai turėjo mažesnę KMI ( $p = 0,001$ ) bei klubų apimtį ( $p = 0,002$ ), lyginant su kontroline grupe, o šie antropometriniai skirtumai gali būti siejami su progresuojančiu raumenų silpnumu, sumažėjusiu fiziniu aktyvumu ir sisteminiu raumenų nykimu, kurie būdingi ŠAS eigai. Mažesnis KMI sergant ŠAS taip pat gali atspindėti sumažėjusį mitybos efektyvumą ir energijos disbalansą. Šie pokyčiai sutampa su literatūroje aprašytais duomenimis, kuriais remiantis ŠAS dažniau paveikia vyresnio amžiaus asmenis, šiek tiek dažniau vyrus [35, 145], ir kad mažesnis KMI yra susijęs su blogesne ligos prognoze bei padidėjusiu mirtingumu [146, 147].

Tyrimo metu išaiškėjo, kad sergančiųjų ŠAS pacientų DNSP buvo reikšmingai mažesnis nei kontrolinės grupės, o tai dera su literatūroje aprašytais duomenimis, rodančiais nervo atrofiją dėl motorinių neuronų degeneracijos [33, 66]. Tikėtina, kad DNSP dydžio sumažėjimas atspindi motorinių neuronų ir inervuojamų raumenų skaidulų atrofiją, kas atitinka žinomus ŠAS patofiziologinius mechanizmus. Šie rezultatai dera su pomirtinių tyrimų duomenimis [5], kuriuose nustatytas didelių mielinizuotų aksonų netekimas, ypač distalinėse srityse, bei reikšminga DN aksoninė atrofija. Vienas iš galimų patogenetinių mechanizmų galėtų būti oksidacinė žala, sukianti aksonų disfunkciją ir irimą [148]. Oksidacinis stresas, veikdamas įvairius ląstelinius procesus, gali prisidėti prie abipusių – dešiniojo ir kairiojo – DN degeneracinių pokyčių.

Papildomai vertinti echogeniškumo ir homogeniškumo pokyčiai parodė, kad DN heterogeniškumas ir hiperechogeniškumas dažniau nustatomi sergančiųjų ŠAS grupėje, kas rodo galimus struktūrinius nervo pakitimus. Galima teigti, kad šie ultragarsiniai pokyčiai atspindi degeneracinius procesus, veikiančius nervines skaidulas ir aplinkinius audinius. Gauti rezultatai papildo ankstesnius mūsų ir kitų autorių duomenis [14] bei leidžia svarstyti apie DN ultragarsinio tyrimo galimą klinikinę reikšmę kaip papildomo, neinvazinio ŠAS vertinimo metodo. Nors homogeniškumo ir echogeniškumo vertinimas atskleidė reikšmingus skirtumus sergant ŠAS, šiuo metu literatūroje vis dar trūksta pakankamai tyrimų, leidžiančių šiuos rezultatus tiesiogiai palyginti ar standartizuoti.

Vertinant ALSFRS-R ir COMPASS-31 skales sergantiesiems ŠAS gauti rezultatai parodė, kad ALSFRS-R skalės balai reikšmingai koreliavo su DN skerspjūvio plotu abiejose pusėse ( $p < 0,001$ ), rodydami, kad mažesni DN matmenys buvo susiję su prastesne motorine funkcija. ALSFRS-R skalė vertina keturias funkcinės sritis: viršutinių ir apatinių galūnių motoriką, kalbos ir rijimo funkcijas bei kvėpavimą. Todėl nustatyta koreliacija leidžia manyti, kad DN morfologiniai pakitimai yra susiję su bendru motoriniu silpnumu, būdingu ŠAS eigai.

Šiame tyrime buvo taikytos dvi kalbiškai validuotos klinikinės vertinimo skalės – ALSFRS-R ir COMPASS-31 – siekiant įvertinti ryšį tarp pacientų funkcinės būklės ir DNSP. Nors ALSFRS-R skalės balai šiame tyrime nekoreliavo su DNSP, nustatyta reikšminga koreliacija tarp dešiniojo DN skerspjūvio ploto ir COMPASS-31 balų ( $p < 0,001$ ), tuo tarpu kairiojo DN koreliacija nepasiekė statistinio reikšmingumo ( $p = 0,089$ ). Šie duomenys rodo, kad DN struktūriniai pokyčiai gali būti labiau susiję su ANS funkcijos sutrikimo požymiais nei su bendru funkcinės būklės vertinimu pagal ALSFRS-R skalę. Tai leidžia manyti, kad DN morfologiniai pakitimai gali atspindėti platesnį ANS mechanizmų įsitraukimą ŠAS patogenezėje. Ankstesnieji tyrimai, nors daugiausiai susitelkę ties diafragmos storio ir respiracinių funkcijų sąsajomis, taip pat parodė, kad motorinės funkcijos (vertinamos ALSFRS-R) pokyčiai gali būti susiję su ultragarsiniais nervo parametrais [5]. Tačiau dabartinio tyrimo rezultatai rodo, kad ANS funkcijos vertinimas gali būti jautresnis DN morfologinių pokyčių atspindys nei bendroji funkcinė skalė.

Apibendrinant, šio tyrimo rezultatai rodo, kad DN ultragarsinis tyrimas gali būti naudingas neinvazinis metodas vertinant struktūrinius nervų pokyčius sergant ŠAS. Nustatyta reikšminga sąsaja tarp DNSP ir ANS funkcijos rodiklių, įvertintų pagal COMPASS-31 skalę, leidžia manyti, kad DN morfologiniai pakitimai gali atspindėti ANS įsitraukimą į ligos eigą. Šie rezultatai pagrindžia DNUG metodo tolesnio tyrimo poreikį platesnėse ir perspektyviose imtyse.

Tyrimas atskleidė reikšmingus morfologinius KN pokyčius ŠAS pacientams, palyginti su sveikais kontrolinės grupės dalyviais. Stebėtas KNSP sumažėjimas rodo šio nervo pažeidžiamumą neurodegeneraciniams procesams. Echogeniškumo ir homogeniškumo variacijos taip pat leidžia įtarti struktūrinius nervo pokyčius, galimai susijusius su ligos patofiziologiniais mechanizmais. Šie rezultatai atitinka kitų autorių duomenis, kuriuose nustatytas KN skerspjūvio ploto sumažėjimas ŠAS pacientams [64–67], nors kai kurie tyrimai reikšmingų KN ultragarsinių pokyčių nenustatė [149].

Vis dėlto, kaip rodo ankstesni tyrimai, vien tik KNSP diagnostinis tikslumas, diferencijuojant bulbarinę ir nebulbarinę ŠAS formas, gali būti

ribotas [150]. Atsižvelgiant į tai, didesnę diagnostinę vertę galėtų suteikti kombinuotas metodas, jungiantis KNUG parametrus su kitais ANS žymenimis, pavyzdžiui: ŠRV rodikliais ar sudėtiniais autonominių simptomų balais. Taip pat papildomi ultragarsiniai parametrai, tokie kaip fascikulinės struktūros analizė ar echogeniškumo vertinimas, gali suteikti išsamesnės informacijos apie galimą ANS pažeidimo lygį sergant ŠAS. Šių metodų diagnostinė vertė turėtų būti toliau vertinama platesniuose tyrimuose.

Tyrimas parodė reikšmingas koreliacijas tarp KNUG parametrų (NSP, echogeniškumo) ir antropometrinių rodiklių, tokių kaip ūgis, svoris, KMI, liemens ir klubų apimtys, daugumai šių rodiklių parodžius stiprią statistinę reikšmę ( $p < 0,001$ ). Tačiau reikšmingas KMI sumažėjimas ŠAS pacientų grupėje, palyginti su kontroline grupe, leidžia daryti prielaidą, kad šie pokyčiai gali būti susiję su ligos progresavimu ir raumenų masės nykimu, o ne tik su normaliu kūno dydžio poveikiu nervo morfologijai.

Pastebėtos echogeniškumo variacijos tarp kontrolinės ir ŠAS grupių suteikia papildomų įžvalgų apie ligos poveikį nervų struktūrai. Ryškesni homogeniškumo ir echogeniškumo pokyčiai buvo nustatyti pacientams, sergantiems AMN ir bulbarine ŠAS forma, tuo tarpu VMN forma šiuo požiūriu neparodė reikšmingų ultragarsinio tyrimo pokyčių. Tai gali rodyti skirtingą patologinių procesų išraišką priklausomai nuo klinikinio ligos fenotipo.

Gauta reikšmingų koreliacijų tarp KNUG duomenų ir COMPASS-31 balų. Tai rodo, kad KN morfologiniai pokyčiai yra susiję su ANS disfunkcijos požymiais, įvertintais pagal COMPASS-31, ir leidžia manyti, jog nervo struktūros pakitimai gali būti susiję su išmatuojamais autonomiais simptomais. Šie rezultatai pabrėžia sudėtingą sąveiką tarp neurologinių ir funkcinų ligos aspektų. COMPASS-31 koreliacija su KN morfologija gali atspindėti ANS takų išitraukimą į ŠAS eigą, atsižvelgiant į KN vaidmenį reguliuojant širdies ir virškinimo sistemos funkcijas.

Šiame tyrime, kaip ir keliuose kitų autorių darbuose, atskleista, kad KNUG morfologiniai parametrai (pvz., NSP, echostruktūra) yra susiję su ANS funkcijos sutrikimais. Nustatyta, kad KNSP koreliuoja su parasimpatinės funkcijos parametrais pakreipimo mėginiu (angl. *tilt test*) ir kitais autonomiais rodikliais, palaikant ultragarsinių matavimų potencialą kaip papildomą autonominės disfunkcijos žymenį neurodegeneracinėse ligose [150, 151].

Tuo tarpu ALSFRS-R skalės balai nereikšmingai koreliavo su KNUG duomenimis, išskyrus ribinę sąsają su kairiojo KN parametrais ( $p = 0,125$ ). Tai rodo, kad nors KN pokyčiai yra susiję su ANS simptomais, jie gali tiesiogiai neatspindėti bendresnių motorinių funkcinių gebėjimų, vertinamų pagal ALSFRS-R skalę.

Nustatyta, kad didėjant sergančiųjų ŠAS amžiui mažėjo kairiojo KNSP, tuo tarpu dešiniojo KNSP reikšmingos sąsajos su amžiumi nenumatytos. Taip pat ilgesnė ligos trukmė buvo susijusi su mažesniu KNSP. Tuo tarpu ligos pradžios amžius reikšmingų sąsajų su KNSP neturėjo. Šie rezultatai gali atspindėti su amžiumi ir ligos trukme susijusius struktūrinius pokyčius sergant ŠAS.

Sergančiųjų ŠAS tyrimai išryškino ŠRV svarbą aiškinantis ligos sukeltą ANS funkcijos sutrikimą. Daugelyje tyrimų nustatyta, kad ŠAS pacientams pasireiškia reikšmingi ŠRV pokyčiai, rodantys ANS įsitraukimą, ypač parasimpatinės širdies ir kraujagyslių reguliacijos srityje. Dažniausiai aprašomas sumažėjęs ŠRV, palyginti su sveikais asmenimis, kas rodo vagalinės–simpatinės pusiausvyros sutrikimą [152]. Šiam disbalansui būdinga padidėjusi ramybės širdies susitraukimų dažnio vertė, sumažėjusi R–R intervalų variabilumo reikšmė bei pakitęs žemųjų ir aukštųjų dažnių santykis [153].

Šiame tyrime ŠRV analizė ŠAS grupėje parodė sumažėjusias SDNN, RMSSD ir pNN50 reikšmes, atspindinčias parasimpatinės reguliacijos pokyčius. Tačiau ŠRV rodikliai nereikšmingai koreliavo su KNSP, kas leidžia manyti, kad ŠRV pokyčiai gali būti labiau susiję su funkciniu ANS reguliacijos sutrikimu nei su aiškiai išreikštais KN struktūriniais pakitimais. Tai dera su ankstesniais duomenimis, rodančiais, jog vagalinės visceralinės šakos gali išlikti santykinai išsaugotos net pažengusiose ŠAS stadijose [67, 153].

Nors KN degeneracija sergant ŠAS gali būti nustatoma ultragarso, širdies ritmo reguliaciją lemia platesnis simpatinių ir parasimpatinių skaidulų tinklas ANS. Todėl ŠRV pokyčiai gali atspindėti sudėtingą ANS disfunkcijos mechanizmą sergant ŠAS, nebūtinai tiesiogiai priklausantį nuo vien tik KN morfologinių pakitimų.

Mūsų tyrimo rezultatai dera su naujausių aukštos raiškos ultragarso tyrimų duomenimis, kurie parodė reikšmingą klajoklio nervo atrofiją PL sergantiems pacientams, palyginti su kontrolinės grupės dalyviais [16, 31, 32, 154–157]. Nustatytas reikšmingas KNSP sumažėjimas PL pacientams rodo galimus bendrus neurodegeneracinius mechanizmus skirtinguose neurologinuose sutrikimuose.

Walter ir kt. nustatė reikšmingą KNSP dydžio sumažėjimą PL pacientams, kuris nekoreliavo nei su ligos trukme, nei su jos sunkumu, kas gali rodyti, jog KN atrofija pasireiškia ankstyvesnėse neurodegeneracinių procesų stadijose [155]. Panašiai Pelz ir kt. teigė, kad tiek kairysis, tiek dešinysis KN buvo reikšmingai plonesni PL pacientams, nepriklausomai nuo klinikinės ligos stadijos [155].

Vis dėlto ne visi tyrimai nustatė reikšmingą KN dydžio sumažėjimą tarp PL ir kontrolinės grupės [156, 157]. Tačiau dauguma šių tyrimų nevertino kūno sudėties ar antropometrinių rodiklių, kurie galėtų turėti įtakos KN

dydžiui. Nors kai kurios ankstesnės studijos su sveikais asmenimis parodė reikšmingą KMI koreliaciją su KN skerspjūvio plotu [158], mūsų tyrime reikšmingų sąsajų tarp KNSP ir ūgio, svorio, KMI ar kitų antropometrinių rodiklių nenustatyta. Panašūs rezultatai aprašyti ir tyrimuose su pacientais, sergančiais cukriniu diabetu, kuriuose nenustatyta aiški koreliacija tarp KNSP ir amžiaus, lyties ar kūno masės rodiklių [159].

Be to, mūsų tyrime nustatyti ryškūs KN echogeniškumo skirtumai tarp PL ir kontrolinės grupės: kontrolinėje grupėje dažniau stebėtas hipoechogeniškumas, o PL pacientams – padidėjęs echogeniškumas. Šie pokyčiai gali atspindėti nervo audinių architektūros pakitimus, susijusius su neurodegeneraciniais procesais. Neuropatologiniai tyrimai rodo, kad PL atveju virškinamojo trakto disfunkcija ir autonominės nervų sistemos pažeidimas dažnai siejami su  $\alpha$ -syn sancaupomis, aptinkamomis tiek enterinėje nervų sistemoje, tiek KN nugaros motoriniame branduolyje [160].

Nors autopsijos tyrimų yra nedaug, tačiau visi jie parodė struktūrinius ir funkcinis pokyčius įvairiose neurologinėse būklėse, įskaitant degeneracines ligas, tokias kaip PL. Šie tyrimai leidžia manyti, kad aksonų degeneracija,  $\alpha$ -syn sancaupos ir parasimpatinės inervacijos praradimas prisideda prie nustatomų pokyčių [92]. Be to, aksonų degeneracija kartu su nugaros motorinio branduolio degeneracija išskiriama kaip pagrindinis veiksnys, lemiantis nemotorinių simptomų vystymąsi sergant PL [161, 162, 167]. Pažymėtina, kad esamoje literatūroje vis dar pastebima spraga dėl konkretaus echogeniškumo vertinimo vaidmens kaip diagnostinio žymens neurologinuose sutrikimuose.

Mūsų tyrime nagrinėta KN ultragarsinių parametrų ir klinikinių rodiklių sąsaja PL sergantiems pacientams atskleidė reikšmingas koreliacijas, ypač dešiniojo KN. Dešiniojo KNSP reikšmingai koreliavo su paciento svoriu, trečiojo skilvelio pločiu bei bendru COMPASS-31 balu. Kairiojo KNSP reikšmingai koreliavo su svoriu, amžiumi, ligos trukme ir trečiojo skilvelio pločiu.

Šie rezultatai rodo, kad KN morfologiniai pokyčiai gali būti susiję ne tik su periferine ANS disfunkcija, bet ir atspindėti centrinės nervų sistemos struktūrinius pakitimus. Trečiojo skilvelio padidėjimas, kuris anksčiau buvo sietas su kognityviniais sutrikimais – Alzheimerio liga, Parkinsono liga ir išsėtine skleroze [166–169], gali turėti papildomos reikšmės vertinant galimus centrinės neurodegeneracijos požymius.

Nustatyta statistiškai reikšminga, nors ir silpna, neigiama koreliacija tarp COMPASS-31 bendro balo ir dešiniojo KNSP ( $r = -0,257$ ;  $p = 0,047$ ), rodanti, kad didėjant ANS simptomų sunkumui, mažėja dešiniojo KNSP. Šis rezultatas leidžia manyti, kad ANS simptomų išreikštumas gali būti susijęs su KN morfologiniais pokyčiais. Visgi dėl silpnos koreliacijos reikalingi

tolesni tyrimai šiai sąsajai patvirtinti ir jos klinicinei reikšmei įvertinti. Pažymėtina, kad kai kurie ankstesni tyrimai neparodė reikšmingų sąsajų tarp KN parametrų ir ANS neuropatijos, vertinamos COMPASS-31 skale [159].

PL sergančių pacientų grupėje nustatyta viena statistiškai reikšminga sąsaja tarp KN ultragarsinių parametrų ir ŠRV rodiklių – neigiama koreliacija tarp kairiojo KNSP ir RMSSD parametro ( $r = -0,421$ ;  $p = 0,025$ ). Šis ryšys rodo, kad mažėjant kairiojo KNSP, mažėja ir parasimpatinės reguliacijos rodiklis.

Tuo tarpu kiti ŠRV parametrai, tokie kaip SDNN ir pNN50, reikšmingų koreliacijų su KN ultragarsiniais rodikliais neparodė. Tai gali atspindėti ANS įsitraukimo į neurodegeneracinius procesus kompleksiskumą ir rodyti, kad skirtingi ŠRV komponentai atspindi nevienodus reguliacinius mechanizmus.

Nors nustatyta sąsaja yra vidutinio stiprumo, jos interpretaciją reikėtų vertinti atsargiai dėl riboto koreliacijos pobūdžio ir galimų kitų veiksnių įtakos. Šie duomenys leidžia svarstyti KN ultragarsinių parametrų potencialą kaip papildomą, neinvazinį ANS funkcijos vertinimo metodą sergant PL, tačiau jų klinikinė reikšmė turėtų būti patvirtinta tolesniais tyrimais.

Mūsų tyrimo rezultatai patvirtina, kad KN morfologiniai pokyčiai gali būti susiję su ANS disfunkcija sergant PL. Nustatytas reikšmingas KNSP sumažėjimas PL pacientams, palyginti su kontrolinės grupės dalyviais, dera su ankstesniais aukštos raiškos ultragarso tyrimais.

Šio tyrimo rezultatai parodė, kad KN ultragarsiniai parametrai turi nevienodą diagnostinę vertę sergant ŠAS ir PL, o tai tikėtina atspindi skirtingus periferinės nervų sistemos įsitraukimo mechanizmus šių neurodegeneracinių ligų patogenezėje.

ŠAS grupėje KNSP ROC analizėje demonstravo gerą diskriminacinę gebą (AUC dešiniojo – 0,779; kairiojo – 0,737), kas rodo palankų jautrumo ir specifiškumo santykį diferencijuojant pacientus nuo kontrolinės grupės. Šie duomenys dera su literatūroje aprašomais KN atrofijos radiniais sergant ŠAS, ypač esant bulbarinei ligos formai, kai periferinių motorinių skaidulų degeneracija gali atspindėti KNSP sumažėjimu [65, 144]. Vis dėlto binarinės logistinės regresijos analizėje KNSP nepriklausoma sąsaja su ŠAS nebuvo patvirtinta, ypač vertinant kairįjį KN. Tuo tarpu reikšmingesnę nepriklausomą sąsają parodė struktūriniai nervo echoparametrai – padidėjęs echogeniškumas dešinėje bei pakitęs homogeniškumas abipus, ypač kairėje pusėje. Tai leidžia manyti, kad ŠAS atveju diagnostinę reikšmę gali turėti ne tik nervo morfometriniai matmenys, bet ir jo mikrostruktūriniai pokyčiai, atspindintys aksonų degeneraciją, mielino struktūros pakitimus ar jungiamojo audinio remodeliaciją.

Vertinant DN rodiklius, nustatytas statistiškai reikšmingas DNSP sumažėjimas abipus, taip pat reikšminga dešiniojo DN homogeniškumo sąsaja su

ŠAS. Šie radiniai papildo KN tyrimo rezultatus ir patvirtina, kad periferinių nervų struktūriniai pokyčiai sergant ŠAS yra sisteminio pobūdžio ir gali turėti diagnostinę reikšmę, ypač ankstyvose ar kliniškai neaiškiose ligos stadijose. PL grupėje KNSP ROC analizėje taip pat pasižymėjo diagnostine verte, tačiau diskriminacinė geba buvo vidutinė (AUC dešinėje 0,725; kairėje 0,671). Literatūroje pateikiami duomenys apie KNSP pokyčius sergant PL išlieka heterogeniški: dalis tyrimų nustato nedidelį KNSP sumažėjimą, tuo tarpu kiti autoriai akcentuoja ribotą šio parametro diagnostinę vertę individualiam vertinimui [16, 156, 157].

Mūsų logistinės regresijos analizėje KNSP nepriklausomų sąsajų su PL nenustatyta, tačiau reikšmingą sąsają demonstravo padidėjęs dešiniojo KN echogeniškumas bei kairiojo KN homogeniškumas. Tai rodo, kad PL atveju periferinio nervo struktūriniai pokyčiai gali būti subtilesni ir ne visuomet atsispindėti aiškia KN atrofija, todėl kokybiniai ultragarsiniai parametrai gali būti jautresni ligos požymiai nei vien morfometriniai matmenys.

Svarbus šio tyrimo privalumas – neinvazinių, klinikinėje praktikoje lengvai prieinamų ir plačiai pritaikomų tyrimo metodų taikymas, sudarantis galimybes gautus rezultatus integruoti į kasdienę neurologinę praktiką. Tyrimai buvo atlikti taikant standartizuotą metodiką, dalyvaujant dviems nepriklausomiems tyrėjams, o tai didina matavimų patikimumą ir užtikrina rezultatų objektyvumą. Be to, tyrime dalyvavo aiškiai apibrėžtos pacientų ir kontrolinės grupės, o statistinės analizės metodai buvo parinkti atsižvelgiant į duomenų pobūdį ir tyrimo tikslus, taip užtikrinant gautų rezultatų patikimumą ir interpretacijos pagrįstumą.

Vienas pagrindinių šio tyrimo trūkumų – santykinai nedidelė tiriamųjų imtis, ypač šonine amiotrofine skleroze sergančių pacientų grupėje, kas galėjo sumažinti statistinę galią nustatyti silpnesnes sąsajas. Taip pat, tyrimas buvo atliktas viename centre, todėl gautų rezultatų apibendrinamumas platesnei populiacijai gali būti ribotas.

## IŠVADOS

1. Sergantiesiems šonine amiotrofine skleroze nustatyti reikšmingi diafragminio nervo ultragarsiniai pokyčiai, pasireiškiantys nervo skerspjūvio ploto sumažėjimu ir padidėjusiu hipechogeniškumu, heterogeniškumu, palyginus su kontroline grupe.
2. Sergantiems šonine amiotrofine skleroze pacientams nustatytas reikšmingas klajoklio nervo skerspjūvio ploto sumažėjimas bei padidėjęs echogeniškumas ir heterogeniškumas, lyginant su kontrolinės grupės asmenimis.
3. Sergantiesiems Parkinsono liga nustatyti klajoklio nervo ultragarsiniai pokyčiai, pasireiškiantys nervo skerspjūvio ploto sumažėjimu ir padidėjusiu izoechogeniškumu, palyginus su kontroline grupe.
4. Sergantiesiems šonine amiotrofine skleroze nustatyti autonominės nervų sistemos funkcijos sutrikimai, pasireiškiantys sumažėjusiais širdies ritmo variabilumo rodikliais bei virškinamojo trakto ir šlapimo pūslės funkcijos pakitimais, o sergantiesiems Parkinsono liga – ortostatinės, vazomotorinės, virškinamojo trakto ir širdies ritmo variabilumo sutrikimai. Šie autonominės funkcijos rodikliai buvo susiję su klajoklio nervo ultragarsiniais pokyčiais, įskaitant skerspjūvio ploto ir struktūrinių parametrų pakitimus.
5. Nustatyta, kad mažesnis klajoklio nervo skerspjūvio plotas, padidėjęs echogeniškumas ir struktūros heterogeniškumas yra statistiškai reikšmingi pokyčiai pacientams, sergantiems šonine amiotrofine skleroze ir Parkinsono liga. Sergant šonine amiotrofine skleroze nustatyta diafragminio nervo skerspjūvio ploto ir struktūrinių pokyčių diagnostinė reikšmė: mažesnis abiejų pusių skerspjūvio plotas bei struktūriniai pakitimai (izogeniškumas ir heterogeniškumas) būdingi šiai ligai. Klajoklio nervo skerspjūvio plotas pasižymi gera diskriminacine geba, diferencijuojant kontrolinę grupę nuo pacientų, sergančių šonine amiotrofine skleroze ir Parkinsono liga.

## PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

1. Rekomenduojama taikyti diafragminio ir klajoklio nervų ultragarsinį tyrimą kaip papildomą, neinvazinį metodą šoninės amiotrofinės sklerozės ir Parkinsono ligos diagnostikoje bei ligos progresavimui stebėti.
2. Rekomenduojama reguliariai atlikti diafragminio nervo ultragarsinį tyrimą, siekiant laiku identifikuoti kvėpavimo funkcijos blogėjimą ir užtikrinti tinkamą respiracinės priežiūros pradžią (pvz., neinvazinę ventiliaciją).
3. Klajoklio nervo ultragarsinis tyrimas turėtų būti taikomas pacientams, sergantiems Parkinsono liga, siekiant anksti nustatyti autonominės disfunkcijos požymius. Klajoklio nervo tyrimą rekomenduojama derinti su širdies ritmo variabilumo analize ir klinikinių simptomų vertinimu, siekiant individualizuoti gydymą.
4. Rekomenduojama derinti diafragminio ir klajoklio nervų ultragarsinį tyrimą, širdies ritmo variabilumo tyrimus, kvėpavimo funkcijos testus ir elektroneuromiografiją, siekiant padidinti diagnostinį tikslumą.
5. Vertinant ultragarsinio tyrimo parametrus būtina atsižvelgti į paciento amžių, kūno sudėjimą, gretutines ligas ir vartojamus vaistus, nes šie veiksniai gali daryti įtaką rezultatams.
6. Rekomenduojama standartizuoti diafragminio ir klajoklio nervų ultragarsinių matavimų metodiką tarp skirtingų centrų. Ilgalaikė pacientų stebėseną gali padėti įvertinti nervų pakitimų progresavimą ir jų ryšį su ligos eiga bei prognoze.

## SUMMARY

### 1. INTRODUCTION

Neurodegenerative diseases (NDs) are a group of disorders of the nervous system characterized by progressive neuronal loss and dysfunction, leading to gradual impairment of memory, speech, movement, coordination, and autonomic nervous system (ANS) functions. In recent decades, due to population aging and increased life expectancy, the global prevalence of these diseases has been rapidly rising [1]. Despite advances in neuroimaging, molecular biomarkers, and genetic research, early diagnosis of NDs remains highly challenging. In the early stages, symptoms are often nonspecific and may overlap across different disorders, while reliable biomarkers are still lacking in clinical practice [2].

The World Health Organization states that neurological disorders, including NDs, impose a substantial economic burden worldwide, encompassing direct healthcare costs, indirect costs due to lost productivity, and expenses related to social care. NDs are among the leading causes of morbidity and disability globally, affecting more than one-third of the world's population [1].

Given the increasing prevalence of NDs and their growing societal and economic burden, significant attention is being directed toward pathogenetic mechanisms that may help identify early, clinically applicable disease markers. Research over recent decades suggests that neurodegenerative processes are not confined to the central nervous system (CNS) but often involve the peripheral nervous system (PNS), particularly in the early stages of disease. Such peripheral changes may reflect primary neurodegenerative mechanisms and offer an opportunity for earlier diagnosis before the onset of overt clinical symptoms [3, 4].

Neuropathological studies indicate that in amyotrophic lateral sclerosis (ALS), structural alterations of the phrenic nerve (PN) and the vagus nerve (VN) can be observed, associated with axonal degeneration and glial cell changes. Histological findings describe a “dying-back” pattern of distal axonal atrophy, characterized by degeneration progressing from distal axonal segments toward the neuronal cell body. This process is considered an important pathogenic mechanism in ALS and is associated with impaired axonal transport and inflammatory processes. In addition to ALS, distal axonal damage is also characteristic of other neurological disorders, particularly peripheral polyneuropathies, such as diabetic symmetric sensorimotor

polyneuropathy, certain toxic polyneuropathies caused by chemical or pharmacological agents, and inherited axonopathies such as Charcot–Marie–Tooth disease type 2, which are marked by primary distal axonal degeneration and proximally progressing symptoms [5].

According to the anterograde neuronal degeneration (“dying-forward”) hypothesis, neurodegeneration begins in the CNS, particularly in the neuronal cell bodies of the cerebral cortex, and spreads anterogradely along axons to PNS structures [6]. This model emphasizes the role of centrally mediated excitotoxic processes (caused by excessive neuronal excitation) and disrupted glutamatergic transmission in disease onset and progression [7,8]. The “dying-forward” mechanism has been most extensively studied in ALS [6], but has also been described in the pathogenesis of Alzheimer’s disease [9], Parkinson’s disease (PD) [10], and certain forms of frontotemporal dementia [11], where the primary neurodegenerative process is associated with neuronal cell body dysfunction followed by axonal degeneration.

Axonal degeneration is often accompanied by myelin sheath damage and adaptive or degenerative hyperplasia of Schwann cells as part of a compensatory cellular response. In early stages, Schwann cells may transfer polyribosomes to axons in order to support local protein synthesis [12, 13]. Although these processes occur at a microscopic level and are not directly detectable by ultrasound, imaging allows the identification of their structural consequences – namely nerve atrophy. In patients with ALS, the cross-sectional area of the phrenic nerve (PNCSA) is significantly reduced bilaterally compared to control groups [14], which is considered a macroscopic sign of chronic axonal degeneration.

In recent years, increasing attention in PD pathogenesis research has been directed toward structural and molecular changes in the PNS, particularly the VN and ANS. Studies show that in patients with NDs, phosphorylated  $\alpha$ -synuclein (p-syn) aggregates can be detected in the PNS – including the VN and gastrointestinal nerve fibers – especially when neurodegenerative changes are already present in the CNS [10,11,15]. This suggests that peripheral p-syn accumulation may occur even before CNS involvement. Furthermore, recent studies support the “body-first” hypothesis of  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ -syn) propagation, where pathological processes originate in the gut or parasympathetic system and spread to the CNS via the VN – representing one of the mechanisms of PD progression [15–18]. Large autopsy studies indicate that p-syn deposits are found in the VN in up to 89% of PD patients, and in 46% of cases of incidental Lewy body disease, suggesting that the pathological process may originate in the periphery [15].

The ANS may be affected in many neurodegenerative diseases. Its dysfunction is one of the most prominent non-motor features of PD. ANS

dysfunction in PD can occur at all disease stages and significantly impair quality of life, causing orthostatic hypotension, urinary, gastrointestinal, thermoregulatory, and sexual dysfunction [19–21]. The severity of ANS involvement in PD may be associated with local  $\alpha$ -syn accumulation, reflecting disease progression [19, 22, 23]. Although ALS has traditionally been considered a disease affecting only motor neurons, growing evidence suggests ANS involvement, as patients may exhibit reduced heart rate variability (HRV), blood pressure lability, as well as gastrointestinal and urinary dysfunction [1, 24]. In clinical practice, it is important to combine structured symptom assessment with objective functional testing. For this purpose, the Composite Autonomic Symptom Score-31 (COMPASS-31) questionnaire is widely used, enabling rapid and reliable assessment of the spectrum and severity of autonomic symptoms [25, 26].

Assessment of cardiovascular autonomic function relies heavily on HRV analysis both at rest and during deep breathing. This non-invasive method allows evaluation of the balance between parasympathetic and sympathetic activity and detection of regulatory disturbances. Studies show that in PD, HRV parameters are often reduced, which is associated with orthostatic hypotension and other manifestations of autonomic dysfunction [27, 28]. Similar HRV changes have been observed in ALS patients, with reduced HRV both at rest and during deep breathing, confirming cardiovascular ANS dysfunction [29, 30]. The combination of these methods provides a standardized, non-invasive, and sufficiently sensitive approach to detect ANS impairment in both PD and ALS, helping to distinguish it from confounding factors and enabling individualized treatment strategies [27, 29, 30].

International research increasingly focuses on early, non-invasive biomarkers, including peripheral nerve ultrasound (e.g., VN parameters in PD) [31, 32] and PN ultrasound assessment in ALS [33]. In addition, HRV is increasingly used as a non-invasive indicator of ANS function in both PD and ALS [14].

Our study contributes to the international field of non-invasive biomarker research by systematically evaluating DN structural changes in ALS, as well as VN alterations in PD and ALS, using ultrasonography. For the first time worldwide, these structural changes in peripheral nerves were analyzed and compared with indicators of ANS function, namely HRV, with the aim of contributing to the development of an early, non-invasive diagnostic model for neurodegenerative diseases. Early and accurate diagnosis of neurodegenerative diseases is of great importance both for patients' quality of life and for the timely implementation of therapies aimed at slowing disease progression.

## 2. AIM AND OBJECTIVES OF THE STUDY

### **Aim**

To evaluate the ultrasonographic parameters of the vagus and diaphragmatic nerves in patients with amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease, and to determine their association with autonomic nervous system dysfunction.

### **Objectives and tasks of the study**

1. To determine the characteristics of ultrasound parameter changes of the phrenic nerve in patients with amyotrophic lateral sclerosis and compare them with a control group.
2. To determine the characteristics of ultrasound parameter changes of the vagus nerve in patients with amyotrophic lateral sclerosis and compare them with a control group.
3. To determine the characteristics of ultrasound parameter changes of the vagus nerve in patients with Parkinson's disease and compare them with a control group.
4. To evaluate autonomic nervous system dysfunction and its associations with ultrasound-detected nerve changes in patients with amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease.
5. To assess the diagnostic value of vagus nerve ultrasound parameters in patients with Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis.

### **Scientific novelty**

Neurodegenerative diseases (NDs) represent one of the major challenges in modern neurology due to their progressive nature, limited treatment options, and significant impact on patients' functional independence and quality of life. In recent decades, with population aging and increasing life expectancy, the burden of these diseases on healthcare systems has been steadily rising worldwide [1]. Despite rapid advances in neurological research, early diagnosis of NDs remains challenging, as initial symptoms are often nonspecific and overlap with those of other conditions, while reliable and easily applicable biomarkers are still lacking in clinical practice [2].

In this study, DN and KN ultrasonographic changes in ALS and PD were systematically investigated for the first time worldwide, and their associations with ANS dysfunction were evaluated. The study is distinguished by the fact that changes in the ultrasonographic parameters of the nerves were compared with clinical and functional assessment findings, with the aim of

identifying these diseases at the earliest possible stages, as ANS disturbances in these conditions may manifest earlier than motor symptoms [34].

The obtained results were compared with other indicators of ANS dysfunction, including heart rate variability (HRV) parameters and the Composite Autonomic Symptom Score-31 (COMPASS-31), and their associations with clinical signs of ANS impairment were evaluated. In addition, anthropometric parameters (height, weight, body mass index (BMI), waist circumference, and hip circumference) were assessed. The diagnostic value of PN and VN ultrasound parameters was determined in patients with PD and ALS.

High-resolution ultrasound, used in this study, is a non-invasive, rapid, and widely accessible method. Therefore, the results have direct clinical applicability – they can be integrated into a multidisciplinary patient assessment to facilitate earlier evaluation of disease progression and more precise application of individualized therapeutic strategies.

Considering the epidemiological significance, high prevalence, and impact on quality of life of ALS and PD, the findings of this study contribute to the development of novel diagnostic and disease progression assessment tools, expand knowledge in clinical neurology, and open new avenues for further interdisciplinary research.

### **Practical value of the study**

Studies investigating ultrasound changes of the VN and PN in ALS and PD provide new opportunities for early and differential diagnosis. High-resolution ultrasound measurements – such as cross-sectional area, echogenicity, and homogeneity – combined with clinical assessment and HRV analysis enable the detection of morphological changes in peripheral nerves even at early disease stages.

The results of this study may contribute to earlier and more accurate diagnosis of PD and ALS, as well as to the identification of novel biomarkers that could serve as additional tools for monitoring disease progression and evaluating treatment effectiveness. Furthermore, they support a multidisciplinary approach (involving neurologists, pulmonologists, cardiologists, and ANS specialists) aimed at optimizing individualized patient care.

In clinical practice, these findings may also expand the application of ultrasound diagnostics, as it is an accessible, non-invasive, and relatively rapid method suitable for both research and routine neurological practice.

### 3. METHODS

#### 3.1. Study population and grouping

The study was conducted at the Lithuanian University of Health Sciences, Medical Academy, Faculty of Medicine (LSMU MA MF), and the Department of Neurology at the Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos (Kauno klinikos) during the period 2021–2025. Approval for the study was obtained from the Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee (protocol No. BE-2-46).

The study group included patients with amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease who were treated and examined at the Department of Neurology, Kauno klinikos between 2021 and 2024. Prior to participation, all subjects were informed about the aim and procedures of the study and provided written informed consent (the informed consent form is presented in Appendix No. 1).

##### 3.1.1. Inclusion criteria for participation in the biomedical study

To ensure the reliability of the study results and the homogeneity of the study groups, clear inclusion criteria were established prior to patient enrolment. Participant selection was based on clinical, diagnostic, and instrumental data confirming a diagnosis of PD or ALS, while excluding other neurological or neuromuscular conditions that could affect ANS function or peripheral nerve structure.

Patients meeting the following criteria were included in the study:

1. Adult patients ( $\geq 18$  years).
2. Patients treated at the Department of Neurology, Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos (Kauno klinikos), including both the outpatient unit for nervous system diseases and the inpatient Neurology Department, with a confirmed diagnosis of PD or ALS.

PD diagnosis was established according to the Movement Disorder Society (MDS) clinical diagnostic criteria [92].

ALS diagnosis was established according to the Gold Coast diagnostic criteria [60].

3. No evidence of other neurological or neuromuscular diseases based on electrophysiological and imaging studies, including: multifocal motor neuropathy, chronic inflammatory polyneuropathy, small fiber neuropathy, acute polyneuropathy (Guillain–Barré syndrome, toxic polyneuropathy), other neurodegenerative diseases (fronto-

temporal dementia, progressive supranuclear palsy, multiple sclerosis, Huntington's disease), or neuromuscular junction disorders (generalized myasthenia gravis).

The study included 60 patients with PD and 32 patients with ALS.

Study Procedures in PD Patients:

- 1) Clinical evaluation (neurological examination, disease staging using the Hoehn and Yahr scale (Appendix No. 4), assessment of anthropometric and demographic data);
- 2) Ultrasound examination of the VN performed using a high-resolution ultrasound system (Philips EPIQ 7, Philips Healthcare, Koninklijke Philips N.V., Netherlands) with a linear 4–18 MHz transducer. High frequencies (12–18 MHz), optimized for superficial nerve visualization, were applied. Imaging was performed in B-mode with the focus set at the depth of the examined nerve (CE 0086);
- 3) 24-hour Holter monitoring;
- 4) Composite Autonomic Symptom Score-31 (COMPASS-31).

Study Procedures in ALS Patients:

- 1) Clinical evaluation (neurological examination, disease phenotype assessment, anthropometric and demographic data);
- 2) Ultrasound examination of the VN and PN performed using a high-resolution ultrasound system (Philips EPIQ 7, Philips Healthcare, Koninklijke Philips N.V., Netherlands) with a linear 4–18 MHz transducer. High frequencies (12–18 MHz), optimized for superficial nerve visualization, were applied. Imaging was performed in B-mode with the focus set at the depth of the examined nerve (CE 0086);
- 3) 24-hour Holter monitoring;
- 4) Composite Autonomic Symptom Score-31 (COMPASS-31).

### **3.1.2. Control group**

To evaluate ultrasound parameters of peripheral nerves and ANS function in PD and ALS and to compare them with normative values, a control group was included in the study. Control subjects were selected to ensure the absence of neurological, neurodegenerative, or neuromuscular junction disorders that could affect peripheral nerve structure or ANS function.

The following inclusion criteria were applied:

1. Adult subjects ( $\geq 18$  years).
2. Individuals in whom no evidence of polyneuropathy, neurodegenerative disease, or neuromuscular junction disorder was found based on clinical neurological examination, electroneuromyography, and imaging studies (brain magnetic resonance imaging or computed tomography).
3. Control subjects were recruited from the outpatient unit for nervous system diseases and the Neurology Department of Kauno klinikos. After comprehensive clinical and instrumental evaluation, no neurological pathology that could influence the study results was identified.

### **3.2. Clinical evaluation**

For each patient with PD and ALS, individual questionnaires were completed (Appendix No. 1 (PD) and Appendix No. 2 (ALS)), and the collected data were entered into a computerized database for analysis. The questionnaire included items on demographic and clinical characteristics: sex, age, disease duration, comorbidities, and medications used; as well as physiological parameters: height, weight, body mass index (BMI), waist circumference, and hip circumference. Neurological status (disease stage or disease phenotype) was assessed both at the time of diagnosis and at the time of the study, based on clinical symptoms and findings of the neurological examination. Prior to the evaluation, medical records were reviewed to obtain detailed information on disease onset and predominant symptoms. Previously performed investigations, including electroneuromyography and magnetic resonance imaging, were also assessed.

#### **3.2.1. Clinical characteristics of the study group**

To characterize the study population and evaluate potential clinical factors that could influence the study results, the main clinical characteristics of patients with PD and ALS were collected and analyzed. These characteristics included demographic data, disease onset and course, comorbidities, family history, ANS function indicators, and pharmacological treatment.

*Age at disease onset:* defined as the patient's age (in years) at the time of the first symptoms.

*Initial symptoms:* assessment of the first clinical manifestations of the disease (clinical presentation in ALS and the initially affected side in PD).

*Disease duration:* defined as the period from the date of diagnosis to study enrolment for both PD and ALS. Comorbidities present during this period were also evaluated.

*Family history:* assessment of neurodegenerative diseases in first-degree relatives (parents, siblings). In cases where no information was available, family history was considered negative.

*ANS assessment:* evaluated using the Composite Autonomic Symptom Score-31 (COMPASS-31) (Appendices No. 1 and No. 2). The following domains were assessed: orthostatic intolerance, vasomotor, secretomotor, gastrointestinal, bladder, and pupillomotor function.

*Pharmacological treatment:* in ALS patients, it was assessed whether disease-specific treatment (riluzole or other agents) was administered.

### **3.2.2. Characteristics of the control group**

For control subjects, demographic characteristics (sex and age) and physiological parameters (height, weight, body mass index (BMI), waist circumference, and hip circumference) were assessed. Data for the control group were collected directly from participants and their medical records, including information on diagnosed conditions and previously performed investigations.

### **3.3. Ultrasound examination of the phrenic and vagus nerves**

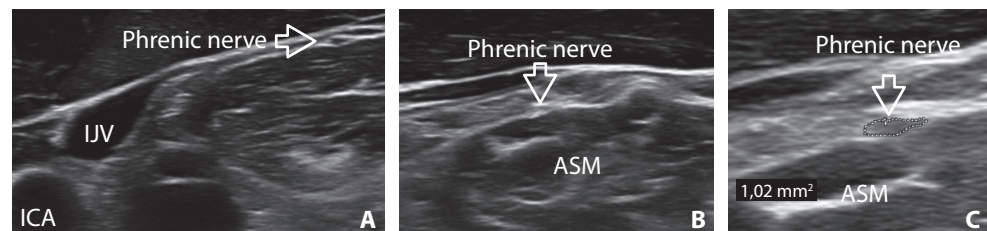
Ultrasound examinations of both the PN and VN were performed by two independent investigators using a high-resolution ultrasound system (Philips EPIQ 7, Philips Healthcare, Koninklijke Philips N.V., Netherlands) with a linear 4–18 MHz transducer. High frequencies (12–18 MHz), optimized for the visualization of superficial nerves, were applied. Imaging was performed in B-mode with the focus set at the depth of the examined nerve (CE 0086). VN ultrasound examination was performed in the cervical region in the transverse plane, within the carotid sheath, between the common carotid artery and the internal jugular vein. PN ultrasound examination was performed in the cervical region above the clavicle in the transverse plane, on the surface of the anterior scalene muscle (m. scalenus anterior).

#### **3.3.1. Evaluation of the phrenic nerve**

In B-mode ultrasound images, a spindle-shaped structure with a hypo-echoic core and a hyperechoic rim, located within the connective tissue sheath on the surface of the anterior scalene muscle, was identified as the PN. Both the right and left PN were evaluated. To accurately differentiate the nerve from adjacent blood vessels, Doppler mode was additionally applied. Both

quantitative and qualitative nerve characteristics were assessed: echotexture (homogeneous or heterogeneous) and echogenicity (hypoechoic, isoechoic, or hyperechoic). The PN cross-sectional area (PNCSA) was measured manually using the freehand tracing method by outlining the hypoechoic nerve core at the boundary between hypoechoic and hyperechoic regions, excluding the surrounding connective tissue, according to the methodology described by Walter et al. (2019) (Fig. 3.3.1.1 C). Each investigator performed three measurements on each side (with an accuracy of 0.01 mm<sup>2</sup>), after which the mean value was calculated, followed by the overall average. Ultrasound examinations were performed by two independent investigators with clinical experience in peripheral nerve ultrasound. Prior to the study, both investigators were trained in a standardized examination protocol. The primary investigator had prior experience in peripheral nerve ultrasound acquired during a clinical traineeship in Würzburg (Germany), and this expertise was transferred to the second investigator through a standardized training and protocol harmonization process.

The investigators were blinded to each other's measurements to ensure objectivity.



**Fig. 3.3.1.1.** (A) Normal ultrasound image of the phrenic nerve in a healthy volunteer; (B) ultrasound image of the phrenic nerve in a subject with ALS; (C) methodology for measuring the cross-sectional area of the phrenic nerve

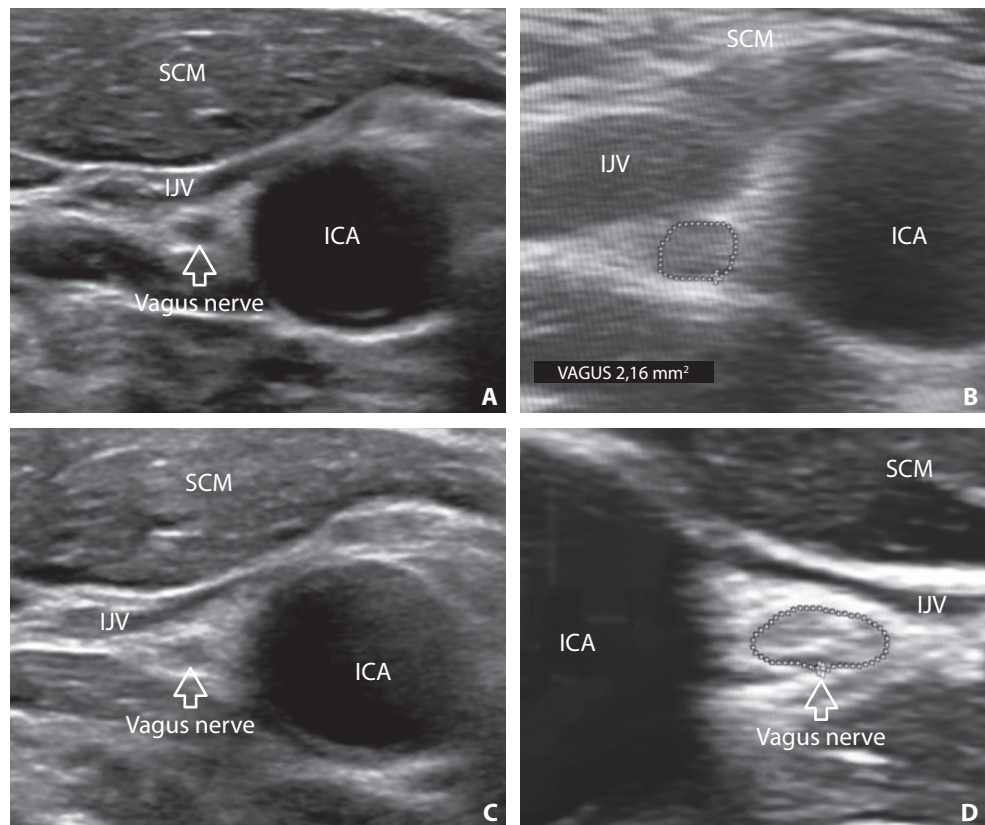
ASM – anterior scalene muscle; IJV – internal jugular vein; ICA – internal carotid artery.

In the control group, the mean right PNCSA was  $1.12 \pm 0.16 \text{ mm}^2$ , and the 95% reference range, calculated as the mean  $\pm 1.96$  standard deviations, was 0.80–1.43  $\text{mm}^2$ . The mean left PNCSA was  $1.08 \pm 0.13 \text{ mm}^2$ , with a corresponding 95% reference range of 0.82–1.33  $\text{mm}^2$ .

To assess measurement reliability, investigator precision was evaluated. Intra-rater reliability demonstrated excellent agreement (ICC = 0.92; 95% CI: 0.89–0.94), and similarly, inter-rater agreement between two independent investigators was also excellent (ICC = 0.90; 95% CI: 0.87–0.93). These findings confirm the high reliability of the applied ultrasound methodology.

### **3.3.2. Evaluation of the vagus nerve**

In B-mode ultrasound images, the VN was visualized near the carotid bifurcation, posterior to the junction of the internal and common carotid arteries. Both the right and left VN were evaluated. During ultrasound examination, the VN was identified as a structure surrounded by a connective tissue sheath, with a hypoechoic core and a hyperechoic outer layer (Fig. 3.3.2.1 C). The nerve diameter (in millimeters) was measured at two locations: at the level of the carotid bulb and at the level of the common carotid artery bifurcation. Nerve structure (homogeneous or heterogeneous) and echogenicity (hypoechoic, isoechoic, or hyperechoic) were also assessed. The VN cross-sectional area (VNCSA) was measured using the transverse projection method described by Walter (2018), by outlining the hypoechoic nerve boundary within its hyperechoic rim. Each investigator performed three measurements on each side (with an accuracy of 0.01  $\text{mm}^2$ ); individual mean values were calculated, followed by the overall average. Ultrasound examinations were performed by two independent investigators with experience in peripheral nerve ultrasound. The primary investigator's expertise, acquired during a clinical traineeship in Würzburg (Germany), was transferred to the second investigator prior to the study through a standardized training and protocol harmonization process. Both investigators worked independently and were blinded to each other's measurements to ensure objectivity.



**Fig. 3.3.2.1. (A)** Normal ultrasound image of the vagus nerve in a healthy volunteer (hypoechoic, homogeneous); **(B)** methodology for measuring the cross-sectional area of the vagus nerve (isoechoic, homogeneous); **(C)** ultrasound image of the vagus nerve in a patient with ALS (hyperechoic, homogeneous); **(D)** ultrasound image of the vagus nerve in a patient with ALS (hyperechoic, heterogeneous)

ASM – anterior scalene muscle; IJV – internal jugular vein; ICA – internal carotid artery.

In healthy subjects, the mean right VNCSA was  $2.07 \pm 0.18 \text{ mm}^2$  (95% CI: 2.03–2.12), while the mean left VNCSA was  $1.87 \pm 0.21 \text{ mm}^2$  (95% CI: 1.82–1.93). The cross-sectional area of the right VN ranged from 1.76 to 2.54  $\text{mm}^2$ , and that of the left VN ranged from 1.35 to 2.38  $\text{mm}^2$ . Based on the 2.5<sup>th</sup>–97.5<sup>th</sup> percentiles, the reference range for the right VNCSA was 1.77–2.47  $\text{mm}^2$ , and for the left VNCSA it was 1.41–2.32  $\text{mm}^2$ .

### **3.4. Heart rate variability**

The study was conducted at the outpatient unit for nervous system diseases and the Neurology Department of the Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos (Kauno klinikos) in patients diagnosed with ALS or PD. The examination was performed by a single investigator – a neurologist – following established recommendations and using a four-electrode system [139]. Electrodes were placed on the chest wall and anterior torso according to a modified limb lead configuration adapted for long-term monitoring. Three electrodes were used to record active electrocardiogram (ECG) signals, while the fourth served as a reference (“ground”) electrode to reduce noise and motion artifacts. This electrode configuration enables reliable ECG recording during daily activities, ensures high signal quality, and is widely used in long-term heart rate and HRV assessment [139]. In this study, HRV was calculated using 24-hour heart rate monitoring data obtained from ALS patients wearing Holter monitors. Three main HRV parameters were analyzed: the standard deviation of normal-to-normal intervals (SDNN), the root mean square of successive differences between adjacent normal intervals (RMSSD), and the percentage of adjacent NN intervals differing by more than 50 milliseconds (pNN50) [140]. These parameters allow non-invasive assessment of ANS function, particularly parasympathetic activity mediated by the VN, and enable evaluation of the degree of autonomic dysfunction. SDNN is considered the gold standard in medical cardiac risk stratification, while RMSSD reflects short-term heart rate variability and is the primary time-domain parameter used to assess parasympathetic (vagal) activity. The pNN50 parameter is also closely associated with parasympathetic nervous system activity.

### **3.5. Composite Autonomic Symptom Score-31**

The COMPASS-31 was developed as a shortened and clinically applicable version of the 169-item Autonomic Symptom Profile (ASP), while preserving its psychometric properties for the assessment of ANS dysfunction [25].

The scale includes six domains of autonomic function: orthostatic intolerance (0–40 points), vasomotor (0–5 points), secretomotor (0–15 points), gastrointestinal (0–25 points), bladder (0–10 points), and pupillomotor function (0–5 points), allowing quantitative evaluation of autonomic symptoms. COMPASS-31 scores are calculated and interpreted as a continuous variable, without predefined normal or pathological cut-off values. The total score (range 0–100) reflects the severity of ANS dysfunction, with higher scores indicating greater impairment. Therefore, the scale is suitable for

group comparisons and for analyzing associations with other clinical parameters.

The initial linguistic validation of the COMPASS-31 consisted of three phases. In the first phase, two independent translations from the original English version of the COMPASS-31 into Lithuanian were performed: one translation was carried out by a professional translator, and the other by a physician with excellent English language proficiency. In the second phase, two back-translations from Lithuanian into English were performed by two translators whose native language is English and who also have good proficiency in Lithuanian. A committee of six expert physicians compared the back-translations with the original version. The best translation version was then selected. Subsequently, it was further refined by the experts together with the translators and a professional Lithuanian language editor. The preliminary Lithuanian version of the COMPASS-31 was prepared, and an additional question, “Do you understand the question?”, was added to each COMPASS-31 item. In the third phase, a pilot study was conducted in a group of 20 healthy control subjects. All questions were found to be understandable, no corrections were required, and a panel of experts approved the final version of the COMPASS-31.

### **3.6. Amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale**

Patients’ functional status was assessed using the revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS-R) questionnaire. This is an internationally validated 12-item scale designed to evaluate key activities of daily living, with a total score ranging from 0 to 48 [141]. In this study, the original ALSFRS-R scale was used (Appendix No. 3). Data collection and score calculation were performed using an online medical calculator platform (MDCalc) [142].

As with the COMPASS-31 scale, the initial linguistic validation process of the ALSFRS-R scale was carried out in three phases. During the first phase, two independent translations of the original English version of the ALSFRS-R scale into Lithuanian were performed: one translation was prepared by a professional translator, and the other by a physician with excellent English language proficiency. In the second phase, two translators whose native language is English and who are also proficient in Lithuanian performed a back-translation from Lithuanian into English. The resulting back-translations were compared with the original scale by a committee of six expert physicians. After evaluating all versions, the most appropriate translation was selected. Subsequently, it was further revised by the expert team in collaboration with the translators and a professional Lithuanian language

editor. After preparing the preliminary Lithuanian version of the ALSFRS-R scale, an additional question, “Do you understand the question?”, was added to each item. In the third phase, a pilot study was conducted involving 20 healthy control subjects. The study showed that all questions were clear and understandable; therefore, no further corrections were required, and the final Lithuanian version of the ALSFRS-R scale was approved by the expert panel.

### 3.7. Statistical analysis

Statistical data analysis was performed using IBM SPSS Statistics version 29.0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows, USA). A significance level of  $p < 0.05$  was applied for hypothesis testing. The normality of data distribution was assessed using the Shapiro–Wilk test. Quantitative variables with a normal distribution were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD), whereas non-normally distributed data were presented as median with minimum and maximum values. For comparisons between two independent groups with non-normally distributed data, the Mann–Whitney U test was applied. For normally distributed data involving comparisons of more than two independent groups, one-way analysis of variance (one-way ANOVA) was used. When statistically significant differences were identified, *post hoc* analysis was performed using the Fisher’s least significant difference (LSD) test. Binary logistic regression analysis was used to evaluate associations between variables and to identify independent factors related to the studied outcome. The dependent variable was defined as group classification based on the presence of the analyzed feature, while independent variables included demographic, clinical, or ultrasound parameters that demonstrated statistically significant differences or associations in univariate analysis ( $p < 0.05$ ). Results of both univariate and multivariate logistic regression analyses were presented as odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI). Receiver operating characteristic (ROC) analysis was performed to evaluate the diagnostic performance of the studied parameters, including calculation of the area under the curve (AUC), sensitivity, and specificity. Differences were considered statistically significant when the p-value was less than 0.05.

#### 3.7.1. Sample size calculation

The minimum required sample size was calculated based on the formula for comparison of two independent means using a two-sided Student’s t-test, with a significance level of 95% ( $\alpha = 0.05$ ) and statistical power of 80–90% ( $1 - \beta$ ).

The following formula was applied:

$$n = \frac{2 \cdot (z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2 \cdot s^2 p}{\Delta^2}$$

where:  $n$  – minimum sample size per group;  
 $z_{\alpha/2}$  – critical value of the standard normal distribution corresponding to the selected significance level  $\alpha$ ;  
 $z_{\beta}$  – critical value corresponding to the desired statistical power  $(1 - \beta)$ ;  
 $s^2$  – pooled variance of the two groups;  
 $\Delta$  – expected difference between group means.

The effect size was estimated based on previously published data from our group on VNCSA and PNCSA in ALS and PD patients and healthy controls [143, 144].

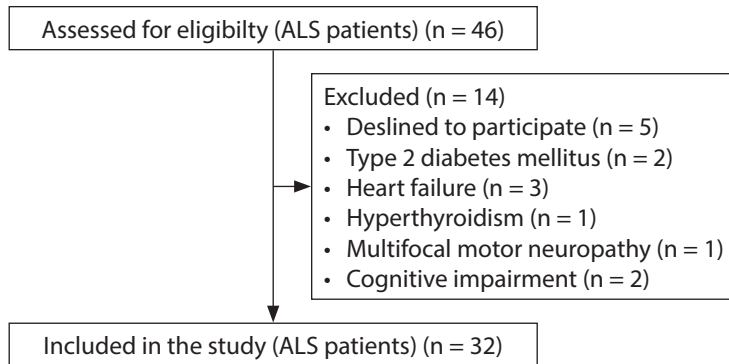
- ALS group (PNCSA): the mean difference between controls and ALS patients was approximately 0.30 mm<sup>2</sup>, with a very small standard deviation (0.016–0.02 mm<sup>2</sup>), resulting in a formally required sample size of fewer than 10 subjects per group. However, considering clinical heterogeneity and the inclusion of additional assessments (electroneuromyography, functional evaluation, COMPASS-31), a minimum of 20 subjects per group was recommended.
- ALS group (VNCSA): the mean difference between controls and ALS patients was 0.18–0.21 mm<sup>2</sup> (SD  $\approx$  0.20 mm<sup>2</sup>), corresponding to a large effect size (Cohen's  $d = 0.86$ – $1.07$ ). It was calculated that 22–26 subjects per group would be required to achieve 80% power, and 29–30 subjects per group for 90% power. Considering potential data loss, the recommended sample size was increased to approximately 30–35 subjects per group.
- PD group (VNCSA): the difference between controls and PD patients was smaller (0.13–0.17 mm<sup>2</sup>, SD  $\approx$  0.20 mm<sup>2</sup>; Cohen's  $d = 0.6$ – $0.9$ ). It was estimated that 43–52 subjects per group would be required for 80% power and 57–60 for 90% power. Therefore, at least 60 subjects per group were planned for the PD analysis.

Based on these calculations, the planned sample size included approximately 30–35 patients with ALS and an equal number of control subjects, and approximately 60 patients with PD and 60 controls. These sample sizes ensured sufficient statistical power ( $\geq 80\%$ ) for the analysis of VN and PN ultrasound parameters.

### 3.8. Flow diagram

#### 3.8.1. Flow of patient inclusion in the amyotrophic lateral sclerosis group

Fig. 3.8.1.1 presents the flow diagram of patient selection and inclusion in the ALS group. A total of 46 patients were assessed for eligibility. Fourteen patients were excluded: 5 declined to participate, and 9 were excluded due to comorbid conditions, including type 2 diabetes mellitus, heart failure, hyperthyroidism, multifocal motor neuropathy, or cognitive impairment. The final study group consisted of 32 patients with ALS who were included in the study and analyzed.

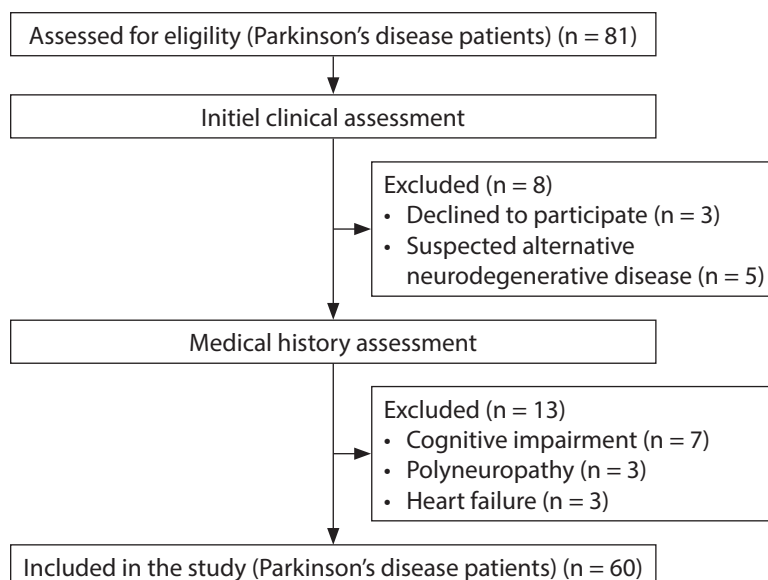


*Fig. 3.8.1.1. Flow diagram of patient inclusion in the ALS group*

ALS – amyotrophic lateral sclerosis.

#### 3.8.2. Flow of patient inclusion in patients with Parkinson’s disease

Of the 81 patients with Parkinson’s disease assessed for eligibility, 21 were excluded from the study. Eight patients were excluded at the initial stage (3 declined to participate and 5 due to suspected alternative neurodegenerative diseases), while an additional 13 patients were excluded due to comorbid conditions that could affect ANS function, including cognitive impairment, polyneuropathy, and heart failure. The final study sample consisted of 60 patients with Parkinson’s disease. The data are presented in Fig. 3.8.2.1.



**Fig. 3.8.2.1.** Flow diagram of patient inclusion in patients with Parkinson's disease

PD – Parkinson's disease; ND – neurodegenerative disease.

## 4. RESULTS

### 4.1. Changes in ultrasound parameters of the phrenic nerve in patients with amyotrophic lateral sclerosis

#### 4.1.1. Anthropometric, demographic, and clinical characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis and the control group

A total of 32 patients with ALS and 64 control subjects were included in this prospective study. The mean age of the control group was 60.84 (SD = 10.67) years, while in the ALS group it was 59.34 (SD = 9.93) years. No statistically significant differences were observed between patients with ALS and control subjects in terms of age, sex, height, or body weight ( $p = 0.508$ ,  $p = 0.193$ ,  $p = 0.381$ , and  $p = 0.558$ , respectively). Patients with ALS had significantly lower hip circumference ( $p = 0.003$ ) and body mass index (BMI) ( $p = 0.001$ ) compared to controls, whereas no significant difference in waist circumference was observed between the groups ( $p = 0.068$ ) (Table 4.1.1.1).

**Table 4.1.1.1.** Comparison of demographic characteristics and anthropometric data between patients with amyotrophic lateral sclerosis and the control group

Demographic and anthropometric variables	Control group (n = 64)	ALS group (n = 32)	p-value
Age, years (mean (SD))	60.84 (10.67)	59.34 (9.93)	0.508
Sex (M:F)	1:1.37	1.28:1	0.193 <sup>a</sup>
Weight, kg (mean (SD))	80.81 (14.48)	72.22 (15.59)	0.558
Height, cm (mean (SD))	170.56 (9.92)	170.16 (8.98)	0.381
Hip circumference, cm (mean (SD))	103.19 (8.07)	98.97 (13.62)	0.003
Waist circumference, cm (mean (SD))	92.92 (10.48)	84.84 (13.87)	0.068
BMI, kg/m <sup>2</sup> (median (min–max))	27.72 (18.67–36.63)	24.89 (18.99–36.57)	0.001 <sup>b</sup>

p-values without superscripts were calculated using Student's t-test; <sup>a</sup> – chi-square test; <sup>b</sup> – Mann–Whitney U test. Values are presented as mean (standard deviation) unless otherwise indicated. BMI – body mass index; ALS – amyotrophic lateral sclerosis.

#### 4.1.2. Changes in ultrasound parameters of the phrenic nerve in patients with amyotrophic lateral sclerosis and the control group

Patients with ALS demonstrated a significantly reduced PNCSA bilaterally compared to the control group. The mean right PNCSA in the ALS group was 0.81 mm<sup>2</sup> (SD 0.21), compared to 1.12 mm<sup>2</sup> (SD 0.16) in the control group ( $p < 0.001$ ). The mean left PNCSA was 0.82 mm<sup>2</sup> (SD 0.18) in the ALS group and 1.08 mm<sup>2</sup> (SD 0.13) in the control group ( $p < 0.001$ ) (Table 4.1.2.1).

**Table 4.1.2.1.** Comparison of phrenic nerve cross-sectional area between patients with amyotrophic lateral sclerosis and the control group

Phrenic nerve parameter	Control group (n = 64)	ALS group (n = 32)	p-value
Right PNCSA, mm <sup>2</sup> (mean (SD))	1.12 (0.16)	0.81 (0.21)	< 0.001
Left PNCSA, mm <sup>2</sup> (mean (SD))	1.08 (0.13)	0.82 (0.18)	< 0.001

Values are presented as mean (SD – standard deviation). ALS – amyotrophic lateral sclerosis; PNCSA – phrenic nerve cross-sectional area. Groups were compared using the independent samples Student's t-test.

Patients with ALS demonstrated a statistically significant negative correlation between age and left PNCSA ( $r = -0.428$ ;  $p = 0.015$ ). No statistically significant associations were found between PNCSA and other demographic, anthropometric, or clinical variables, including ALSFRS-R scores ( $p > 0.05$ ) (Table 4.1.2.2).

**Table 4.1.2.2.** Associations between phrenic nerve cross-sectional area and anthropometric, demographic, and clinical characteristics in patients with amyotrophic lateral sclerosis

Anthropometric, demographic, and clinical characteristics	Value	Right PNCSA (n = 32)		Left PNCSA (n = 32)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
Height, cm (mean (SD))	170.16 (8.98)	-0.021	0.908	-0.044	0.809
Weight, kg (mean (SD))	72.22 (15.59)	0.105	0.566	0.133	0.469
BMI, kg/m <sup>2</sup> (median (min-max))	27.72 (18.67-36.63)	0.178	0.329 <sup>a</sup>	0.191	0.294 <sup>a</sup>
Waist circumference, cm (mean (SD))	84.84 (13.87)	0.107	0.560	0.101	0.582
Hip circumference, cm (mean (SD))	98.97 (13.62)	0.190	0.297	0.148	0.149
Age, years (mean (SD))	59.34 (9.93)	-0.025	0.890	-0.428	0.015
Age at disease onset, months (median (min-max))	57.97 (30-72)	0.276	0.126 <sup>a</sup>	0.314	0.080 <sup>a</sup>
Disease duration, months (median (min-max))	15.41 (5-44)	0.083	0.653	0.087	0.635
ALSFRS-R, score (mean (SD))	38.41 (5.86)	-0.025	0.890	0.101	0.583

p-values without superscripts – Pearson correlation; <sup>a</sup> – Spearman correlation. Values are presented as mean (SD – standard deviation) unless otherwise indicated. PNCSA – phrenic nerve cross-sectional area; ALS – amyotrophic lateral sclerosis; BMI – body mass index; ALSFRS-R – Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale – Revised.

## 4.2. Changes in ultrasound parameters of the vagus nerve in patients with amyotrophic lateral sclerosis and comparison with the control group

### 4.2.1. Changes in ultrasound parameters of the vagus nerve in patients with amyotrophic lateral sclerosis and the control group

When evaluating VNCSA, patients with ALS demonstrated statistically significant reductions in cross-sectional area on both sides. The mean right VNCSA in the ALS group was 1.86 mm<sup>2</sup> (SD = 0.21), compared to 2.07 mm<sup>2</sup>

(SD = 0.18) in the control group ( $p < 0.001$ ). On the left side, the mean VNCSA in the ALS group was 1.69 mm<sup>2</sup> (SD = 0.21), compared to 1.87 mm<sup>2</sup> (SD = 0.21) in the control group ( $p < 0.001$ ) (Table 4.2.1.1).

**Table 4.2.1.1.** Comparison of vagus nerve cross-sectional area between patients with amyotrophic lateral sclerosis and the control group

Vagus nerve parameter	Control group (n = 64)	ALS group (n = 32)	p-value
Right VNCSA, mm <sup>2</sup> (mean (SD))	2.07 (0.18)	1.86 (0.21)	< 0.001
Left VNCSA, mm <sup>2</sup> (mean (SD))	1.87 (0.21)	1.69 (0.21)	< 0.001

Values are presented as mean (SD – standard deviation). ALS – amyotrophic lateral sclerosis; VNCSA – vagus nerve cross-sectional area. Groups were compared using the independent samples Student’s t-test.

#### 4.2.2. Associations between vagus nerve changes and demographic and clinical findings in patients with amyotrophic lateral sclerosis

In patients with ALS, a significant positive correlation was observed between hip circumference and right VNCSA ( $r = 0.517$ ;  $p = 0.002$ ). Additionally, higher body mass index (BMI) was associated with increased left VNCSA ( $r = 0.349$ ;  $p = 0.049$ ). Increasing age and longer disease duration were both significantly associated with lower VNCSA ( $r = -0.374$ ;  $p = 0.035$  and  $r = -0.406$ ;  $p = 0.021$ , respectively). No statistically significant associations were found between other demographic or clinical variables and VN parameters (Table 4.2.2.1).

**Table 4.2.2.1.** Associations between vagus nerve cross-sectional area and demographic and clinical characteristics in patients with amyotrophic lateral sclerosis

Anthropometric, demographic, and clinical characteristics	Value	Right VNCSA (n = 32)		Left VNCSA (n = 32)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
Height, cm (mean (SD))	170.16 (8.98)	-0.092	0.617	0.086	0.642
Weight, kg (mean (SD))	72.22 (15.59)	0.328	0.066	0.356	0.045
BMI, kg/m <sup>2</sup> (median (min–max))	27.72 (18.67–36.63)	0.294	0.103 <sup>a</sup>	0.349	0.049 <sup>a</sup>
Waist circumference, cm (mean (SD))	84.84 (13.87)	0.286	0.113	0.187	0.305
Hip circumference, cm (mean (SD))	98.97 (13.62)	0.517	0.002	0.307	0.088

**Table 4.2.2.1. Continued**

Anthropometric, demographic, and clinical characteristics	Value	Right VNCSA (n = 32)		Left VNCSA (n = 32)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
Age, years (mean (SD))	59.34 (9.93)	0.107	0.559	-0.374	0.035
Age at disease onset, years (median (min-max))	57.97 (30-72)	0.133	0.486 <sup>a</sup>	0.443	0.385 <sup>a</sup>
Disease duration, months (median (min-max))	57.97 (30-72)	0.116	0.526 <sup>a</sup>	-0.406	0.021 <sup>a</sup>
ALSFRS-R, score (mean (SD))	38.41 (5.86)	-0.227	0.125	-0.057	0.757

p-values without superscripts – Pearson correlation; <sup>a</sup> – Spearman correlation. Values are presented as mean (SD – standard deviation) unless otherwise indicated. ALS – amyotrophic lateral sclerosis; VNCSA – vagus nerve cross-sectional area; BMI – body mass index; ALSFRS-R – Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale – Revised.

### 4.3. Changes in ultrasound parameters of the vagus nerve in patients with Parkinson’s disease

#### 4.3.1. Anthropometric, demographic, and clinical characteristics of patients with Parkinson’s disease and the control group

Patients with PD had a significantly higher hip circumference compared to the control group (p = 0.04). No significant differences were observed between the groups in terms of age, sex, or body measurements, including weight, height, waist circumference, and BMI (Table 4.3.1.1).

**Table 4.3.1.1. Comparison of demographic and anthropometric characteristics between patients with Parkinson’s disease and the control group**

Anthropometric and demographic variables	Control group (n = 60)	PD group (n = 60)	p-value
Age, years (mean (SD))	63.62 (10.96)	65.23 (9.22)	0.123
Sex (M:F)	1.07:1	1:1.31	0.361 <sup>a</sup>
Height, cm (mean (SD))	170.43 (9.55)	170.88 (9.15)	0.905
Weight, kg (mean (SD))	80.47 (13.21)	79.07 (14.34)	0.679
Hip circumference, cm (mean (SD))	92.55 (9.72)	95.00 (12.34)	0.04
Waist circumference, cm (mean (SD))	103.03 (7.81)	102.30 (8.85)	0.504
BMI, kg/m <sup>2</sup> (median (min-max))	26.93 (19.48-39.50)	26.93 (18.67-36.57)	0.258 <sup>b</sup>

p-values without superscripts – Student’s t-test; <sup>a</sup> – chi-square test; <sup>b</sup> – Mann-Whitney U test. Values are presented as mean (SD – standard deviation) unless otherwise indicated. PD – Parkinson’s disease; BMI – body mass index.

### 4.3.2. Changes in ultrasound parameters of the vagus nerve in patients with Parkinson's disease and the control group

Patients with PD demonstrated significantly lower VNCSA on both sides compared to the control group. The mean right VNCSA in the PD group was 1.90 mm<sup>2</sup> (SD 0.19), compared to 2.07 mm<sup>2</sup> (SD 0.18) in the control group ( $p < 0.001$ ). Similarly, the left VNCSA was significantly lower in the PD group (1.74 mm<sup>2</sup> (SD 0.21)) compared to the control group (1.87 mm<sup>2</sup> (SD 0.22)) ( $p = 0.02$ ) (Table 4.3.2.1).

**Table 4.3.2.1.** Comparison of vagus nerve cross-sectional area between patients with Parkinson's disease and the control group

Vagus nerve parameter	Control group (n = 60)	PD group (n = 60)	p-value
Right VNCSA, mm <sup>2</sup> (mean (SD))	2.07 (0.18)	1.90 (0.19)	< 0.001
Left VNCSA, mm <sup>2</sup> (mean (SD))	1.87 (0.22)	1.74 (0.21)	0.02

Values are presented as mean (SD – standard deviation). PD – Parkinson's disease; VNCSA – vagus nerve cross-sectional area. Groups were compared using the independent samples Student's t-test.

Patients with PD demonstrated a significant positive association between body weight and both right and left VNCSA ( $p < 0.001$ ). Increasing age was associated with a decrease in left VNCSA. Additionally, longer disease duration was associated with a reduction in VNCSA bilaterally ( $p < 0.001$ ), with a stronger correlation observed on the left side ( $r = -0.413$ ). Furthermore, an increase in the width of the third ventricle was associated with decreased VNCSA on both sides (Table 4.3.2.2).

**Table 4.3.2.2.** Associations between vagus nerve cross-sectional area and anthropometric, demographic, and clinical characteristics in patients with Parkinson's disease

Anthropometric, demographic, and clinical characteristics	Value	Right VNCSA (n = 60)		Left VNCSA (n = 60)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
Height, cm (mean (SD))	170.88 (9.15)	0.184	0.159	0.253	0.051
Weight, kg (mean (SD))	79.07 (14.34)	0.296	0.021	0.289	0.025
BMI, kg/m <sup>2</sup> (mean (SD))	26.93 (4.06)	0.220	0.092 <sup>a</sup>	0.152	0.245 <sup>a</sup>
Waist circumference, cm (mean (SD))	95.00 (12.34)	0.190	0.145 <sup>a</sup>	0.188	0.151 <sup>a</sup>
Hip circumference, cm (mean (SD))	102.30 (8.85)	0.032	0.807	-0.123	0.348

**Table 4.3.2.2. Continued**

Anthropometric, demographic, and clinical characteristics	Value	Right VNCSA (n = 60)		Left VNCSA (n = 60)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
Age, years (mean (SD))	65.23 (7.98)	0.107	0.559	-0.374	0.035
Disease duration, months (median (min-max))	7 (1-20)	-0.280	0.030	-0.413	0.001
Olfactory test, score (median (min-max))	6.5 (1-12)	0.157	0.232	0.252	0.052
Substantia nigra area (right), cm <sup>2</sup> (mean (SD))	0.29 (0.08)	-0.169	0.197	-0.110	0.402
Substantia nigra area (left), cm <sup>2</sup> (mean (SD))	0.32 (0.08)	-0.067	0.609 <sup>a</sup>	-0.010	0.942 <sup>a</sup>
Third ventricle width, cm (mean (SD))	0.81 (0.15)	-0.287	0.026 <sup>a</sup>	-0.405	0.001 <sup>a</sup>

p-values without superscripts – Pearson correlation; <sup>a</sup> – Spearman correlation. Values are presented as mean (SD – standard deviation) unless otherwise indicated. VNCSA – vagus nerve cross-sectional area; PD – Parkinson’s disease; BMI – body mass index.

#### **4.4. Characteristics of autonomic nervous system dysfunction in patients with amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson’s disease**

##### **4.4.1. Characteristics of autonomic nervous system dysfunction in patients with amyotrophic lateral sclerosis**

In patients with ALS, higher total COMPASS-31 scores were associated with reduced VNCSA on both sides. Analysis of COMPASS-31 subdomains showed that higher gastrointestinal dysfunction scores were associated with lower left VNCSA. Additionally, higher bladder dysfunction scores were associated with reduced left VNCSA (Table 4.4.1.1).

**Table 4.4.1.1.** Associations between vagus nerve cross-sectional area and Composite Autonomic Symptom Score-31 in patients with amyotrophic lateral sclerosis

COMPASS-31 characteristics	Value	Right VNCSA (n = 32)		Left VNCSA (n = 32)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
Total COMPASS-31, score (mean (SD))	8.89 (12.69)	-0.321	0.01	-0.272	0.02
Orthostatic intolerance, score (median (min-max))	0 (0-36)	0.042	0.819	-0.096	0.600
Vasomotor, score (median (min-max))	0 (0-5)	-0.059	0.747	-0.013	0.945
Secretomotor, score (median (min-max))	5 (0-15)	-0.187	0.305	-0.123	0.502
Gastrointestinal, score (median (min-max))	2.5 (0-14)	-0.285	0.113	-0.358	0.044
Bladder, score (median (min-max))	0 (0-3)	-0.157	0.391	-0.364	0.041
Pupillomotor, score (median (min-max))	1 (0-3)	0.105	0.566	0.022	0.907

Values are presented as mean (SD – standard deviation) or median (min-max). COMPASS-31 – Composite Autonomic Symptom Score-31; VNCSA – vagus nerve cross-sectional area. Correlations were assessed using Spearman’s test.

No significant associations were found between VNCSA (right or left) and HRV parameters in patients with ALS (Table 4.4.1.2).

**Table 4.4.1.2.** Associations between vagus nerve cross-sectional area and heart rate variability parameters in patients with amyotrophic lateral sclerosis

HRV parameters	Mean (SD)	Right VNCSA (n = 32)		Left VNCSA (n = 32)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
SDNN, ms	70.91 (20.39)	0.975	-0.057	0.681	-0.067
RMSSD, ms	28.94 (13.38)	0.213	-0.139	0.358	-0.161
pNN50, %	2.61 (1.83)	0.741	-0.109	0.219	-0.193

Values are presented as mean (SD – standard deviation). VNCSA – vagus nerve cross-sectional area; SDNN – standard deviation of normal-to-normal intervals; RMSSD – root mean square of successive differences; pNN50 – percentage of adjacent NN intervals differing by more than 50 ms. Correlations were assessed using Pearson’s test.

#### 4.4.2. Characteristics of autonomic nervous system dysfunction in patients with Parkinson's disease

In patients with PD, higher total COMPASS-31 scores were associated with lower right VNCSA. Additionally, higher orthostatic intolerance scores were associated with reduced VNCSA on both sides. Increased vasomotor dysfunction scores were associated with decreased left VNCSA. Analysis of gastrointestinal symptoms revealed that higher gastrointestinal dysfunction scores were associated with reduced right VNCSA (Table 4.4.2.1).

**Table 4.4.2.1.** Associations between vagus nerve cross-sectional area and Composite Autonomic Symptom Score-31 in patients with Parkinson's disease

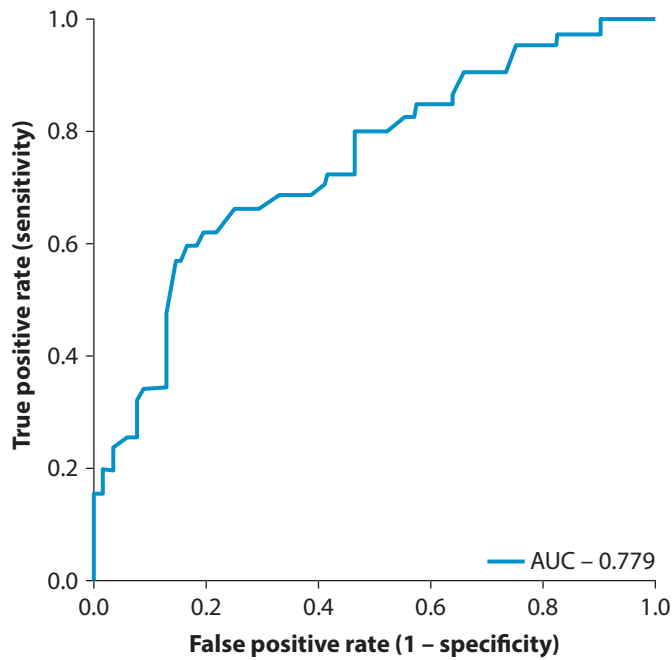
COMPASS-31 characteristics	Value	Right VNCSA (n = 60)		Left VNCSA (n = 60)	
		r-value	p-value	r-value	p-value
Total COMPASS-31, score (mean (SD))	23.77 (13.46)	-0.257	0.047	0.083	0.528
Orthostatic intolerance, score (median (min-max))	12 (0-40)	-0.242	0.022	-0.341	0.016
Vasomotor, score (median (min-max))	1 (0-5)	-0.128	0.069	-0.294	0.009
Secretomotor, score (median (min-max))	8 (0-15)	-0.092	0.409	-0.075	0.365
Gastrointestinal, score (median (min-max))	12 (0-25)	-0.365	0.034	-0.205	0.056
Bladder, score (median (min-max))	3 (0-10)	-0.141	0.329	-0.256	0.237
Pupillomotor, score (median (min-max))	0 (0-4)	0.331	0.635	0.018	0.741

Values are presented as mean (SD – standard deviation) or median (min-max). COMPASS-31 – Composite Autonomic Symptom Score-31; VNCSA – vagus nerve cross-sectional area; PD – Parkinson's disease. Correlations were assessed using Spearman's test.

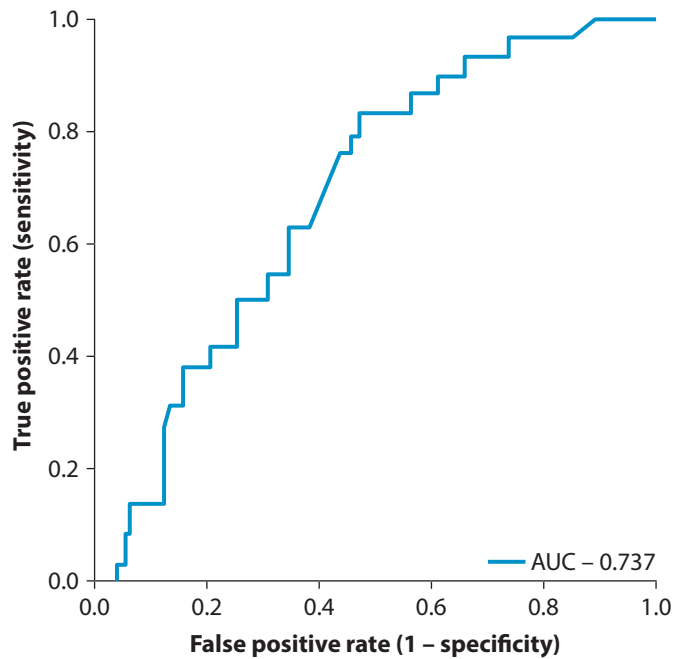
## 4.5. Diagnostic value of vagus nerve ultrasound parameters in patients with Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis

### 4.5.1. Diagnostic value of vagus nerve ultrasound parameters in patients with amyotrophic lateral sclerosis

The results of the ROC analysis are presented in Figs. 4.5.1.1 and 4.5.1.2. VNCSA demonstrated good discriminative ability in identifying patients with ALS. The area under the ROC curve (AUC) for the right VNCSA was 0.779, with an optimal cut-off value of 1.89 mm<sup>2</sup>, yielding a sensitivity of 62.5% and a specificity of 85.9%. The discriminative ability of the left VNCSA was slightly lower (AUC = 0.737), with the same cut-off value of 1.89 mm<sup>2</sup>, resulting in a sensitivity of 84.4% and a specificity of 54.7%.



*Fig. 4.5.1.1. ROC curve of the right vagus nerve cross-sectional area in patients with amyotrophic lateral sclerosis*



**Fig. 4.5.1.2.** ROC curve of the left vagus nerve cross-sectional area in patients with amyotrophic lateral sclerosis

Evaluation of the associations between VNCSA and ALS using binary logistic regression showed that a decrease in VNCSA on both sides was significantly associated with increased odds of ALS. A decrease of 0.01 mm<sup>2</sup> in right VNCSA was associated with a fivefold increase in the odds of ALS (95% CI: 0.000–0.037;  $p < 0.001$ ), while a decrease in left VNCSA was associated with a 0.59-fold increase in the odds of ALS (95% CI: 0.002–0.163;  $p < 0.001$ ). Subjects with an isoechoic right vagus nerve had 6.319-fold higher odds of ALS, and those with an isoechoic left vagus nerve had 3.257-fold higher odds, compared to subjects with a hypoechoic nerve. Heterogeneity of the vagus nerve on both the right and left sides was identified as a statistically significant independent predictor of ALS ( $p < 0.001$ ). Sex and age were not significantly associated with ALS in the regression model ( $p = 0.195$  and  $p = 0.504$ , respectively) (Table 4.5.1.1).

**Table 4.5.1.1.** Associations of sex, age, vagus nerve cross-sectional area, echogenicity, and homogeneity with amyotrophic lateral sclerosis (logistic regression model)

Variable	$\beta$	OR (95% CI)	p-value
Sex (M/F)	-0.568	0.566 (0.241–1.337)	0.195
Age, years	-0.014	0.986 (0.946–1.027)	0.504
Right VNCSA, mm <sup>2</sup>	-6.50	0.002 (0.000–0.037)	< 0.001
Right VN homogeneity (homogeneous vs heterogeneous)	3.945	51.667 (10.647–250.719)	< 0.001
Right VN echogenicity (hypoechoic vs isoechoic)	1.844	6.319 (2.218–18.007)	< 0.001
Left VNCSA, mm <sup>2</sup>	-4.103	0.017 (0.002–0.163)	< 0.001
Left VN homogeneity (homogeneous vs heterogeneous)	4.032	56.364 (11.509–276.036)	< 0.001
Left VN echogenicity (hypoechoic vs isoechoic)	1.181	3.257 (1.132–9.370)	0.029

$\beta$  – regression coefficient; OR – odds ratio; CI – confidence interval; VN – vagus nerve; VNCSA – vagus nerve cross-sectional area.

The associations between PNCSA and ALS are presented in Table 4.5.1.2. A decrease of 0.01 mm<sup>2</sup> in PNCSA on both sides was significantly associated with increased odds of ALS ( $p < 0.001$ ). An isoechoic phrenic nerve, compared to a hypoechoic nerve, was associated with higher odds of ALS (22.028-fold increase on the right side and 3.596-fold increase on the left side). Additionally, heterogeneity of the phrenic nerve on both sides was significantly associated with increased odds of ALS ( $p < 0.001$ ).

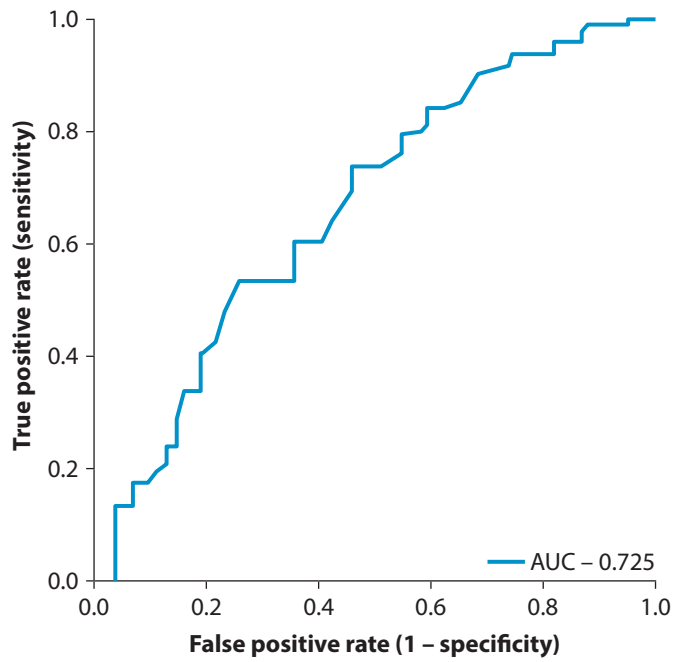
**Table 4.5.1.2.** Associations of sex, age, phrenic nerve cross-sectional area, echogenicity, and homogeneity with amyotrophic lateral sclerosis (logistic regression model)

Variable	$\beta$	OR (95% CI)	p-value
Sex (M/F)	-0.568	0.566 (0.241–1.337)	0.195
Age, years	-0.014	0.986 (0.946–1.027)	0.504
Right PN homogeneity (homogeneous vs heterogeneous)	2.761	15.815 (4.087–61.203)	< 0.001
Right PN echogenicity (hypoechoic vs isoechoic)	3.092	22.028 (5.434–89.298)	< 0.001
Left PN homogeneity (homogeneous vs heterogeneous)	1.478	4.385 (1.775–10.831)	< 0.001
Left PN echogenicity (hypoechoic vs isoechoic)	1.280	3.596 (1.297–9.972)	0.014

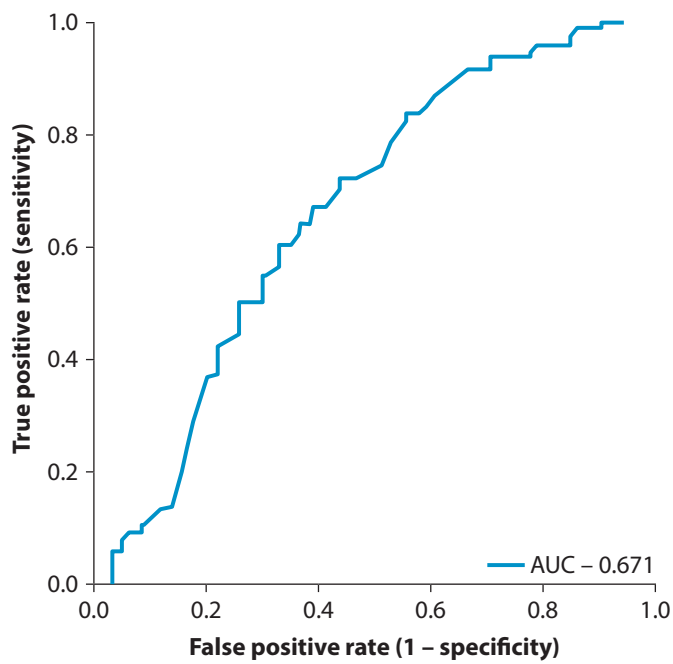
$\beta$  – regression coefficient; OR – odds ratio; CI – confidence interval; PN – phrenic nerve; PNCSA – phrenic nerve cross-sectional area.

#### **4.5.2. Diagnostic value of vagus nerve ultrasound parameters in patients with Parkinson’s disease**

The results of the ROC analysis are presented in Figs. 4.5.2.1 and 4.5.2.2. VNCSA demonstrated moderate diagnostic accuracy in distinguishing patients with PD from the control group. The area under the ROC curve (AUC) for the right VNCSA was 0.725 (95% CI 0.636–0.815;  $p < 0.001$ ). The optimal cut-off value was 1.93 mm<sup>2</sup>, with a sensitivity of 55% and a specificity of 81.7%. For the left VNCSA, the discriminative ability was lower (AUC = 0.671), with an optimal cut-off value of 1.83 mm<sup>2</sup>, corresponding to a sensitivity of 66.7% and a specificity of 63.3%.



*Fig. 4.5.2.1. ROC curve of the right vagus nerve cross-sectional area in patients with Parkinson's disease*



*Fig. 4.5.2.2. ROC curve of the left vagus nerve cross-sectional area in patients with Parkinson's disease*

Evaluation of the associations between VNCSA and PD using binary logistic regression showed that a decrease in VNCSA on both sides was significantly associated with increased odds of PD. A decrease of 0.01 mm<sup>2</sup> in right VNCSA was associated with a 1.43-fold increase in the odds of PD (95% CI: 0.001–0.076;  $p < 0.001$ ), while a decrease in left VNCSA was associated with a 0.18-fold increase in the odds of PD (95% CI 0.009–0.353;  $p = 0.002$ ).

Subjects with an isoechoic right vagus nerve had 10.450-fold higher odds of PD, and those with an isoechoic left vagus nerve had 9.351-fold higher odds, compared to subjects with a hypoechoic nerve.

Heterogeneity of the vagus nerve was also identified as a statistically significant independent predictor of PD. On the right side, it was associated with an 8.826-fold increase in the odds of PD (95% CI: 1.909–40.813;  $p = 0.005$ ), and on the left side with a 5.118-fold increase (95% CI: 1.057–24.789;  $p = 0.04$ ).

Sex and age were not significantly associated with PD in the regression model ( $p = 0.361$  and  $p = 0.053$ , respectively) (Table 4.5.2.1).

**Table 4.5.2.1.** Associations of sex, age, vagus nerve cross-sectional area, echogenicity, and homogeneity with Parkinson’s disease

Variable	$\beta$	OR (95% CI)	p-value
Sex (M/F)	-0.335	0.715 (0.349–1.468)	0.361
Age, years	-0.051	1.052 (1.011–1.094)	0.053
Right VNCSA, mm <sup>2</sup>	-4.940	0.007 (0.001–0.076)	< 0.001
Right VN homogeneity (homogeneous vs heterogeneous)	2.178	8.826 (1.909–40.813)	0.005
Right VN echogenicity (hypoechoic vs isoechoic)	2.347	10.450 (4.242–25.740)	< 0.001
Left VNCSA, mm <sup>2</sup>	-2.889	0.056 (0.009–0.353)	0.002
Left VN homogeneity (homogeneous vs heterogeneous)	1.633	5.118 (1.057–24.789)	0.04
Left VN echogenicity (hypoechoic vs isoechoic)	2.235	9.351 (3.778–23.143)	< 0.001

$\beta$  – regression coefficient; OR – odds ratio; CI – confidence interval; VN – vagus nerve; VNCSA – vagus nerve cross-sectional area.

## CONCLUSION

1. Significant ultrasound changes of the phrenic nerve were identified in patients with amyotrophic lateral sclerosis, characterized by a reduction in the phrenic nerve cross-sectional area and increased echogenicity and heterogeneity compared to the control group.
2. Patients with amyotrophic lateral sclerosis demonstrated a significant reduction in vagus nerve cross-sectional area, along with increased echogenicity and heterogeneity, compared to controls.
3. In patients with Parkinson's disease, ultrasound changes of the vagus nerve were observed, characterized by reduced vagus nerve cross-sectional area and increased isoechogenicity compared to the control group.
4. Patients with amyotrophic lateral sclerosis exhibited autonomic nervous system dysfunction, reflected by reduced heart rate variability parameters and alterations in gastrointestinal and bladder function. In Parkinson's disease, autonomic dysfunction manifested as orthostatic, vasomotor, gastrointestinal, and heart rate variability disturbances. These autonomic parameters were associated with vagus nerve ultrasound changes, including alterations in cross-sectional area and structural characteristics.
5. It was determined that a smaller cross-sectional area of the vagus nerve, increased echogenicity, and structural heterogeneity are statistically significant changes in patients with amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease. In amyotrophic lateral sclerosis, the diagnostic significance of the cross-sectional area and structural changes of the phrenic nerve was established: a smaller cross-sectional area on both sides as well as structural alterations (isoechogenicity and heterogeneity) are characteristic of this disease. The cross-sectional area of the vagus nerve demonstrates good discriminatory ability in differentiating the control group from patients with amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease.

## PRACTICAL RECOMMENDATIONS

1. It is recommended to use ultrasonographic examination of the phrenic and vagus nerves as an additional, non-invasive method in the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease, as well as for monitoring disease progression.
2. Regular ultrasonographic examination of the phrenic nerve is recommended in order to identify deterioration of respiratory function in a timely manner and to ensure the appropriate initiation of respiratory support (e.g., non-invasive ventilation).
3. Ultrasonographic examination of the vagus nerve should be applied in patients with Parkinson's disease in order to detect early signs of autonomic dysfunction. Examination of the vagus nerve is recommended to be combined with heart rate variability analysis and clinical symptom assessment in order to individualize treatment.
4. It is recommended to combine ultrasonographic examination of the phrenic and vagus nerves with heart rate variability assessments, respiratory function tests, and electroneuromyography in order to increase diagnostic accuracy.
5. When evaluating ultrasonographic parameters, it is essential to take into account the patient's age, body habitus, comorbidities, and medications, as these factors may influence the results.
6. It is recommended to standardize the methodology of ultrasonographic measurements of the phrenic and vagus nerves across different centers. Long-term patient follow-up may help assess the progression of nerve changes and their relationship with disease course and prognosis.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Over 1 in 3 people affected by neurological conditions, the leading cause of illness and disability worldwide [Internet]. World Health Organization; 2024 [cited 2025 Aug 9]. Available from: <https://www.who.int/news/item/14-03-2024-over-1-in-3-people-affected-by-neurological-conditions--the-leading-cause-of-illness-and-disability-worldwide>.
2. Brettschneider J, Del Tredici K, Lee VMY, Trojanowski JQ. Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(2):109–20. doi:10.1038/nrn3887.
3. Feigin VL, Nichols E, Alam T, Bannick MS, Beghi E, Blake N, et al. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019;18(5):459–80. doi:10.1016/S1474-4422(18)30499-X.
4. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA Research Framework: toward a biological definition of Alzheimer’s disease. *Alzheimers Dement*. 2018;14(4):535–62. doi:10.1016/j.jalz.2018.02.018.
5. Bradley WG, Good P, Rasool CG, Adelman LS. Morphometric and biochemical studies of peripheral nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 1983;14(3):267–77. doi:10.1002/ana.410140304.
6. Eisen A, Vucic S, Kiernan MC. Amyotrophic lateral sclerosis represents corticomotoneuronal system failure. *Muscle Nerve*. 2025;71(4):499–511. doi:10.1002/mus.28290.
7. Armada-Moreira A, Gomes JI, Pina CC, Savchak OK, Gonçalves-Ribeiro J, Rei N, et al. Going the extra (synaptic) mile: excitotoxicity as the road toward neurodegenerative diseases. *Front Cell Neurosci*. 2020;14:90. doi:10.3389/fncel.2020.00090.
8. Odierna GL, Vucic S, Dyer M, Dickson T, Woodhouse A, Blizzard C. How do we get from hyperexcitability to excitotoxicity in amyotrophic lateral sclerosis? *Brain*. 2024;147(5):1610–21. doi:10.1093/brain/awae039.
9. Hynd M. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer’s disease. *Neurochem Int*. 2004;45(5):583–95. doi:10.1016/j.neuint.2004.03.007.
10. Burke RE, O’Malley K. Axon degeneration in Parkinson’s disease. *Exp Neurol*. 2013;246:72–83. doi:10.1016/j.expneurol.2012.01.011.
11. Benussi A, Alberici A, Buratti E, Ghidoni R, Gardoni F, Di Luca M, et al. Toward a glutamate hypothesis of frontotemporal dementia. *Front Neurosci*. 2019;13:304. doi:10.3389/fnins.2019.00304.
12. Gentile F, Scarlino S, Falzone YM, Lunetta C, Tremolizzo L, Quattrini A, et al. The peripheral nervous system in amyotrophic lateral sclerosis: opportunities for translational research. *Front Neurosci*. 2019;13:601. doi:10.3389/fnins.2019.00601.
13. Trias E, Kovacs M, King PH, Si Y, Kwon Y, Varela V, et al. Schwann cells orchestrate peripheral nerve inflammation through the expression of CSF1, IL-34, and SCF in amyotrophic lateral sclerosis. *Glia*. 2020;68(6):1165–81. doi:10.1002/glia.23768.
14. Laucius O, Drūteika J, Balnytė R, Petrikonis K, Ališauskienė M, Vaitkus A. Sonographic phrenic nerve changes in amyotrophic lateral sclerosis. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(10):1745. doi:10.3390/medicina59101745.
15. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Shill HA, Driver-Dunckley E, Mehta SH, et al. Vagus nerve and stomach synucleinopathy in Parkinson’s disease, incidental Lewy body disease, and normal elderly subjects: evidence against the “body-first” hypothesis. *J Parkinsons Dis*. 2021;11(4):1833–43. doi:10.3233/JPD-212733.

16. Fedtke N, Witte OW, Prell T. Ultrasonography of the vagus nerve in Parkinson's disease. *Front Neurol.* 2018;9:525. doi:10.3389/fneur.2018.00525.
17. Yang R, Gao G, Yang H. The pathological mechanism between the intestine and brain in the early stage of Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:861035. doi:10.3389/fnagi.2022.861035.
18. Andersen KB, Krishnamurthy A, Just MK, Van Den Berge N, Skjærbæk C, Horsager J, et al. Sympathetic and parasympathetic subtypes of body-first Lewy body disease observed in postmortem tissue from prediagnostic individuals. *Nat Neurosci.* 2025;28(5):925–36. doi:10.1038/s41593-025-01910-9.
19. Xu H, Zheng X, Xing X, Bi Z, Wang D, Zhang C, et al. Advances in autonomic dysfunction research in Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci.* 2025;17:1468895. doi:10.3389/fnagi.2025.1468895.
20. Tulbă D, Tănăsioiu AC, Constantinescu AM, Blidaru N, Buzea A, Băicuș C, et al. Cardiovascular dysautonomia in patients with Parkinson's disease and hypertension: a cross-sectional pilot study. *J Clin Med.* 2025;14(7):2225. doi:10.3390/jcm14072225.
21. Scales for Outcomes in Parkinson's Disease - Autonomic Dysfunction (SCOPA-AUT) [Internet]. International Parkinson and Movement Disorder Society; [cited 2025 Aug 10]. Available from: <https://www.movementdisorders.org/MDS/MDS-Rating-Scales/Scales-for-Outcomes-in-Parkinsons-disease---Autonomic-Dysfunction.htm>.
22. Gu SC, Shi R, Gao C, Yuan XL, Wu Y, Liu ZG, et al. Autonomic function and motor subtypes in Parkinson's disease: a multicentre cross-sectional study. *Sci Rep.* 2023; 13(1):14548. doi:10.1038/s41598-023-41662-9.
23. Palma JA, Thijs RD. Non-pharmacological treatment of autonomic dysfunction in Parkinson's disease and other synucleinopathies. *J Parkinsons Dis.* 2024;14(S1):S81–92. doi:10.3233/JPD-230173.
24. Dubbioso R, Provitera V, Pacella D, Santoro L, Manganelli F, Nolano M. Autonomic dysfunction is associated with disease progression and survival in amyotrophic lateral sclerosis: a prospective longitudinal cohort study. *J Neurol.* 2023;270(10):4968–77. doi:10.1007/s00415-023-11832-w.
25. Sletten DM, Suarez GA, Low PA, Mandrekar J, Singer W. COMPASS 31: a refined and abbreviated composite autonomic symptom score. *Mayo Clin Proc.* 2012;87(12): 1196–201. doi:10.1016/j.mayocp.2012.10.013.
26. Kim Y, Seok JM, Park J, Kim KH, Min JH, Cho JW, et al. The composite autonomic symptom scale 31 is a useful screening tool for patients with parkinsonism. *PLoS One.* 2017;12(7):e0180744. doi:10.1371/journal.pone.0180744.
27. Heimrich KG, Lehmann T, Schlattmann P, Prell T. Heart rate variability analyses in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Brain Sci.* 2021;11(8):959. doi:10.3390/brainsci11080959.
28. Arnao V, Cinturino A, Mastrilli S, Buttà C, Maida C, Tuttolomondo A, et al. Impaired circadian heart rate variability in Parkinson's disease: a time-domain analysis in ambulatory setting. *BMC Neurol.* 2020;20(1):152. doi:10.1186/s12883-020-01722-3.
29. İşcan D, Karaaslan MB, Deveci OS, Akıllı Eker R, Koç F. The importance of heart rate variability in predicting cardiac autonomic dysfunction in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Int J Clin Pract.* 2021;75(10):e14536. doi:10.1111/ijcp.14536.
30. Maset-Roig R, Caplliure-Llopis J, de Bernardo N, Privado J, Alarcón-Jiménez J, Martín-Ruiz J, et al. Analysis of heart rate variability in individuals affected by amyotrophic lateral sclerosis. *Sensors (Basel).* 2024;24(7):2355. doi:10.3390/s24072355.

31. Abdelnaby R, Elsayed M, Mohamed KA, Dardeer KT, Sonbol YT, Elgenidy A, et al. Vagus nerve ultrasonography in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Auton Neurosci*. 2021;234:102835. doi:10.1016/j.autneu.2021.102835.
32. Dong S, Shen B, Jiang X, Zhu J, Zhang H, Zhao Y, et al. Comparison of vagus nerve cross-sectional area between brain-first and body-first Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis*. 2024;10(1):231. doi:10.1038/s41531-024-00844-6.
33. Suratos CT, Takamatsu N, Yamazaki H, Osaki Y, Fukumoto T, Nodera H, et al. Utility of phrenic nerve ultrasound in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Belg*. 2021; 121(1):225–30. doi:10.1007/s13760-020-01531-y.
34. Cousineau JP, Dawe AM, Alpaugh M. Investigating the interplay between cardiovascular and neurodegenerative disease. *Biology (Basel)*. 2024;13(10):764. doi:10.3390/biology13100764.
35. Longinetti E, Fang F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: an update of recent literature. *Curr Opin Neurol*. 2019;32(5):771–6. doi:10.1097/WCO.00000000000000730.
36. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, Corr EM, Logroscino G, Robberecht W, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3(1):17071. doi:10.1038/nrdp.2017.71.
37. Al-Chalabi A, Hardiman O. The epidemiology of ALS: a conspiracy of genes, environment and time. *Nat Rev Neurol*. 2013;9(11):617–28. doi:10.1038/nrneurol.2013.203.
38. Byrne S, Walsh C, Lynch C, Bede P, Elamin M, Kenna K, et al. Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(6):623–7. doi:10.1136/jnnp.2010.224501.
39. Camacho-Soto A, Searles Nielsen S, Faust IM, Bucelli RC, Miller TM, Racette BA. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in older adults. *Muscle Nerve*. 2022;66(3): 289–96. doi:10.1002/mus.27652.
40. Horton DK, Mehta P, Antao VC. Quantifying a nonnotifiable disease in the United States: the national amyotrophic lateral sclerosis registry model. *JAMA*. 2014;312(11): 1097–8. doi:10.1001/jama.2014.9799.
41. Jordan H, Rechtman L, Wagner L, Kaye WE. Amyotrophic lateral sclerosis surveillance in Baltimore and Philadelphia. *Muscle Nerve*. 2015;51(6):815–21. doi:10.1002/mus.24488.
42. Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, Chió A, Mitchell D, Swingler RJ, et al. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81(4):385–90. doi:10.1136/jnnp.2009.183525.
43. Longinetti E, Regodón Wallin A, Samuelsson K, Press R, Zachau A, Ronnevi LO, et al. The Swedish motor neuron disease quality registry. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2018;19(7–8):528–37. doi:10.1080/21678421.2018.1497065.
44. Benjaminsen E, Alstadhaug KB, Gulsvik M, Baloch FK, Odeh F. Amyotrophic lateral sclerosis in Nordland county, Norway, 2000–2015: prevalence, incidence, and clinical features. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2018;19(7–8):522–7. doi:10.1080/21678421.2018.1513534.
45. Dorst J, Chen L, Rosenbohm A, Dreyhaupt J, Hübers A, Schuster J, et al. Prognostic factors in ALS: a comparison between Germany and China. *J Neurol*. 2019;266(6): 1516–25. doi:10.1007/s00415-019-09290-4.
46. Bonafede R, Mariotti R. ALS pathogenesis and therapeutic approaches: the role of mesenchymal stem cells and extracellular vesicles. *Front Cell Neurosci*. 2017;11:80. doi:10.3389/fncel.2017.00080.

47. Fantini R, Mandrioli J, Zona S, Antenora F, Iattoni A, Monelli M, et al. Ultrasound assessment of diaphragmatic function in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Respirology*. 2016;21(5):932–8. doi:10.1111/resp.12759.
48. Pinto S, Alves P, Pimentel B, Swash M, de Carvalho M. Ultrasound for assessment of diaphragm in ALS. *Clin Neurophysiol*. 2016;127(1):892–7. doi:10.1016/j.clinph.2015.03.024.
49. Al-Chalabi A, Hardiman O, Kiernan MC, Chiò A, Rix-Brooks B, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis: moving towards a new classification system. *Lancet Neurol*. 2016;15(11):1182–94. doi:10.1016/S1474-4422(16)30199-5.
50. Masrori P, Van Damme P. Amyotrophic lateral sclerosis: a clinical review. *Eur J Neurol*. 2020;27(10):1918–29. doi:10.1111/ene.14393.
51. Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009;4:3. doi:10.1186/1750-1172-4-3.
52. Segura T, Medrano IH, Collazo S, Maté C, Sguera C, Del Rio-Bermudez C, et al. Symptoms timeline and outcomes in amyotrophic lateral sclerosis using artificial intelligence. *Sci Rep*. 2023;13(1):702. doi:10.1038/s41598-023-27863-2.
53. Shoesmith CL, Findlater K, Rowe A, Strong MJ. Prognosis of amyotrophic lateral sclerosis with respiratory onset. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007;78(6):629–31. doi:10.1136/jnnp.2006.103564.
54. Pinto S, Gromicho M, Oliveira Santos MO, Swash M, De Carvalho M. Respiratory onset in amyotrophic lateral sclerosis: clinical features and spreading pattern. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2023;24(1–2):40–4. doi:10.1080/21678421.2022.2067777.
55. Sánchez-Manso JC, Gujarathi R, Varacallo MA. Autonomic dysfunction. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
56. Hovaguimian A. Dysautonomia: diagnosis and management. *Neurol Clin*. 2023;41(1):193–213. doi:10.1016/j.ncl.2022.08.002.
57. Waxenbaum JA, Reddy V, Das JM. Anatomy, autonomic nervous system. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
58. Baltadzhieva R, Gurevich T, Korczyn AD. Autonomic impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2005;18(5):487–93. doi:10.1097/01.wco.0000183114.76056.0e.
59. Piccione EA, Sletten DM, Staff NP, Low PA. Autonomic system and amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve*. 2015;51(5):676–9. doi:10.1002/mus.24457.
60. Shefner JM, Al-Chalabi A, Baker MR, Cui LY, de Carvalho M, Eisen A, et al. A proposal for new diagnostic criteria for ALS. *Clin Neurophysiol*. 2020;131(8):1975–8. doi:10.1016/j.clinph.2020.04.005.
61. Vidovic M, Müschen LH, Brakemeier S, Machetanz G, Naumann M, Castro-Gomez S. Current state and future directions in the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Cells*. 2023;12(5):736. doi:10.3390/cells12050736.
62. Ghasemi M, Brown RH. Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(5):a024125. doi:10.1101/cshperspect.a024125.
63. Turner MR. Diagnosing ALS: the Gold Coast criteria and the role of EMG. *Pract Neurol*. 2022;22(3):176–8. doi:10.1136/practneurol-2021-003256.
64. Tawfik EA. Vagus nerve ultrasound in a patient with amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve*. 2016;54(5):978–9. doi:10.1002/mus.25126.
65. Holzapfel K, Naumann M. Ultrasound detection of vagus nerve atrophy in bulbar amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroimaging*. 2020;30(6):762–5. doi:10.1111/jon.12761.

66. Walter U, Sobiella G, Prudlo J, Batchakaschvili M, Böhmert J, Storch A, et al. Ultrasonic detection of vagus, accessory, and phrenic nerve atrophy in amyotrophic lateral sclerosis: relation to impairment and mortality. *Eur J Neurol.* 2024;31(2):e16127. doi:10.1111/ene.16127.
67. Papadopoulou M, Bakola E, Papapostolou A, Stefanou MI, Moschovos C, Salakou S, et al. Autonomic dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis: a neurophysiological and neurosonology study. *J Neuroimaging.* 2022;32(4):710–9. doi:10.1111/jon.12993.
68. Smith JAB, Murach KA, Dyar KA, Zierath JR. Exercise metabolism and adaptation in skeletal muscle. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2023;24(9):607–32. doi:10.1038/s41580-023-00606-x.
69. Oprisan AL, Popescu BO. Dysautonomia in amyotrophic lateral sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2023;24(19):14927. doi:10.3390/ijms241914927.
70. Goldberger JJ, Arora R, Buckley U, Shivkumar K. Autonomic nervous system dysfunction: JACC focus seminar. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73(10):1189–206. doi:10.1016/j.jacc.2018.12.064.
71. Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med.* 1994;330(9):585–91. doi:10.1056/NEJM199403033300901.
72. Dharmadasa T, Kiernan MC. Riluzole, disease stage and survival in ALS. *Lancet Neurol.* 2018;17(5):385–6. doi:10.1016/S1474-4422(18)30091-7.
73. Fang T, Al Khleifat A, Meurgey JH, Jones A, Leigh PN, Bensimon G, et al. Stage at which riluzole treatment prolongs survival in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a retrospective analysis of data from a dose-ranging study. *Lancet Neurol.* 2018;17(5):416–22. doi:10.1016/S1474-4422(18)30054-1.
74. Abe K, Aoki M, Tsuji S, Itoyama Y, Sobue G, Togo M, et al. Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2017;16(7):505–12. doi:10.1016/S1474-4422(17)30115-1.
75. Sukockienė E, Iancu Ferfoglía R, Truffert A, Héritier Barras AC, Genton L, Viatte V, et al. Multidisciplinary care in amyotrophic lateral sclerosis: a 4-year longitudinal observational study. *Swiss Med Wkly.* 2020;150:w20258. doi:10.4414/smw.2020.20258.
76. Paipa AJ, Povedano M, Barcelo MA, Domínguez R, Saez M, Turon-Sans J, et al. Survival benefit of multidisciplinary care in amyotrophic lateral sclerosis in Spain: association with noninvasive mechanical ventilation. *J Multidiscip Healthc.* 2019;12:465–70. doi:10.2147/JMDH.S205313.
77. Rostad S, Wendt L, Poleksic M, Hutchinson-Reuss B, Bingham H, Fattal D. Survival and multidisciplinary amyotrophic lateral sclerosis clinic care at a United States Veterans Affairs medical center. *RRNMF Neuromuscul J.* 2024;5(1). doi:10.17161/rrnmf.v5i1.20037.
78. Morelot-Panzini C, Bruneteau G, Gonzalez-Bermejo J. NIV in amyotrophic lateral sclerosis: the ‘when’ and ‘how’ of the matter. *Respirology.* 2019;24(6):521–30. doi:10.1111/resp.13525.
79. Bourke SC, Tomlinson M, Williams TL, Bullock RE, Shaw PJ, Gibson GJ. Effects of non-invasive ventilation on survival and quality of life in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol.* 2006;5(2):140–7. doi:10.1016/S1474-4422(05)70326-4.
80. Rooney J, Byrne S, Heverin M, Tobin K, Dick A, Donaghy C, et al. A multidisciplinary clinic approach improves survival in ALS: a comparative study of ALS in Ireland and

- Northern Ireland. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(5):496–501. doi:10.1136/jnnp-2014-309601.
81. Chiò A, Logroscino G, Hardiman O, Swingler R, Mitchell D, Beghi E, et al. Prognostic factors in ALS: a critical review. *Amyotroph Lateral Scler*. 2009;10(5–6):310–23. doi:10.3109/17482960802566824.
  82. Traxinger K, Kelly C, Johnson BA, Lyles RH, Glass JD. Prognosis and epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Clin Pract*. 2013;3(4):313–20. doi:10.1212/CPJ.0b013e3182a1b8ab.
  83. Westeneng HJ, Debray TPA, Visser AE, van Eijk RPA, Rooney JPK, Calvo A, et al. Prognosis for patients with amyotrophic lateral sclerosis: development and validation of a personalised prediction model. *Lancet Neurol*. 2018;17(5):423–33. doi:10.1016/S1474-4422(18)30089-9.
  84. Verde F, Steinacker P, Weishaupt JH, Kassubek J, Oeckl P, Halbgebauer S, et al. Neurofilament light chain in serum for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(2):157–64. doi:10.1136/jnnp-2018-318704.
  85. Benatar M, Ostrow LW, Lewcock JW, Bennett F, Shefner J, Bowser R, et al. Biomarker Qualification for Neurofilament Light Chain in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Theory and Practice. *Ann Neurol*. 2024;95(2):211–6. doi:10.1002/ana.26860.
  86. Hughes RC. Parkinson's disease and its management. *BMJ*. 1994;308(6923):281. doi:10.1136/bmj.308.6923.281.
  87. Lee A, Gilbert RM. Epidemiology of Parkinson disease. *Neurol Clin*. 2016;34(4):955–65. doi:10.1016/j.ncl.2016.06.012.
  88. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm*. 2017;124(8):901–5. doi:10.1007/s00702-017-1686-y.
  89. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TDL. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. 2014;29(13):1583–90. doi:10.1002/mds.25945.
  90. Delamarre A, Meissner WG. Épidémiologie, facteurs de risque environnementaux et génétiques de la maladie de Parkinson. *Presse Med*. 2017;46(2):175–81. doi:10.1016/j.lpm.2017.01.001.
  91. Costa HN, Esteves AR, Empadinhas N, Cardoso SM. Parkinson's disease: a multi-system disorder. *Neurosci Bull*. 2023;39(1):113–24. doi:10.1007/s12264-022-00934-6.
  92. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;30(12):1591–601. doi:10.1002/mds.26424.
  93. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(4):368–76. doi:10.1136/jnnp.2007.131045.
  94. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet*. 2015;386(9996):896–912. doi:10.1016/S0140-6736(14)61393-3.
  95. Reijnders JSAM, Ehrt U, Weber WEJ, Aarsland D, Leentjens AFG. A systematic review of prevalence studies of depression in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2008;23(2):183–9. doi:10.1002/mds.21803.
  96. Postuma RB, Berg D. Prodromal Parkinson's disease: The decade past, the decade to come. *Mov Disord*. 2019;34(5):665–75. doi:10.1002/mds.27670.
  97. Doty RL. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 2012;8(6):329–39. doi:10.1038/nrneurol.2012.80.
  98. Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol*. 2006;5(3):235–45. doi:10.1016/S1474-4422(06)70373-8.

99. Pfeiffer RF. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease. *Neurotherapeutics*. 2020;17(4):1464–79. doi:10.1007/s13311-020-00897-4.
100. Cersosimo MG, Benarroch EE. Autonomic involvement in Parkinson's disease: pathology, pathophysiology, clinical features and possible peripheral biomarkers. *J Neurol Sci*. 2012;313(1–2):57–63. doi:10.1016/j.jns.2011.09.030.
101. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003; 24(2):197–211. doi:10.1016/S0197-4580(02)00065-9.
102. Dickson DW, Fujishiro H, DelleDonne A, Menke J, Ahmed Z, Klos KJ, et al. Evidence that incidental Lewy body disease is pre-symptomatic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 2008;115(4):437–44. doi:10.1007/s00401-008-0345-7.
103. Rissardo J, Gadelmawla A, Khalil I, Abdulgadir A, Bhatti K, Fornari Caprara A. Epidemiology of autonomic dysfunction in Parkinson's disease. *Med Int (Lond)*. 2025;5(6):1–25. doi:10.3892/mi.2025.267.
104. Isaacson SH, Skettini J. Neurogenic orthostatic hypotension in Parkinson's disease: evaluation, management, and emerging role of droxidopa. *Vasc Health Risk Manag*. 2014;10:169–76. doi:10.2147/VHRM.S53983.
105. Palma JA, Kaufmann H. Treatment of autonomic dysfunction in Parkinson disease and other synucleinopathies. *Mov Disord*. 2018;33(3):372–90. doi:10.1002/mds.27344.
106. Allcock LM, Ulyart K, Kenny RA, Burn DJ. Frequency of orthostatic hypotension in a community based cohort of patients with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(10):1470–1. doi:10.1136/jnnp.2003.029413.
107. Goldstein DS. Orthostatic hypotension as an early finding in Parkinson's disease. *Clin Auton Res*. 2006;16(1):46–54. doi:10.1007/s10286-006-0317-8.
108. Geng D, Liu X, Wang Y, Wang J. The effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on HRV in healthy young people. *PLoS One*. 2022;17(2):e0263833. doi:10.1371/journal.pone.0263833.
109. Breit S, Kupferberg A, Rogler G, Hasler G. Vagus nerve as modulator of the brain-gut axis in psychiatric and inflammatory disorders. *Front Psychiatry*. 2018;9:44. doi:10.3389/fpsy.2018.00044.
110. Browning KN, Travagli RA. Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. *Compr Physiol*. 2014; 4(4):1339–68. doi:10.1002/cphy.c130055.
111. Benarroch EE. Basics of autonomic nervous system function. In: Aminoff MJ, Boller F, Swaab DF, editors. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol. 160. Elsevier; 2019. p. 407–18. doi:10.1016/B978-0-444-64032-1.00027-8.
112. Christopher L, Koshimori Y, Lang AE, Criaud M, Strafella AP. Uncovering the role of the insula in non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Brain*. 2014;137(8):2143–54. doi:10.1093/brain/awu084.
113. De Pablo-Fernandez E, Courtney R, Holton JL, Warner TT. Hypothalamic  $\alpha$ -synuclein and its relation to weight loss and autonomic symptoms in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2017;32(2):296–8. doi:10.1002/mds.26868.
114. Del Tredici K, Braak H. Spinal cord lesions in sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 2012;124(5):643–64. doi:10.1007/s00401-012-1028-y.
115. Muntané G, Dalfó E, Martínez A, Ferrer I. Phosphorylation of tau and  $\alpha$ -synuclein in synaptic-enriched fractions of the frontal cortex in Alzheimer's disease, and in Parkinson's disease and related  $\alpha$ -synucleinopathies. *Neuroscience*. 2008;152(4):913–23. doi:10.1016/j.neuroscience.2008.01.030.

116. Oinas M, Paetau A, Myllykangas L, Notkola IL, Kalimo H, Polvikoski T.  $\alpha$ -Synuclein pathology in the spinal cord autonomic nuclei associates with  $\alpha$ -synuclein pathology in the brain: a population-based Vantaa 85+ study. *Acta Neuropathol.* 2010;119(6):715–22. doi:10.1007/s00401-009-0629-6.
117. Orimo S, Uchihara T, Nakamura A, Mori F, Kakita A, Wakabayashi K, et al. Axonal  $\alpha$ -synuclein aggregates herald centripetal degeneration of cardiac sympathetic nerve in Parkinson's disease. *Brain.* 2008;131(3):642–50. doi:10.1093/brain/awm302.
118. Bloch A, Probst A, Bissig H, Adams H, Tolnay M.  $\alpha$ -Synuclein pathology of the spinal and peripheral autonomic nervous system in neurologically unimpaired elderly subjects. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2006;32(3):284–95. doi:10.1111/j.1365-2990.2006.00727.x.
119. Braak H, Sastre M, Bohl JRE, de Vos RAI, Del Tredici K. Parkinson's disease: lesions in dorsal horn layer I, involvement of parasympathetic and sympathetic pre- and postganglionic neurons. *Acta Neuropathol.* 2007;113(4):421–9. doi:10.1007/s00401-007-0193-x.
120. Gold A, Turkalp ZT, Munoz DG. Enteric alpha-synuclein expression is increased in Parkinson's disease but not Alzheimer's disease. *Mov Disord.* 2013;28(2):237–41. doi:10.1002/mds.25298.
121. Squire LR. The legacy of patient H.M. for neuroscience. *Neuron.* 2009;61(1):6–9. doi:10.1016/j.neuron.2008.12.023.
122. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992;55(3):181–4. doi:10.1136/jnnp.55.3.181.
123. Zarkali A, Thomas GEC, Zetterberg H, Weil RS. Neuroimaging and fluid biomarkers in Parkinson's disease in an era of targeted interventions. *Nat Commun.* 2024;15(1):5661. doi:10.1038/s41467-024-49949-9.
124. Wang Z, Gilliland T, Kim HJ, Gerasimenko M, Sajewski K, Camacho MV, et al. A minimally invasive biomarker for sensitive and accurate diagnosis of Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2024;12(1):167. doi:10.1186/s40478-024-01873-1.
125. Walter U. Transcranial sonography of the cerebral parenchyma: update on clinically relevant applications. *Perspect Med.* 2012;1(1–12):334–43. doi:10.1016/j.permmed.2012.02.014.
126. Haehner A, Hummel T, Reichmann H. Olfactory loss in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2011;2011:450939. doi:10.4061/2011/450939.
127. Fahn S. The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2008;23(S3):S497–508. doi:10.1002/mds.22028.
128. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease. *JAMA.* 2014;311(16):1670. doi:10.1001/jama.2014.3654.
129. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci.* 2017;18(7):435–50. doi:10.1038/nrn.2017.62.
130. Benabid AL, Pollak P, Louveau A, Henry S, de Rougemont J. Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson disease. *Stereotact Funct Neurosurg.* 1987;50(1–6):344–6. doi:10.1159/000100803.
131. Mak MK, Wong-Yu IS, Shen X, Chung CL. Long-term effects of exercise and physical therapy in people with Parkinson disease. *Nat Rev Neurol.* 2017;13(11):689–703. doi:10.1038/nrneurol.2017.128.
132. Macleod AD, Taylor KSM, Counsell CE. Mortality in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2014;29(13):1615–22. doi:10.1002/mds.25898.

133. Gonzalez MC, Dalen I, Maple-Grødem J, Tysnes OB, Alves G. Parkinson's disease clinical milestones and mortality. *NPJ Parkinsons Dis.* 2022;8(1):58. doi:10.1038/s41531-022-00320-z.
134. Forsaa EB, Larsen JP, Wentzel-Larsen T, Alves G. What predicts mortality in Parkinson disease? *Neurology.* 2010;75(14):1270–6. doi:10.1212/WNL.0b013e3181f61311.
135. Aviles-Olmos I, Kefalopoulou Z, Tripoliti E, Candelario J, Akram H, Martinez-Torres I, et al. Long-term outcome of subthalamic nucleus deep brain stimulation for Parkinson's disease using an MRI-guided and MRI-verified approach. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014;85(12):1419–25. doi:10.1136/jnnp-2013-306907.
136. Tsukita K, Sakamaki-Tsukita H, Takahashi R. Long-term effect of regular physical activity and exercise habits in patients with early Parkinson disease. *Neurology.* 2022;98(8):e859–e871. doi:10.1212/WNL.0000000000013218.
137. Akbar U, McQueen RB, Bemski J, Carter J, Goy ER, Kutner J, et al. Prognostic predictors relevant to end-of-life palliative care in Parkinson's disease and related disorders: a systematic review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2021;92(6):629–36. doi:10.1136/jnnp-2020-323939.
138. Dommershuijsen LJ, Darweesh SKL, Ben-Shlomo Y, Kluger BM, Bloem BR. The elephant in the room: critical reflections on mortality rates among individuals with Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.* 2023;9(1):145. doi:10.1038/s41531-023-00588-9.
139. Francis J. ECG monitoring leads and special leads. *Indian Pacing Electrophysiol J.* 2016;16(3):92–5. doi:10.1016/j.ipej.2016.07.003.
140. Shaffer F, Ginsberg JP. An overview of heart rate variability metrics and norms. *Front Public Health.* 2017;5:258. doi:10.3389/fpubh.2017.00258.
141. Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B, et al. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. *J Neurol Sci.* 1999;169(1–2):13–21. doi:10.1016/S0022-510X(99)00210-5.
142. Revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS-R) [Internet]. MDCalc; [cited 2025 Aug 10]. Available from: <https://www.mdcalc.com/calc/10166/revised-amyotrophic-lateral-sclerosis-functional-rating-scale-ŠASfrs-r>.
143. Laucius O, Drūteika J, Balnytė R, Palačionytė J, Ališauskienė M, Petrikonis K, et al. Phrenic nerve sonography alterations in patients with ALS: insight with clinical and neurophysiological findings. *J Clin Med.* 2024;13(21):6302. doi:10.3390/jcm13216302.
144. Laucius O, Drūteika J, Vanagas T, Balnytė R, Radžiūnas A, Vaitkus A. Ultrasonography of the vagus nerve in Parkinson's disease: links to clinical profile and autonomic dysfunction. *Biomedicines.* 2025;13(9):2070. doi:10.3390/biomedicines13092070.
145. Manjaly ZR, Scott KM, Abhinav K, Wijesekera L, Ganesalingam J, Goldstein LH, et al. The sex ratio in amyotrophic lateral sclerosis: a population based study. *Amyotroph Lateral Scler.* 2010;11(5):439–42. doi:10.3109/17482961003610853.
146. Chang J, Shaw TB, Holdom CJ, McCombe PA, Henderson RD, Fripp J, et al. Lower hypothalamic volume with lower body mass index is associated with shorter survival in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurol.* 2023;30(1):57–68. doi:10.1111/ene.15589.
147. Resman-Gasperšič A, Podnar S. Phrenic nerve conduction studies: technical aspects and normative data. *Muscle Nerve.* 2008;37(1):36–41. doi:10.1002/mus.20887.
148. Fischer LR, Glass JD. Axonal degeneration in motor neuron disease. *Neurodegener Dis.* 2007;4(6):431–42. doi:10.1159/000107704.

149. Weise D, Menze I, Metelmann MCF, Woost TB, Classen J, Otto Pelz J. Multimodal assessment of autonomic dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurol.* 2022;29(3):715–23. doi:10.1111/ene.15177.
150. Müller KJ, Schmidbauer ML, Schönecker S, Kamm K, Pelz JO, Holzapfel K, et al. Diagnostic accuracy and confounders of vagus nerve ultrasound in amyotrophic lateral sclerosis: a single-center case series and pooled individual patient data meta-analysis. *J Neurol.* 2024;271(9):6255–63. doi:10.1007/s00415-024-12601-z.
151. Huckemann S, Mueller K, Averdunk P, Kühn E, Hilker L, Kools S, et al. Vagal cross-sectional area correlates with parasympathetic dysfunction in Parkinson's disease. *Brain Commun.* 2022;5(1):fcad006. doi:10.1093/braincomms/fcad006.
152. Pisano F, Miscio G, Mazzuero G, Lanfranchi P, Colombo R, Pinelli P. Decreased heart rate variability in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve.* 1995;18(11):1225–31.
153. Pimentel RMM, Ferreira C, Valenti V, Garner DM, Macedo H, Oliveira ASB, et al. Complexity measures of heart-rate variability in amyotrophic lateral sclerosis with alternative pulmonary capacities. *Entropy (Basel).* 2021;23(2):159. doi:10.3390/e23020159.
154. Radziwon J, Sławek J. Ultrasonographically measured atrophy of vagus nerve in Parkinson's disease: clinical and pathogenetic insights plus systematic review and meta-analysis. *Neurol Neurochir Pol.* 2024;58(5):471–83. doi:10.5603/pjnns.99592.
155. Walter U, Tsiberidou P, Kersten M, Storch A, Löhle M. Atrophy of the vagus nerve in Parkinson's disease revealed by high-resolution ultrasonography. *Front Neurol.* 2018;9:805. doi:10.3389/fneur.2018.00805.
156. Pelz JO, Belau E, Fricke C, Classen J, Weise D. Axonal degeneration of the vagus nerve in Parkinson's disease: a high-resolution ultrasound study. *Front Neurol.* 2018;9:951. doi:10.3389/fneur.2018.00951.
157. Tsukita K, Taguchi T, Sakamaki-Tsukita H, Tanaka K, Suenaga T. Vagus nerve atrophy in Parkinson's disease detected by ultrasonography. *J Neurol Sci.* 2017;381:129. doi:10.1016/j.jns.2017.08.391.
158. Horsager J, Walter U, Fedorova TD, Andersen KB, Skjærbæk C, Knudsen K, et al. Vagus nerve cross-sectional area in patients with Parkinson's disease: an ultrasound case-control study. *Front Neurol.* 2021;12:681413. doi:10.3389/fneur.2021.681413.
159. Sijben LCJ, Mess WH, Walter U, Janssen AML, Kuijf ML, Oosterloo M, et al. The cross-sectional area of the vagus nerve is not reduced in Parkinson's disease patients. *eNeurologicalSci.* 2022;27:100400. doi:10.1016/j.ensci.2022.100400.
160. Bedewi MA, Kotb MA, Almalki DM, Alaseeri AA, Sandougah KJ, Abdelnaby R, et al. Ultrasound of the normal vagus nerve cross-sectional area in the carotid sheath. *Medicine (Baltimore).* 2023;102(23):e33996. doi:10.1097/MD.00000000000033996.
161. Xiong F, Wang Q, Hu Y, Jiang X, Liu L, Han Y, et al. Ultrasound characteristics of the cervical vagus nerve in patients with type 2 diabetes and diabetic peripheral neuropathy. *Endokrynol Pol.* 2023;74(5):450–7. doi:10.5603/EP.a2023.0056.
162. Lee HJ, Jung KW, Chung SJ, Hong SM, Kim J, Lee JH, et al. Relation of enteric  $\alpha$ -synuclein to gastrointestinal dysfunction in patients with Parkinson's disease and in neurologically intact subjects. *J Neurogastroenterol Motil.* 2018;24(3):469–78. doi:10.5056/jnm17141.
163. Del Tredici K. Where does PD pathology begin in the brain? *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002;61(5):413–26.
164. Özçağlayan Ö, Altunan B, Kurtoğlu Özçağlayan Tİ, Ünal A. The atrophy of the vagus nerve correlated with gastrointestinal non-motor symptoms scores in Parkinson's

- disease: a sonography research study. *J Diagn Med Sonogr.* 2022;38(6):498–505. doi:10.1177/87564793221097008.
165. Cersosimo MG, Benarroch EE. Pathological correlates of gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2012;46(3):559–64. doi:10.1016/j.nbd.2011.10.014.
  166. Camicioli R, Sabino J, Gee M, Bouchard T, Fisher N, Hanstock C, et al. Ventricular dilatation and brain atrophy in patients with Parkinson's disease with incipient dementia. *Mov Disord.* 2011;26(8):1443–50. doi:10.1002/mds.23700.
  167. Takahashi S, Sanjo N, Miyamoto S, Hattori T, Oyama J, Tateishi U, et al. Width of the third ventricle as a highly sensitive biomarker in chronic progressive neuro-Behçet's disease. *J Neurol Sci.* 2021;421:117284. doi:10.1016/j.jns.2020.117284.
  168. Gao H, Qu Y, Chen S, Yang Q, Li J, Tao A, et al. Third ventricular width by transcranial sonography is associated with cognitive impairment in Parkinson's disease. *CNS Neurosci Ther.* 2024;30(2):e14360. doi:10.1111/cns.14360.
  169. Guenter W, Betscher E, Bonek R. Predictive value of the third ventricle width for neurological status in multiple sclerosis. *J Clin Med.* 2022;11(10):2841. doi:10.3390/jcm11102841.

## MOKSLINĖS PUBLIKACIJOS

### Web of science DB referuojamose leidiniuose su citavimo rodikliu:

1. **Laucius O**, Drūteika J, Balnytė R, Petrikonis K, Ališauskienė M, Vaitkus A. Sonographic Phrenic Nerve Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Medicina (Kaunas)*. 2023 Sep 29;59(10):1745. doi: 10.3390/medicina59101745.
2. **Laucius O**, Drūteika J, Balnytė R, Palačionytė J, Ališauskienė M, Petrikonis K, Vaitkus A. Phrenic Nerve Sonography Alterations in Patients with ŠAS: Insight with Clinical and Neurophysiological Findings. *J Clin Med*. 2024;13(21):6302. doi: 10.3390/jcm13216302
3. **Laucius O**, Drūteika J, Vanagas T, Balnytė R, Radžiūnas A, Vaitkus A. Ultrasonography of the Vagus Nerve for ŠAS Patients: Correlations with Clinical Data and Dysfunction of the Autonomic Nervous System. *Medicina (Kaunas)*. 2025 May 16;61(5):902. doi: 10.3390/medicina61050902.
4. **Laucius O**, Drūteika J, Vanagas T, BalnytėR, Radžiūnas A, Vaitkus A. Ultrasonography of the Vagus Nerve in Parkinson's Disease: Links to Clinical Profile and Autonomic Dysfunction. *Biomedicines*, 2025;13(9): 2070. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13092070>

### Konferencijų kuriuose skelbti disertacijos rezultatai, sąrašas:

1. Pranešimas 8-oje Baltijos šalių neurosonologų mokykloje „Clinical application of vagus nerve ultrasound“. Ryga 2022 m. vasario mėn. 11 diena.
2. Tezė: Conference of the european society of neurosonology and cerebral hemodynamics neurosonology. „Vagus nerve structure and changes in amyotrophic latechogenicityeral sclerosis“ Almería, Andalusia, Spain. 2024 October 2–4.

# PRIEDAI

## *1 priedas*

### INFORMUOTO ASMENS SUTIKIMO FORMA

Biomedicininio / klinikinio vaistinio preparato tyrimo pavadinimas:  
Klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo vertė neurodegeneracinių ligų diagnostikoje  
pavadinimas

Protokolo Nr.: 1

Užsakovas: Lietuvos sveikatos mokslų universitetas  
Adresas: A. Mickevičiaus g. 9, LT-44307 Kaunas, Lietuva  
Tel.: +370 37 327201; el. paštas: rektoratas@ismuni.lt

Užsakovo atstovas: Prof. habil. dr. Vaiva Lesauskaitė  
Atsakingas tyrėjas<sup>1</sup>: Ovidijus Laucius, gydytojas neurologas  
Adresas: Eivenių g. 2, LT-50009 Kaunas, Lietuva  
Tel.: + 370 643 13553; el. paštas: ovidijus.laucius@ismuni.lt

Tyrimo centro pavadinimas: Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninė, Kauno  
klinikos, Neurologijos klinika  
Adresas: Eivenių g. 2, LT-50161 Kaunas, Lietuva  
Tel.: 0 37 326675; el. paštas: neurologijos.klinika@kaunoklinikos.lt

#### **1. Kokia šio dokumento paskirtis?**

Šioje formoje pateikiama Jums skirta informacija apie biomedicininį tyrimą, aptariamą tyrimo atlikimo priežastys, mokslinio tyrimo procedūros, nauda, rizika, galimi nepatogumai ir kita svarbi informacija. Jei nuspręsite dalyvauti, prašysime Jūsų pasirašyti šią sutikimo formą, kuria sutinkate tyrimo metu vykdyti gydytojo tyrėjo ir tyrimo komandos nurodymus. Pasirašydami šį dokumentą, sutinkate dalyvauti moksliniame tyrime. Neskubėkite ir atidžiai perskaitykite šį dokumentą, jei nesupratote kokio nors žodžio ar teiginio, visus iškilusius klausimus būtinai užduokite tyrimo gydytojui ar kitiems tyrimo komandos nariams. Prieš priimdami sprendimą, galite pasitarti su šeimos nariais, draugais ar savo gydytoju.

#### **2. Kodėl atliekami biomedicininiai/ klinikiniai vaistinio preparato tyrimai?**

Svarbu suprasti, kad nors biomedicininio tyrimo metu Jums bus atliekami sveikatos patikrinimai ir neinvazinės medicininės procedūros, biomedicininis tyrimas iš esmės skiriasi nuo įprastos (kasdienės) klinikinės praktikos. Įprastos (kasdienės) klinikinės praktikos tikslas yra Jus (t. y. konkretų asmenį, pacientą) išgydyti ir/ar pagerinti Jūsų sveikatos būklę. Pagrindinis biomedicininio (mokslinio) tyrimo tikslas – gauti naujų medicinos mokslo žinių, kurios ateityje padėtų kitų šia liga sergančių pacientų sveikatai. Kitaip tariant, pagrindinis šio tyrimo tikslas nėra tiesioginė nauda Jūsų sveikatai.

---

<sup>1</sup> Atsakingas tyrėjas – tyrimo metu konkretų pacientą, pasirašantį Informuoto asmens sutikimo formą, prižiūriantis tyrėjas.

### 3. Kodėl atliekamas šis tyrimas?

Šio tyrimo tikslas – įvertinti klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo klinikinę vertę diagnozuojant neurodegeneracines ligas. **Parkinsono liga (PL)** – lėtinė progresuojanti neurodegeneracinė liga, po diagnozės nustatymo išgyvenamumo mediana siekia 9,1 metų. PL diagnozė nustatoma remiantis klinikiniais kriterijais. Šiuo metu tyrimo, kuris būtų laikomas patikimas, tikslus ir atlikus leistų patvirtinti diagnozę, ypač ankstyvose ligos stadijose, nėra. Nors PL dažniausiai diagnozuojama remiantis judėjimo sutrikimo simptomais, tačiau prieš ligai pasireiškiant judėjimo sutrikimams sunyksta iki 50 proc. vidurinių smegenų juodosios medžiagos (JM) nervinių ląstelių ir prarandama iki 80 proc. neurotransmiterio (perduoda elektrinius signalus iš vienos nervinės ląstelės kitai) dopamino kiekio dryžuotajame kūne, kol išryškėja pirmieji judėjimo sutrikimo PL simptomai. Todėl vis labiau yra palaikomas ankstyvas judėjimo sutrikimo PL modelis. Daugėja įrodymų, kad uoslės ir miego sutrikimas, širdies laidžiosios sistemos sutrikimai (širdies dažnio pokyčiai), žarnyno veiklos sutrikimas (vidurių užkietėjimas), depresija, skausmas gali pasireikšti anksčiau nei judėjimo sutrikimo PL simptomai. Tuo remiantis, buvo keliami hipotezė, kad klajoklio nervo neuronų disfunkcija ir neuronų žūtis galėtų būti susijusi su potencialiai mažesniu nervo skersmens plotu sergant PL. Šiuo metu jau yra atliktų darbų šia tema, tačiau nėra pateikta tikslių duomenų ar funkcija (širdies dažnio pokyčiai) gali būti susijusi su struktūriniais pokyčiais ir ar galima teigti, kad struktūriniai pokyčiai susiję su ankstyva Parkinsono ligos diagnostika. **Šoninė amiotrofinė sklerozė (ŠAS)** – reta progresuojanti liga sukelianti raumenų silpnumą, negalią ir galiausiai mirtį. Šis sutrikimas, priešingai nei daugiažidininė motorinė polineuropatija (DMN) ir kitos polineuropatijos, turi blogesnę prastesnę prognozę, nes tikėtinas išgyvenamumas yra 3–5 metai. Ligos progresavimui sulėtinti gali būti skiriami ligos eigą modifikuojantys vaistai (pvz. riluzolas, edaravonas). Atsižvelgiant į gydymo ir išiečių skirtumus, yra labai svarbu diferencijuoti ir patikimai nustatyti diagnozę. Šiuo metu DMN, ŠAS ir kitų motorinių neuropatijų diagnozės dažniausiai pagrindžiamos klinikiniais duomenimis bei neurofiziologinių (pvz., elektroneuromiografijos) tyrimų rezultatais. Deja, net ir remiantis šiais kriterijais, iki 10 proc. ŠAS diagnozių būna nustatytos neteisingai. Tolimesnių tyrimų metu, 1 iš 5 tokių atvejų yra nustatoma DMN, viena dažniausių į ŠAS panašių ligų. Manoma, jog įvairių galūnių nervų ultragarsinis tyrimas yra daug žadantis alternatyvus metodas patikslinti ŠAS, DMN ir kitų motorinių neuropatijų diagnozes. Tikimasi, kad bus gauta daugiau patikimų duomenų ne tik diferencijuoti polineuropatijas nuo neurodegeneracinių ligų, tačiau ir duomenų leisiančių patikimiau ir greičiau nustatyta ŠAS ankstyvoje ligos stadijoje ir taikyti gydymą.

### 4. Kokie asmenys pasirenkami dalyvauti šiame tyrime?

Tiriamųjų įtraukimo į biomedicininį tyrimą kriterijai:

- 1) vyresni nei 18 metų pacientai;
- 2) gydomi Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (Kauno klinikų) Neurologijos klinikos Nervų sistemos ligų ambulatoriniame skyriuje ir Neurologijos skyriuje, kuriems diagnozuota Parkinsono liga ar Šoninė amiotrofinė sklerozė;
- 3) elektrofiziologiniais ir vaizdiniais tyrimais nėra įtariama kita liga: daugiažidininė motorinė polineuropatija, lėtinė uždegiminė polineuropatija, smulkių skaidulų polineuropatija, ūmi polineuropatija (Guillain-Barre sindromas, toksinė polineuropatija); nustatyta kita neurodegeneracinė liga (frontotemporalinė demencija, supranuklearinis paralyžius, išsėtinė sklerozė, Huntingtono liga), neuroraumeninės jungties ligomis (generalizuota miastenija).

Kontrolinę pacientų grupę sudarys:

- 1) vyresni nei 18 metų pacientai;
- 2) nesergantys polineuropatijomis, neurodegeneracinėmis, neuroraumeninės jungties ligomis (nėra požymių šioms ligoms), kas patvirtinta elektrofiziologiniais ir vaizdiniais tyrimais;
- 3) kontrolinę grupę sudarys savanoriai gydomi Kauno klinikų Nervų sistemos ligų ambulatoriniame ir Neurologijos skyriuje;
- 4) sunkios būklės pacientai, kurių neįmanoma apklausti ir atlikti klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo – sergantys sunkiais insultais, nesąmoningi pacientai.

#### **5. Kas atlieka/užsako šį biomedicininį / klinikinį vaistinio preparato tyrimą?**

Šio biomedicininio tyrimo užsakovas yra Lietuvos sveikatos mokslų universitetas. Tyrimo dalyviams ištyrimas bus atliekamas nemokamai gydytojo neurologo, kartu bus renkami dokumentiniai – anketiniai duomenys, ištyrimas vyks Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikos Neurologijos skyriuje bei Nervų sistemos ligų ambulatoriniame skyriuje.

#### **6. Tikimybė patekti į skirtingas tiriamųjų grupes ir dalyvavimo šiose grupėse ypatybės.**

Šiame tyrime dalyvaujantys asmenys bus suskirstyti į keturias grupes: pirmąją sudarys pacientai, kuriems yra diagnozuota Parkinsono liga, antrąją – diagnozuota Šoninė amiotrofinės sklerozė, trečiąją – kontrolinę sveikų pacientų grupę sudarys tiriamieji, kuriems nėra diagnozuota polineuropatija, kitos neurodegeneracinės ar neuroraumeninės jungties ligos. Visi planuojami tyrimai yra neinvaziniai, dėl to sveikatos sutrikdymo nesitikima, Jūs galėsite laikytis įprasto dienos režimo, vartoti visus kitų specialistų paskirtus medikamentus. Visi Jums numatomi atlikti tyrimai bus saugūs, neskausmingi ir nemokami.

#### **7. Kiek truks Jūsų dalyvavimas šiame tyrime?**

Numatoma bendra tyrimo trukmė – dveji metai. Tyrimas vyks kol surinksime suplanuotą pacientų kiekį arba iki tyrimo termino pabaigos – 2023 metų rugsėjo mėnesio. Jūsų vizito metu Jums bus atliekami tyrimai, kurių bendra numatoma trukmė – nuo vienos iki vienos su puse valandos. ŠAS pacientams bus atliekama spirometrija, kuri užtruks papildomais 30–45 min. ir Holterio monitoravimas trunkantis 24 val. Holterio prietaisas širdies dažnio pokyčiams stebėti. Prietaisas su elektrodais dedamas ant krūtinės. Jo pagalba stebimas širdies pulso pokyčiai paros bėgyje, stebėjimas bus tęsiamas 24 val. Tyrimo tikslas įvertinti paros širdies pulso pokyčius, kas atspindi klajoklio nervo funkciją. Bus naudojamas licenzijuotas Holterio aparatas. Tyrimas bus atliekamas namuose, kad geriausiai atspindėtų širdies dažnio pokyčius kasdienėmis sąlygomis, tačiau priklausomai nuo paciento būklės ar galimybės atvykti, būtų planuojama atlikti tyrimą ir gydymosi laikotarpiu neurologijos skyriuje.

#### **8. Kokiose šalyse bus vykdomas šis tyrimas?**

Tyrimas bus atliekamas tik Lietuvoje.

#### **9. Kiek tiriamųjų dalyvaus numatyta šiame tyrime?**

Tikimasi, kad šiame biomedicininiame tyrime dalyvaus ~120 žmonių, priklausomai nuo atmetimo kriterijų. Planuojama surinkti: kontrolinę grupę ~40–50 savanorių. Sergančių neurodegeneracinėmis ligomis: Parkinsono liga ~30–40 pacientų. Šonine amiotrofine skleroze ~20–30 pacientų.

### **10. Ką Jums reikės daryti?**

Jūsų bus prašoma leisti naudotis Jūsų medicininiais dokumentais (ligos istorija, ambulatorinės kortelės duomenimis), kuriais remiantis bus papildomi duomenys apie Jūsų ligą bei jos trukmę.

Jums bus pateiktas paciento klausimynas, kuriame gaunami duomenys apie demografinius rodiklius (lytis, amžius), antropometrinius rodiklius (ūgis, svoris, pilvo ir klubų apimtis), duomenys apie ligą (paciento amžius ligos pradžios metu, ligos trukmė, eiga, stadija), duomenys apie gretutines ligas ir vartojamus vaistus (sergančius šeimos narius, rizikos veiksnius, medikamentus), taip pat bus renkami ligos istorijose esantys duomenys apie atliktus elektrofiziologinius vaizdinius tyrimus ligos diagnozei pagrįsti. Klausimyne užrašyta informacija bus koduota, remiantis ja nebus įmanoma tiesiogiai nustatyti Jūsų tapatybės. Klausimyno pildymas užtruks apie 5–10 min.

Jums bus atliekamas klajoklio nervo ultragarsinis tyrimas, kurio metu, gulint ant nugaros, atlošus galvą, ultragarso daviklis (CE 0086) bus dedamas ant kaklo, pateptas standartiniu geliu, reikalingu vaizdo raiškai pagerinti, ir matuojamas klajoklio nervo skersmuo, kartu toje pačioje galvos padėtyje išmatuojamas ir diafragminio nervo skersmuo.

Jums bus atliekamas Holterio monitoravimas 24 val. Naudojamas licenzijuotas Holterio aparatas.

Jei sergate šonine amiotrofine skleroze Jums bus atliekama spirometrija. Spirometrija tai oro tūrio bei greičio matavimas iškvėpimo ir įkvėpimo metu.

### **11. Ar dalyvavimas biomediciniame/ klinikiname vaistinio preparato tyrime Jums bus naudingas? / Kokios naudos galite tikėtis dalyvaudami šiame tyrime?**

Dalyvavimas biomediciniame tyrime Jums bus naudingas, kadangi kiekvienam tiriamajam bus atliekamas ultragarsinis klajoklio ir diafragminio nervo tyrimas (šie tyrimai kasdienėje klinikinėje praktikoje pacientams sergantiems neurodegeneracinėmis ligomis šiuo metu nėra atliekami) ir įvertinti galimi nervo struktūros pokyčiai. Taip pat bus atliekamas Holterio monitoravimas ir įvertinamas širdies dažnis bei galimi jo pokyčiai.

ŠAS pacientams atliekama spirmotrija, kuri padės įvertinti ventiliacinę paciento plaučių funkciją, galimą plaučių obstrukcijos laipsnį ir kvėpavimo raumenų funkciją.

### **12. Kokia su dalyvavimu šiame tyrime susijusi rizika ir nepatogumai?**

Dalyvaudami šiame tyrime Jūs galite patirti nepatogumų, susijusių su sugaištu laiku, atliekant papildomus neintervencinius tyrimus, bei su sveikatos duomenų tvarkymu susijusia rizika. Atliekami tyrimai yra saugūs, neinvaziniai.

Jei dėl nenumatytų aplinkybių (*force majeure* ar nenugalima jėga, trečiųjų asmenų nusikalstamos veiklos ar pasikeitus pandeminei situacijai), kurios tyrėjui nėra žinomos ir kurioms įtakos tyrėjas negali daryti, konfidenciali informacija taptų prieinama tretiesiems asmenims, kuriems ją suteikti nebuvote davęs sutikimo, tyrėjas iš karto Jus apie tai informuos. Tačiau tyrėjas visais būdais stengsis užtikrinti, kad Jūsų asmens duomenys, tvarkomi šio biomedicininio tyrimo tikslu, nebūtų prieinami tretiesiems asmenims, kuriems jos suteikti nebuvote davęs sutikimo ir įgyvendins duomenų saugumo priemones, skirtas apsaugoti asmens duomenis nuo atsitiktinio ar neteisėto atskleidimo, taip pat nuo bet kokio kito neteisėto tvarkymo.

### **13. Jei atsitiktų kas nors negero? (Informacija apie draudimą)**

Šio biomedicininio tyrimo metu bus taikomi tik neintervenciniai tyrimo metodai, kurie nesukelia rizikos Jūsų sveikatai, todėl biomedicininis tyrimas nėra apdraustas biomedicininio tyrimo užsakovų ir pagrindinių tyrėjų civilinės atsakomybės draudimu.

**14. Kokias pasirinkimo galimybes turėsite, jeigu nesutiksite dalyvauti šiame tyrime arba atšauksite sutikimą jame dalyvauti?**

Jei nuspręsite pasitraukti iš tyrimo šiam nepasibaigus, tyrėjas pateiks ir paprašys parašyti laisvos formos atsisakymo prašymą. Turite teisę atsisakyti dalyvauti tyrime, nenurodydamas priežasčių ir motyvų.

**15. Ar galėsite nutraukti dalyvavimą tyrime?**

Tyrimo gydytojas ar užsakovas bei tyrimą finansuojanti institucija turi teisę bet kuriuo metu sustabdyti tyrimą ar Jūsų dalyvavimą jame. Jūs nebegalėsite dalyvauti tyrime, jei nesilaikysite tyrėjų nurodymų.

**16. Jūsų dalyvavimo tyrime nutraukimo aplinkybės ir kriterijai**

Tyrimo dalyvaujate savanoriškai, todėl turite teisę atsisakyti, o pradėjęs galite bet kada iš jo pasitraukti. Jūsų sprendimas atsisakyti dalyvauti ar nutraukti dalyvavimą tyrime nedarys jokios įtakos teikiamai įprastinei sveikatos priežiūrai. Sutikimo atšaukimo atveju biomedicinininių tyrimų rezultatai, t. y. biomedicininio tyrimo dokumentuose iki sutikimo dalyvauti biomedicinininiame tyrime atšaukimo įrašyti duomenys, bus naikinami. Taip pat, jei dėl bet kokių priežasčių būsite pripažintas neveiksnius, bus apribotas jūsų veiksnumas ar jei jūs dėl sveikatos būklės negalėsite būti laikomas gebančiu protingai vertinti savo interesus, ir norėsite atšaukti savo sutikimą, į tai bus atsižvelgta, bet teisiškai šį sprendimą priims sutuoktinis, jeigu jo nėra – vienas iš tėvų, pilnamečių vaikų, globėjas ar rūpintojas; taip pat, esant šioms išvardintoms aplinkybėms, teisę atšaukti jūsų sutikimą dalyvauti tyrime taip pat turės jūsų atstovai pagal Pacientų teisių įstatymą.

**17. Ar dalyvavdami šiame tyrime patirsite kokių nors išlaidų?**

Už dalyvavimą biomedicinininiuose tyrimuose atlygis nėra mokamas. Dalyvavdami šiame tyrime negausite finansinės naudos, tačiau Jums nemokamai bus atliekamas autonominės nervų sistemos įvertinimui skirtas klausimynas (angl. COMPASS-31), padedantis išsiaiškinti galimas autonominės (vegetacinės – įnervuojančio vidaus organus ir nepriklausančios nuo valios) nervų sistemos sutrikimus, klajoklio ir diafragminio nervo ultragarsinis tyrimas, Holterio 24 val. monitoravimas, spirometrijos tyrimas pacientams sergantiems ŠAS.

**18. Ar Jūsų asmens duomenys bus konfidencialūs?**

Biomedicininį tyrimą atliekant gauta sveikatos informacija, leidžianti nustatyti asmens tapatybę, yra konfidenciali ir gali būti teikiama tik pacientų teises ir asmens duomenų apsaugą reglamentuojančių įstatymų nustatyta tvarka. Duomenų valdytojas yra Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, įmonės kodas 302536989, adresas: A. Mickevičiaus g. 9. LT-44307 Kaunas, Lietuva. Siekiant apsaugoti duomenų konfidencialumą, Jums bus suteiktas specialus kodas, kuris bus nurodomas visuose dokumentuose, išskyrus sutikimo formą (šiuo dokumente bus nurodyti Jūsų asmeniniai duomenys). Kompiuteriai, kuriuose saugomi elektroniniai tyrimo dokumentai ir duomenys, apsaugoti slaptažodžiu. Prisijungimo kodas žino tik tyrėjai, šie duomenys atnaujinami kas mėnesį. Dokumentai saugomi rakinamoje spintoje, kurios raktą turi tik tyrėjai. Jei sutiksite dalyvauti šiame tyrime, gydytojas tyrėjas ir tyrimo darbuotojai naudos tyrimui atlikti reikalingus Jūsų asmeninius duomenis. Duomenys bus renkami remiantis Jūsų pateikta informacija bei gydymo įstaigoje saugomais medicininiais dokumentais. Atliekant šį tyrimą gauta sveikatos informacija nelaikoma konfidencialia ir gali būti paskelbta be Jūsų sutikimo, jeigu ją paskelbus nebus galima tiesiogiai ar netiesiogiai nustatyti Jūsų tapatybės.

### **19. Kas ir kokių tikslu galės susipažinti su Jūsų asmens duomenimis?**

Pasirašydami šią formą sutinkate, kad tyrimo centro tyrėjai, tyrimus kontroliuojančios institucijos (tokios kaip etikos komitetai) ir įgalioti tyrimo užsakovo (Lietuvos sveikatos mokslų universiteto) tyrimą prižiūrintys asmenys galės susipažinti su visa šio tyrimo tikslais apie Jus surinkta informacija. Kitiems asmenims ar įmonėms bus teikiami tik užkoduoti sveikatos duomenys, neleidžiantys tiesiogiai nustatyti Jūsų tapatybės. („Užkoduoti“ reiškia, kad dokumentuose bus nurodomas ne Jūsų vardas ir pavardė, o specialus numeris, kurį susieti su Jūsų asmeniu galės tik gydytojas tyrėjas). Surinktus duomenis tyrimo gydytojai naudos tik šio biomedicininio tyrimo tikslais. Užsakovas užkoduotus sveikatos duomenis gali naudoti atlikdamas tyrimą, pateikdamas prašymus dėl mokslinio tyrimo, diagnostikos ar norėdamas kurti medicinines priemones.

Jūs turite teisę sužinoti, kokie duomenys buvo surinkti, taip pat galite reikalauti ištaisyti ar sustabdyti savo asmens duomenų tvarkymo veiksmus, jei nuspręsite pasitraukti iš tyrimo anksčiau numatyto laiko.

### **20. Kiek laiko bus saugomi tyrimo metu surinkti duomenys ir kas už tai bus atsakingas?**

Visa informacija bus užrašoma specialiai klinikiniam tyrimui sudaromuose elektroniniuose ir popieriniuose dokumentuose ir tyrimo centre saugoma 2 metus pasibaigus tyrimui. Tiek laiko saugoti duomenis įpareigoja užsakovo nustatyta tvarka siekiant užtikrinti duomenų kokybę ir kontrolę. Vėliau Jūsų asmens duomenys bus sunaikinti tyrimo centro nustatyta tvarka. Už dokumentų saugojimą tyrimo centre bus atsakingas pagrindinis tyrėjas.

### **21. Kas įvertino šį biomedicininį /klinikinį vaistinio preparato tyrimą? / Į ką kreiptis, jeigu iškiltų klausimų?**

Dėl savo kaip tyrimo dalyvio teisių galite kreiptis į leidimą atlikti šį biomedicininį tyrimą išdavusį Kauno regioninį biomedicininių tyrimų etikos komitetą, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, A. Mickevičiaus g. 9, LT-44307 Kaunas, tel. 8 37 326889, el. paštas: kaunorbtek@lsmuni.lt.

Jeigu turite klausimų dėl Jūsų asmens duomenų tvarkymo, kreipkitės į tyrėją. Tyrėjas Jūsų paklausimą gali perduoti asmeniui, atsakingam už asmens duomenų apsaugą (duomenų apsaugos pareigūnui).

Šį biomedicininį tyrimą atliekančių institucijų duomenų apsaugos pareigūnų kontaktai:

Tyrimo centro duomenų apsaugos pareigūnas: Tomas Kuzmarskas telefono ryšio numeris: +370 37 326268, el. pašto adresas: tomas.kuzmarskas@kauno.klinikos.lt, darbo vietos adresas: Kaunas, Eivenių g. 2.

Tyrimo užsakovo duomenų apsaugos pareigūnas: Tomas Kuzmarskas telefono ryšio numeris: +370 37 326268, el. pašto adresas: tomas.kuzmarskas@kauno.klinikos.lt, darbo vietos adresas: Kaunas, Eivenių g. 2.

Jūs turite teisę pateikti skundą dėl asmens duomenų tvarkymo Valstybinei duomenų apsaugos inspekcijai. Skundą galite pateikti paštu (adresu: L. Sapiegos g. 17, LT-10312 Vilnius) arba naudodamiesi Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos elektroninių paslaugų sistema: /go.php/lit/Prisijungti/37L. Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos kontaktinis telefono numeris 0 5 2127532, el. paštas: ada@ada.lt.

## 22. Kita svarbi informacija, kuri gali turėti įtakos Jūsų apsisprendimui sutikti ar atsisakyti dalyvauti biomediciniame/ klinikiniame vaistinio preparato tyrime.

Sutikdami dalyvauti tyrime Jūs prisidedate prie neinvazinio klajoklio nervo ultragarsinio tyrimo metodo techninės dalies tobulinimo ir įdiegimo ankstyvai ir diferencinei neurodegeneracinių ligų diagnostikai, kurie yra aktualūs visuomenės sveikatos labai, klinikinės praktikos bei mokslo aspektais.

### SUTIKIMAS DALYVAUTI BIOMEDICININIAME / KLINIKINIAME VAISTINIO PREPARATO TYRIME

Aš perskaičiau šią Informuoto asmens sutikimo formą ir supratau man pateiktą informaciją.

Man buvo suteikta galimybė užduoti klausimus ir gavau mane tenkinančius atsakymus.

Supratau, kad galiu bet kada pasitraukti iš tyrimo, nenurodydama(s) priežasčių<sup>2</sup>.

Supratau, kad asmuo, dėl kurio dalyvavimo biomediciniame tyrime aš duodu sutikimą, gali bet kada pasitraukti iš tyrimo, nenurodydamas priežasčių.<sup>3</sup>

Supratau, kad norėdama(s) atšaukti sutikimą dalyvauti biomediciniame tyrime, raštu turiu apie tai informuoti tyrėją/kitą jo įgaliotą biomedicininį tyrimą atliekantį asmenį.

Patvirtinu, kad turėjau užtektinai laiko apsvarstyti man suteiktą informaciją apie biomedicininį tyrimą. Supratau, kad dalyvavimas šiame tyrime yra savanoriškas.

Patvirtinu, kad sutikimą dalyvauti šiame biomediciniame tyrime duodu laisva valia.

Leidžiu naudoti asmens duomenis ta apimtimi ir būdu, kaip nurodyta Informuoto asmens sutikimo formoje.

Patvirtinu, kad gavau Informuoto asmens sutikimo formos egzempliorių, pasirašytą tyrėjo/ kito jo įgalioto biomedicininį tyrimą atliekančio asmens.

#### Asmuo (ar kitas sutikimą turintis teisę duoti asmuo)

_____	_____	_____	_____	_____	_____
vardas	pavardė	atstovavimo pagrindas	parašas	pasirašymo data	pasirašymo laikas

Patvirtinu, kad suteikiau informaciją apie biomedicininį tyrimą aukščiau nurodytam asmeniui.

Patvirtinu, kad asmeniui (ar kitam sutikimą duoti turinčiam teisę asmeniui) buvo skirta pakankamai laiko apsispręsti dalyvauti biomediciniame tyrime, atsižvelgiant į biomedicininio tyrimo pobūdį, taip pat įvertinus kitas aplinkybes, galinčias daryti įtaką priimamam sprendimui.

Aš skatinau asmenį (ar kitą sutikimą turintį teisę duoti asmenį) užduoti klausimus ir į juos atsakiau.

#### Tyrėjas ar kitas jo įgaliotą biomedicininį tyrimą atliekantis asmuo

_____	_____	_____	_____	_____	_____
vardas	pavardė	atstovavimo pagrindas	parašas	pasirašymo data	pasirašymo laikas

<sup>2</sup> Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda pats asmuo.

<sup>3</sup> Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda kitas asmuo.

DEMOGRAFINIŲ IR KLINIKINIŲ CHARAKTERISTIŲ ANKETA „PL“

Tiriamąjį kodas: \_\_\_\_\_

1. Lytis:  
 Vyras  
 Moteris
2. Amžius \_\_\_\_\_ m
3. Ūgis \_\_\_\_\_ cm
4. Svoris \_\_\_\_\_ kg
5. KMI \_\_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup>
6. Liemens apimtis \_\_\_\_\_ cm
7. Klubų apimtis \_\_\_\_\_ cm
8. Parkinsono ligos trukmė? \_\_\_\_\_ m
9. Dominuojanti ranka  
 Dešinė  
 Kairė
10. Pusė, nuo kurios prasidėjo Parkinsono ligos simptomai?  
 Dešinė  
 Kairė
11. Dominuojantis Parkinsono ligos simptomas:  
 Tremoras  
 Sustingimas  
 Eisena  
 Posturalinis nestabilumas (bloga pusiausvyra, kritimai)  
 Bradikinezija (judesių lėtumas)
12. Šiuo metu vartojami vaistai, skirti Parkinsono ligai gydyti  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
13. Levodopos ekvivalentinė dozė (LED):
14. Gretutinės ligos (depresija, skydliaukės ligos, žarnyno ligos, urologinės ligos (prostata), kitos neurologinės ligos, onkologiniai susirgimai...)  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

15. Kiti vartojami vaistai (ne Parkinsono ligos gydymui)?

---

---

16. Ortostazės mėginys:

Teigiamas

Neigiamas

### ULTRAGARSINIŲ TYRIMŲ REZULTATAI

**Klajoklio nervo matavimo rezultatai:**

	O	Dešinė	T	O	Kairė	T
Klajoklio nervo storis						
Homogeniškumas (Homo-Hetero)						
Echogeniškumas (Hipo-Izo-Hiper)						

**Diafragmos nervo matavimo rezultatai:**

	O	Dešinė	T	O	Kairė	T
Diafragmos nervo storis						
Homogeniškumas (Homo-Hetero)						
Echogeniškumas (Hipo-Izo-Hiper)						

### HOLTERIO MONITORAVIMAS

---

### UOSLĖS TESTAS

**Prašome pažymėti kvapo pasirinkimą:**

1.	Apelsinas	Alyvos	Žemuogė	Ananasas
2.	Alus	Benzinas	Galanterinė oda	Šienas
3.	Medus	Vanilė	Šokoladas	Cinamonas
4.	Česnakas	Pipirmėtė	Eglė	Svogūnas
5.	Braškė	Bananas	Agurkas	Sūris
6.	Kumpis	Obuolys	Citrina	Šokoladas
7.	Saldymedis / anyžius	Apelsinas	Mėta	Alus
8.	Cigaretė	Kava	Vynas	Dūmai
9.	Gvazdikėliai	Česnakas	Cinamonas	Petražolė
10.	Kriaušė	Svogūnas	Liepa	Ananasas
11.	Šokoladas	Avietė	Rožė	Vyšnia
12.	Duona	Žuvis	Sūris	Kumpis

### UPLRS – V. Modifikuota Hoehn ir Yahr stadijų skalė

0 stadija	Ligos požymių nėra.
1 stadija	Ligos simptomai vienoje kūno pusėje.
1,5 stadija	Vienpusiai ir aksialiniai (ašiniai) simptomai.
2 stadija	Ligos simptomai abiejose kūno pusėse, be pusiausvyros sutrikimo.
2,5 stadija	Lengvo laipsnio abipusė liga, pacientui išsilaikant pastūmimo mėginio metu.
3 stadija	Lengvo – vidutinio laipsnio abipusė liga su posturaliniu nestabilumu, pacientas fiziškai nepriklausomas.
4 stadija	Sunki invalidizacija; dar gali eiti ar atsistoti be pagalbos.
5 stadija	Be pagalbos nepasikelia iš lovos ar vežimėlio.

DEMOGRAFINIŲ IR KLINIKINIŲ CHARAKTERISTIKŲ ANKETA „ŠAS“

Tiriamąjį kodas: \_\_\_\_\_

1. Tyrimo data: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_
2. Lytis:  
 Vyras  
 Moteris
3. Amžius \_\_\_\_\_ m
4. Ūgis \_\_\_\_\_ cm
5. Svoris \_\_\_\_\_ kg
6. KMI \_\_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup>
7. Liemens apimtis \_\_\_\_\_ cm
8. Klubų apimtis \_\_\_\_\_ cm
9. Kada atsirado pirmieji ligos simptomai? \_\_\_\_\_
10. Amžius ligos pradžioje (diagnozės nustatymo metu): \_\_\_\_\_
11. Ligos trukmė: \_\_\_\_\_
12. Simptomai (klinikinė išraiška) ligos pradžioje:  
 Centrinio motorinio neurono pažeidimo požymiai \_\_\_\_\_  
 Bulbarinio/pseudobulbarinio pažeidimo požymiai \_\_\_\_\_  
 Periferinio motorinio neurono pažeidimo požymiai \_\_\_\_\_  
 Mišraus pažeidimo požymiai \_\_\_\_\_
13. Ar giminėje yra sergančių motorinio neurono liga ar kitomis neurodegeneracinėmis ligomis?  
 Taip  
 Ne
14. Gretutinės ligos (plaučių ligos, endokrininės ligos (CD, skydliaukės ligos), polineuropatija, neurodegeneracinės ligos ir kitos): \_\_\_\_\_
15. Vartojami vaistai: \_\_\_\_\_
16. Ar skiriamas specifinis (neuroprotekcinis, ligo eiga modifikuojantis) gydymas Riluzoliu?  
 Taip  
 Ne

17. Elektroneuromiografijos duomenys:
- Diafragmos nervo abipus laidumas (aksono būklė): \_\_\_\_\_
    - Dešinė: \_\_\_\_\_
    - Kairė: \_\_\_\_\_
  - Raumenyse registruojamos fascikuliacijos:
    - Dešinė ranka: \_\_\_\_\_
    - Kairė ranka: \_\_\_\_\_
    - Dešinė koja: \_\_\_\_\_
    - Kairė koja: \_\_\_\_\_
    - Kitur (trapecinis raumuo ir/ar smakrinis raumuo): \_\_\_\_\_
  - Raumenyse registruojami ūmios denervacijos simptomai (fibriliacijos, teigiamos aštrios bangos):
    - Dešinė ranka: \_\_\_\_\_
    - Kairė ranka: \_\_\_\_\_
    - Dešinė koja: \_\_\_\_\_
    - Kairė koja: \_\_\_\_\_
    - Kitur (trapecinis raumuo ir/ar smakrinis raumuo): \_\_\_\_\_
18. Spirometrija: \_\_\_\_\_
19. Kvėpavimo raumenų jėga: \_\_\_\_\_
20. Arterinės kraujo dujos: \_\_\_\_\_
21. Krūtinės ląstos rentgenograma: \_\_\_\_\_
22. ŠSD variabilumas: \_\_\_\_\_
23. ALSFRS-R skalės balas: \_\_\_\_\_

#### KLAJOKLIO NERVO ULTRAGARSINIO TYRIMO DUOMENYS

##### Klajoklio nervo matavimo rezultatai:

	O	Dešinė	T	O	Kairė	T
Klajoklio nervo storis						
Homogeniškumas (Homo-Hetero)						
Echogeniškumas (Hipo-Izo-Hiper)						

##### Diafragmos nervo matavimo rezultatai:

	O	Dešinė	T	O	Kairė	T
Diafragmos nervo storis						
Homogeniškumas (Homo-Hetero)						
Echogeniškumas (Hipo-Izo-Hiper)						

#### HOLTERIO MONITORAVIMAS

### COMPASS-31 KLAUSIMYNAS

1. Ar per pastaruosius metus jautėte galvos svaigimą, pojūtį lyg tuoj apalpsite, turėjote sunkumų greitai atsisėdus ar atsistojus iš gulimos padėties?  
 Taip  
 Ne (jei pažymėjote Ne, pereikite prie 5 klausimo)
2. Kaip dažnai Jums pasireiškia minėti simptomai atsistojus?  
 Retai  
 Retkarčiais  
 Dažnai  
 Beveik visada
3. Kaip apibūdintumėte šių simptomų sunkumą?  
 Nežymūs  
 Vidutiniai  
 Žymūs
4. Per pastaruosius metus minėti simptomai:  
 Ženkliai sustiprėjo  
 Nežymiai sustiprėjo  
 Nepakito  
 Nežymiai pagerėjo  
 Labai pagerėjo  
 Visiškai išnyko
5. Ar per pastaruosius metus pastebėjote odos spalvos pokyčius (raudona, balta, violetinė)?  
 Taip  
 Ne (jei pažymėjote Ne, pereikite prie 8 klausimo)
6. Kokiose kūno vietose pastebėjote odos spalvos pokyčius? (pažymėkite visus tinkančius)  
 Rankose  
 Kojose
7. Ar šie odos spalvos pokyčiai:  
 Ženkliai sustiprėjo  
 Nežymiai sustiprėjo  
 Nepakito  
 Nežymiai pagerėjo  
 Labai pagerėjo  
 Visiškai išnyko
8. Kokie Jūsų kūno prakaitavimo pokyčiai, jeigu jie atsirado, per pastaruosius 5 metus?  
 Prakaitavimas žymiai gausesnis nei anksčiau  
 Prakaitavimas nežymiai gausesnis nei anksčiau  
 Nepastebėjau prakaitavimo pokyčių  
 Prakaitavimas kiek mažesnis nei anksčiau  
 Prakaitavimas žymiai mažesnis nei anksčiau
9. Ar jaučiate ryškų akių sausumą?  
 Taip  
 Ne

10. Ar jaučiate ryškų burnos sausumą?  
 Taip  
 Ne
11. Jei skundžiatės akių ar burnos sausumu, ar simptomas, kuris vargina ilgiau:  
 Neturiu nei vieno iš šių simptomų  
 Ženkliai sustiprėjo  
 Nežymiai sustiprėjo  
 Nepakito  
 Kiek pagerėjo  
 Labai pagerėjo  
 Visiškai išnyko
12. Ar per pastaruosius metus pastebėjote pilnumo pojūtį pavalgius?  
 Pilnumo jausmas atsiranda žymiai greičiau nei anksčiau  
 Pilnumo jausmas atsiranda kiek greičiau nei anksčiau  
 Nepastebėjau pilnumo po valgio pokyčių  
 Pilnumo jausmas atsiranda kiek lėčiau nei anksčiau  
 Pilnumo jausmas atsiranda žymiai lėčiau nei anksčiau
13. Ar per pastaruosius metus jautėte žymesnį pilvo pūtimo jausmą po valgio?  
 Niekada  
 Kartais  
 Dažniausiai
14. Ar per pastaruosius metus vėmėte po valgio?  
 Niekada  
 Kartais  
 Dažniausiai
15. Ar per pastaruosius metus jautėte pilvo skausmus (spazminius, kolikos pobūdžio)?  
 Niekada  
 Kartais  
 Dažniausiai
16. Ar per pastaruosius metus buvo viduriavimo epizodų?  
 Taip  
 Ne (jei pažymėjote Ne, pereikite prie 20 klausimo)
17. Kaip dažnai viduriavimo epizodai pasireiškia?  
 Retai  
 Retkarčiais  
 Dažnai \_\_\_\_\_ k./mėn.  
 Nuolat
18. Ar sunkūs šie viduriavimo epizodai?  
 Lengvi  
 Vidutiniai  
 Sunkūs

19. Ar viduriavimo epizodai tampa:
- Žymiai sunkesni
  - Nežymiai sunkesni
  - Nesikeičia
  - Kiek lengvesni
  - Žymiai lengvesni
  - Visiškai išnyko
20. Ar per pastaruosius metus buvo vidurių užkietėjimas?
- Taip
  - Ne (jei pažymėjote Ne, pereikite prie 24 klausimo)
21. Kaip dažnai vidurių užkietėjimo epizodai pasireiškia?
- Retai
  - Retkarčiais
  - Dažnai \_\_\_\_\_ k./mėn.
  - Nuolat
22. Ar sunkūs šie vidurių užkietėjimo epizodai?
- Lengvi
  - Vidutiniai
  - Sunkūs
23. Ar vidurių užkietėjimo epizodai tampa:
- Žymiai sunkesni
  - Nežymiai sunkesni
  - Nesikeičia
  - Kiek lengvesni
  - Žymiai lengvesni
  - Visiškai išnyko
24. Ar per pastaruosius metus pasitaikė šlapimo nesulaikymo epizodų?
- Niekada
  - Retkarčiais
  - Dažnai \_\_\_\_\_ k./mėn.
  - Nuolat
25. Ar per pastaruosius metus pasitaikė sunkumo šlapintis epizodų?
- Niekada
  - Retkarčiais
  - Dažnai \_\_\_\_\_ k./mėn.
  - Nuolat
26. Ar per pastaruosius metus pasitaikė sunkumo pilnai pasišlapinti epizodų?
- Niekada
  - Retkarčiais
  - Dažnai \_\_\_\_\_ k./mėn.
  - Nuolat

27. Ar per pastaruosius metus jautėte, kad ryški šviesa erzintų / vargintų akis, esant be akinių nuo saulės ar akinių tamsintais stiklais?
- Niekada (jei pažymėjote Niekada, pereikite prie 29 klausimo)
  - Retkarčiais
  - Dažnai
  - Nuolat
28. Ar jautrumas ryškiai šviesai žymus?
- Nežymus
  - Vidutinis
  - Žymus
29. Ar per pastaruosius metus turėjote sunkumų ryškiai matyti (fokusuoti žvilgsnį)?
- Niekada (jei pažymėjote Niekada, pereikite prie 31 klausimo)
  - Retkarčiais
  - Dažnai
  - Nuolat
30. Ar sunkumas ryškiai matyti žymus?
- Nežymus
  - Vidutinis
  - Žymus
31. Ar labiausiai Jus varginantis akių simptomas (jautrumas ryškiai šviesai, sunkumas fokusuoti žvilgsnį) tampa:
- Neturiu nei vieno iš šių simptomų
  - Ženkliai sustiprėjo
  - Nežymiai sustiprėjo

ALSFRS-R skalė

ŠAS Funkcinės Būklės Vertinimo Skalė – Patikslinta (ALS-FRS-R)

Data: \_\_\_\_\_

Paciento vardas, pavardė: \_\_\_\_\_

Gimimo data: \_\_\_\_\_

Paciento numeris: \_\_\_\_\_

Dominuojanti ranka (deš./kair.): \_\_\_\_\_

**1. Kalba**

- 4 – Normali kalba
- 3 – Pastebimas kalbos sutrikimas
- 2 – Suprantama tik kartojant
- 1 – Kalba kartu su neverbaline komunikacija
- 0 – Naudingos kalbos praradimas

**2. Seilėtekis**

- 4 – Normalus
- 3 – Nedidelis, bet aiškus seilių perteklius; gali būti naktinis seilėtekis
- 2 – Vidutinis seilių perteklius; minimalus seilėtekis dienos metu
- 1 – Ryškus seilių perteklius su seilėtekiu
- 0 – Nuolatinis seilėtekis; reikalinga servetėlė ar nosinė

**3. Rijimas**

- 4 – Normalūs valgymo įpročiai
- 3 – Ankstyvi valgymo sutrikimai – retkarčiais springsta
- 2 – Reikalingas maisto konsistencijos pakeitimas
- 1 – Reikalingas papildomas maitinimas zondų
- 0 – Maitinimas tik parenteriniu ar enteriniu būdu (NPO)

**4. Rašymas**

- 4 – Normalus
- 3 – Lėtas ar netvarkingas, bet visi žodžiai įskaitomi
- 2 – Ne visi žodžiai įskaitomi
- 1 – Gali laikyti rašiklį, bet negali rašyti
- 0 – Negali laikyti rašiklio

**5A. Maisto pjaustymas ir įrankių naudojimas (be gastrostomos)**

- 4 – Normalu
- 3 – Šiek tiek lėtas ir nerangus, bet pagalbos nereikia
- 2 – Gali supjaustyti daugumą maisto (>50 proc.), bet lėtai; reikia šiek tiek pagalbos
- 1 – Maistą turi supjaustyti kitas asmuo, bet gali valgyti lėtai pats
- 0 – Reikia maitinti

- 5B. Maisto pjaustymas ir įrankių naudojimas (su gastrostoma, jei > 50 proc. maitinama per zondą)**
- 4 – Normalu
  - 3 – Nerangus, bet visas manipuliacijas atlieka savarankiškai
  - 2 – Reikia pagalbos su užsegimais ir tvirtinimais
  - 1 – Suteikia minimalią pagalbą slaugytojui
  - 0 – Negali atlikti jokios užduoties dalies
- 6. Apsirengimas ir higiena**
- 4 – Normali funkcija
  - 3 – Savarankiškas ir pilnas apsitarnavimas, bet su pastangomis ar lėčiau
  - 2 – Reikalinga dalinė pagalba arba pakaitiniai metodai
  - 1 – Reikalinga nuolatinė pagalba apsitarnaujant
  - 0 – Visiška priklausomybė
- 7. Vertimasis lovoje ir patalynės tvarkymas**
- 4 – Normali funkcija
  - 3 – Šiek tiek lėtas ir nerangus, bet pagalbos nereikia
  - 2 – Gali apsiversti ar pakoreguoti patalynę, bet su dideliais sunkumais
  - 1 – Gali inicijuoti judesį, bet negali apsiversti ar pakoreguoti patalynės vienas
  - 0 – Bejėgis
- 8. Ėjimas**
- 4 – Normalus
  - 3 – Ankstyvi vaikščiojimo sunkumai
  - 2 – Vaikšto su pagalba
  - 1 – Nevaikšto, bet yra funkciniai kojų judesiai
  - 0 – Nėra tikslingų kojų judesių
- 9. Dusulys**
- 4 – Nėra
  - 3 – Atsiranda vaikstant
  - 2 – Atsiranda atliekant vieną ar daugiau veiklų: valgant, maudantis, rengiantis
  - 1 – Atsiranda ramybėje (sėdint ar gulint)
  - 0 – Ryškus dusulys; svarstoma mechaninė kvėpavimo pagalba
- 10. Ortopnėja**
- 4 – Nėra
  - 3 – Nedidelis kvėpavimo apsunkimas naktį; paprastai nereikia daugiau nei dviejų pagalvių
  - 2 – Reikia daugiau nei dviejų pagalvių
  - 1 – Gali miegoti tik sėdimose padėtyje
  - 0 – Negali miegoti be mechaninės pagalbos
- 11. Kvėpavimo nepakankamumas**
- 4 – Nėra
  - 3 – Protarpinis BiPAP naudojimas
  - 2 – Nuolatinis BiPAP naudojimas naktį
  - 1 – Nuolatinis BiPAP naudojimas dieną ir naktį
  - 0 – Invazinė mechaninė ventiliacija (intubacija ar tracheostomija).

All of your articles are published in an Open Access journals. That means that articles are licensed under an open access Creative Commons CC BY 4.0 license and copyright is retained by the authors.



Article

## Sonographic Phrenic Nerve Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis

Ovidijus Laucius \*, Justinas Drūteika, Renata Balnytė, Kęstutis Petrikonis, Miglė Ališauskienė and Antanas Vaitkus

Department of Neurology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, 44307 Kaunas, Lithuania  
\* Correspondence: ovidijus.laucius@lsmu.lt; Tel.: +370-64313553

**Abstract:** Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease that affects both the upper and lower motor neurons in the nervous system, causing muscle weakness and severe disability. The progressive course of the disease reduces the functional capacity of the affected patients, limits daily activities, and leads to complete dependence on caregivers, ultimately resulting in a fatal outcome. Respiratory dysfunction mostly occurs later in the disease and is associated with a worse prognosis. Forty-six participants were included in our study, with 23 patients in the ALS group and 23 individuals in the control group. The ultrasound examination of the phrenic nerve (PN) was performed by two authors using a high-resolution “Philips EPIQ 7” ultrasound machine with a linear 4–18 MHz transducer. Our study revealed that the phrenic nerve is significantly smaller on both sides in ALS patients compared to the control group ( $p < 0.001$ ). Only one significant study on PN ultrasound in ALS, conducted in Japan, also showed significant results ( $p < 0.00001$ ). These small studies are particularly promising, as they suggest that ultrasound findings could serve as an additional diagnostic tool for ALS.

**Keywords:** phrenic; nerve; sonography; structural changes



**Citation:** Laucius, O.; Drūteika, J.; Balnytė, R.; Petrikonis, K.; Ališauskienė, M.; Vaitkus, A. Sonographic Phrenic Nerve Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Medicina* **2023**, *59*, 1745. <https://doi.org/10.3390/medicina59101745>

Academic Editor: Dejan Jakimovski

Received: 20 August 2023  
Revised: 19 September 2023  
Accepted: 25 September 2023  
Published: 29 September 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### 1. Introduction

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease that affects upper and lower motor neurons, resulting in muscle weakness, severe disability, and ultimately, a fatal outcome [1–3]. The cause of ALS remains unknown for most individuals affected by the disease. Sporadic cases account for 90–95% of all cases, while genetic factors are confirmed in 5–10% [4,5]. Recent data shows that the incidence varies from 0.6 to 3.8 cases per 100,000 population, with a global incidence of approximately 1.6–1.76 cases per 100,000 population [5–8]. The main ALS center in Lithuania, located in the Hospital of the Lithuanian University of Health Sciences Kaunas Clinics, identifies approximately 20 new cases per year. ALS can occur at any age, but the incidence increases with each decade, particularly after the age of 40. The disease is most commonly diagnosed in older patients, with a peak age at the time of diagnosis of 51–66 years [9–11]. In all age groups, there is a higher occurrence of ALS in men compared to women. The peak in men is 85–89 years, while for women, it is 80–84 years. Multiple pathophysiological mechanisms are believed to contribute to motor neuron degeneration [12]. Due to various pathogenic factors, ALS presents with a wide range of clinical features and symptoms, making the diagnosis complex and challenging [13]. The diagnosis of ALS is based on clinical criteria and monitoring the progression of the disease. Additional tests can help avoid diagnostic errors and provide further insights into the disease. While respiratory muscle weakness is only observed as the initial symptom in a small number of ALS patients [14], respiratory dysfunction occurs later in the disease course and is associated with a poorer prognosis [15]. Gradual loss of phrenic nerve (PN) function leads to weakness, paralysis, and ultimately the death of the patient [16]. Studies using ultrasound and PN conduction can aid in assessing respiratory function and predicting patient survival [17–20].

Despite the advancements in innovative technologies and the current diagnostic capabilities in laboratories and instrumental methods, the existing diagnostic methods for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) do not always ensure early detection, given the complexity of the diagnosis process resulting from a heterogeneous range of clinical symptoms. These factors drive the search for new and simpler diagnostic methods.

We raised the hypothesis that motor nerve size reduction in ultrasound could be one of the first signs in the diagnosis of ALS. There is still limited data and debate regarding which nerves are the most specific and sensitive to be examined by ultrasound. We hope that, due to the affected respiratory function, the PN might be the first damaged nerve in ALS disease. PN ultrasound and conduction studies provide hope that structural changes observed through PN ultrasound may become a diagnostic tool for determining ALS disease and evaluating respiratory function. This could enable more effective patient monitoring and care.

We hypothesize that changes of phrenic nerve in terms of cross-sectional area (CSA), as well as alterations in nerve structure changes such as heterogeneity and in echogenicity, could potentially offer valuable insights and enable early diagnosis and prognosis assessment of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS).

## 2. Materials and Methods

### *Study Subjects and Ethical Statement*

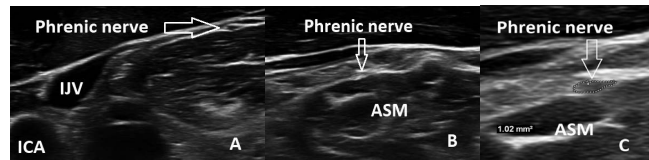
The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and informed consent was obtained from all participants. The study protocol was approved by the Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee, with bioethical permission No. BE-2-40, issued on 17 May 2022. An analysis of scientific literature, medical documentation of participants, as well as laboratory and instrumental research data, was performed.

All participants were enrolled, and the study was conducted at the Department of Neurology of the Lithuanian University of Health Sciences. The participants were divided into two groups: Group 1 consisted of patients with ALS (N = 23), who all met the “Gold Coast” criteria (Shefner et al. 2020). Group 2 served as the control group (N = 23). Each participant underwent an interview and filled out questionnaires to collect clinical and demographic data, including age, gender, height, body mass index (BMI), hip and waist circumference, duration of illness, and ALS-FRS-R score. All participants underwent a PN ultrasound examination. In the control group, patients who matched the age and gender of the ALS patients were invited to participate. The cross-sectional area (CSA) values of the PN in the control group were determined by measuring personal staff members and patients who were over 18 years old. Participants who had signs and symptoms of other neurodegenerative diseases, polyneuropathies, neuromuscular junction disorders, endocrine disorders, oncological diseases, or other concomitant diseases that could affect respiratory function, as well as those taking medications that could affect respiration, were excluded from the study. Both groups were matched by age, gender, height, weight, hip and waist circumference, and BMI.

### 3. Ultrasound Examination

The ultrasound examination of the phrenic nerve was performed by two authors using a high-resolution “Philips EPIQ 7” ultrasound machine with a linear 4–18 MHz transducer (CE 0086). The transducer was placed in a transverse plane above the level of the clavicle in the neck region, at the level of the levator scapulae muscle, where the nerve attaches to the anterior scalene muscle and the neck muscles. In B-mode ultrasound images, a spindle-shaped structure with a hypoechoic appearance and a more hyperechoic periphery was visualized in the connective tissue sheath on the anterior surface of the scalene muscle, which was identified as the PN (Figure 1). To ensure accurate differentiation of the nerve from vascular structures, a Doppler ultrasound mode was used during the examination. During the examination, the quantitative and qualitative characteristics of the PN were

evaluated. The texture of the nerve was assessed based on homogeneity (homogeneous or heterogeneous) and echogenicity (hypoechoic, isoechoic, or hyperechoic). The cross-sectional area of the PN was measured in a transverse plane by tracing the hypoechoic nerve area at the border of hyperechogenicity using the methodology described by Walter et al. (2019). The cross-sectional area was measured by two examiners. Each observer measured one side three times with a 0.01 mm<sup>2</sup> error margin, and the average of the three measurements was calculated. Then, the grand average of each side was determined by the observers. Both examiners were blinded to each other's examination results.



**Figure 1.** (A) Normal phrenic nerve ultrasound in a healthy volunteer. (B) Phrenic nerve ultrasound in an ALS participant. (C) Methodology for measuring the cross-sectional area of the phrenic nerve. ASM—anterior scalene muscle. IJV—internal jugular vein. ICA—internal carotid artery.

#### 4. Statistical Analysis

The data analysis involved the use of both descriptive and comparative statistical analysis methods, namely Microsoft Excel and the IBM SPSS v29 as the statistical software used in the study. Quantitative values within the sample were presented using median, minimum, and maximum values, as well as the mean of the PN area with the standard deviation. Non-parametric tests, such as the Mann–Whitney U test, were used to compare values between groups. Differences in data were analyzed using the Kruskal–Wallis test. Statistical hypotheses were tested, and significant differences and dependencies were defined as  $p < 0.05$ .

#### 5. Results

A total of 46 participants were included in the study, with 23 patients in the ALS group and 23 individuals in the control group. In the ALS group, there were 9 women (39.1%) and 14 men (60.9%). The median age of the ALS group on the day of the PN ultrasound exam was 57 years (range: 31–70). Among the women in the ALS group, the median age was 59 years (range: 31–70), and among the men, the median age was 57 years (range: 46–70). The control group consisted of 11 women (47.8%) and 12 men (52.2%), with a median age of 58 years (range: 46–65) for the entire group. There were no significant differences in age, gender, or anthropometric measures between the study groups ( $p > 0.05$ ). With the Kruskal–Wallis test used, no statistically significant differences were observed between the study groups for any of the variables ( $p > 0.05$ ). The demographic and clinical characteristics of the study groups are presented in Table 1.

Participants in the ALS group were categorized into four different groups based on the clinical form in which the disease initially presented. The distribution of clinical forms and sex in each group is displayed in Table 2. Additionally, the duration of illness and ALS-FSR-R scores by gender were included in the analysis.

During the ultrasound examination of the PN, heterogeneity was observed on both sides (43.5% on the right and 52.2% on the left). Among the patients, nerve heterogeneity was present on at least one side in 14 individuals (60.9%). In the remaining cases, the nerve showed a homogeneous appearance without any interruptions (13 (56.5%) on the right and 11 (47.8%) on the left). Changes in echogenicity of the PN were detected bilaterally, but there were no significant differences in nerve echogenicity between sides. The nerve was found to be isoechoic in eight patients (34.8%) on the right and seven patients (30.4%) on the left, hyperechoic in four patients (17.4%) on the right and five patients (21.8%) on

the left, and hypoechoic in 11 patients (47.8%) on both sides ( $p > 0.05$ ). The distribution of ultrasonic features, including homogeneity and echogenicity, of the right and left PNs in the ALS group is presented as a percentage in Figures 2 and 3.

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the study groups.

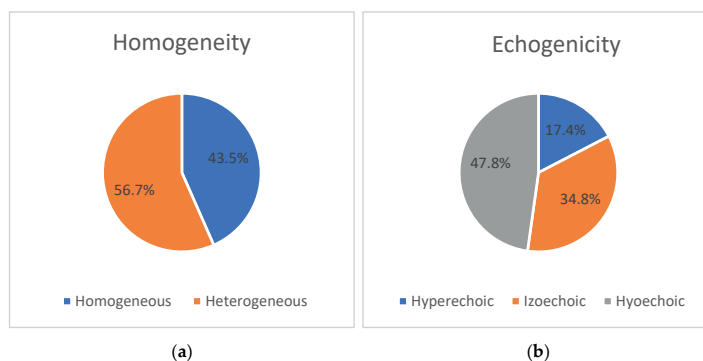
Variable	Control Group	ALS Group
Number	23	23
Age years $\pm$ min/max (range, years)	58 (46–65)	57 (31–70)
Sex $\pm$ min/max (M:F)	11:12	9:12
Weight cm $\pm$ min/max (range, Kg)	75 (49–124)	75 (48–102)
Height cm $\pm$ min/max (range, cm)	170 (155–190)	170 (157–189)
BMI Kg/m <sup>2</sup> $\pm$ min/max (range, Kg/m <sup>2</sup> )	25.32 (18.67–36.63)	25.35 (18.99–36.57)
Hip circumference cm $\pm$ min/max (range, cm)	85 (92–123)	87 (79–121)
Waist circumference cm $\pm$ min/max (range, cm)	101 (71–125)	101 (60–115)

ALS—amyotrophic lateral sclerosis. BMI—body mass index.

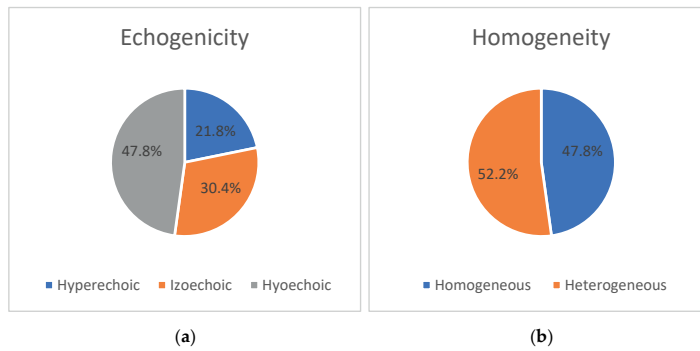
**Table 2.** ALS group distribution by sex and forms.

Variable	ALS group		
	Female (N-9)	Male (N-14)	All ALS (N-23)
UMN, % of form	1 (33%)	2 (67%)	3 (13%)
LMN, % of form	3 (33%)	6 (67%)	9 (39%)
Bulbar/pseudobulbar, % of form	3 (43%)	4 (57%)	7 (31%)
Composite, % of form	2 (50%)	2 (50%)	4 (17%)
Duration of illness, months $\pm$ min/max	12 (6–30)	12 (5–44)	12 (5–44)
ALS-FRS-R, score $\pm$ min/max	35 (32–46)	40 (24–44)	39 (24–46)

N—number of participants; ALS—amyotrophic lateral sclerosis; %—percentage; UMN—upper motor neuron; LMN—lower motor neuron. ALS-FRS-R—revised version of the functional status assessment scale for patients with amyotrophic lateral sclerosis.



**Figure 2.** Ultrasonic features of the right PN nerve in the group of patients diagnosed with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) (n = 23), showing homogeneity (a) and echogenicity (b). Abbreviations: ALS—amyotrophic lateral sclerosis; %—percentage.



**Figure 3.** Ultrasonic features (homogeneity (a) and echogenicity (b)) of the left PN in the group of patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) (n = 23). Abbreviations: ALS—amyotrophic lateral sclerosis; %—percentage.

All participants in the control group exhibited homogeneous structures in both the right and left PNs. Among individuals in the control group, hypoechogenic structures were more prevalent (69.6% on the right, 78.3% on the left), while isoechoic structures were less common (30.4% on the right, 21.7% on the left), and no nerves with hyperechogenic structures were observed.

Figures 2 and 3 show the distribution of ultrasonographic features (homogeneity and echogenicity) of the right and left phrenic nerves in the ALS group.

In the control group, the median cross-sectional area of the PN was 1.16 mm<sup>2</sup> (range: 0.63–1.36) on the right side and 1.09 mm<sup>2</sup> (range: 0.63–1.20) on the left side. However, in patients with ALS, it was observed that the cross-sectional area of the PN was significantly smaller on both the right (*p* < 0.001) and left (*p* < 0.001) sides compared to the control group. Detailed measurements are shown in Table 3.

**Table 3.** Cross-sectional area of the PN nerve in both groups.

Side of PN	Control Group	ALS Group	<i>p</i> Value
PN right mm <sup>2</sup> ± min/max (range, mm <sup>2</sup> )	1.16 (0.63–1.36)	0.81 (0.58–1.07)	<0.001
PN left mm <sup>2</sup> ± min/max (range, mm <sup>2</sup> )	1.09 (0.63–1.20)	0.81 (0.54–0.95)	<0.001

Abbreviations: ALS—amyotrophic lateral sclerosis; PN—phrenic nerve; mm<sup>2</sup>—square millimeters; *p*-value—level of significance.

**6. Discussion**

Despite the advancements in innovative technologies and the current diagnostic capabilities in laboratories and instrumental methods, the existing diagnostic methods for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) do not always ensure early detection, given the complexity of the diagnosis process resulting from a heterogeneous range of clinical symptoms. These factors drive the search for new and simpler diagnostic methods. In recent decades, the hypothesis of nerve size reduction due to ongoing axonal degeneration has sparked interest in the use of peripheral nerve ultrasound for ALS diagnosis and disease monitoring [21]. As respiratory system impairment is inevitable due to motor neuron loss in ALS, previous studies have investigated PN conductivity, diaphragm radiology, and respiratory functionality to understand the role of the PN in ALS [20,22–29].

Our study revealed that the PN is significantly smaller on both sides in ALS patients compared to individuals without the disease (*p* < 0.001). Only one significant study on PN ultrasound in ALS, conducted in Japan, also showed significant results (*p* < 0.00001).

Comparing this study with our own, we noticed that Surat and colleagues recorded larger PN cross-sectional areas in both the control and ALS patient groups. Upon analyzing the Japanese study, we concluded that these differences could be attributed to variations in different PN evaluation sites, ultrasound machine and probe technical differences, and different researchers involved. We also evaluated and compared the ultrasound parameters of the PN in ALS patients with individuals in a control group who were matched in age and gender. There were no significant differences in age, gender, height, waist or hip circumference, weight, or BMI between the two groups. The median age of the ALS group corresponded to the age peak of the disease reported in the scientific literature [9–11].

In our study, there was no significant difference in the cross-sectional areas of the PN (PN) between the right and left sides in ALS patients. This finding is consistent with our own study results, which showed a median cross-sectional area of 0.81 mm<sup>2</sup> (range: 0.58–1.07 mm<sup>2</sup>) on the right side and 0.81 mm<sup>2</sup> (range: 0.54–0.95 mm<sup>2</sup>) on the left side. The observed changes in PN cross-sectional area between the study groups, as reported by us and Surat et al., are supported by postmortem studies that document significant loss of large myelinated axons, predominantly in distal regions, and significant distal axonal PN atrophy [30]. Oxidative damage, which is implicated in the pathogenesis of ALS, contributes to axonal dysfunction and degradation [31]. Oxidative stress, which affects diffuse cellular processes, can explain the diffuse degeneration of both the right and left PNs. Therefore, we believe that significantly reduced PN size in ALS patients may be one of the indicators of ongoing neurodegeneration.

There is limited data on PN sonography in the literature [32–36]. These studies primarily focus on the nerve's anatomical features and the quantitative analysis of its diameter or cross-sectional area. Surat et al. also measured a larger cross-sectional area of the right PN ( $p < 0.01$ ) [37]. In another small ultrasound study, Canella et al. [32] also found a larger CSA of the right PN, although the difference between the sides was not significant. To ensure accuracy and avoid errors due to the varying experience of researchers, our ultrasound study was conducted with two independent researchers to obtain the most reliable results. In the control group, we found that the right PN was significantly larger than the left PN 1.16; (range: 0.63–1.36) mm<sup>2</sup> and 1.09 (range: 0.63–1.20) mm<sup>2</sup>, respectively;  $p < 0.05$ ).

Although the nerve appears as a hypoechoic structure with a hyper-echoic border peripherally on ultrasound, qualitative parameters such as homogeneity and echogenicity are not thoroughly evaluated in studies, making it unclear what the sensitivity and specificity of PN sonography are. In our study, we found a significant difference in homogeneity between the study groups ( $p < 0.001$ ). However, the results are questionable, as no heterogenic nerve structures were detected in the control group during the ultrasound examination. Doubts about the results of this study are reinforced by the knowledge of morphological changes observed in peripheral and cranial nerves in healthy individuals due to age-related natural nerve degeneration [38].

We also did not find a significant difference in nerve echogenicity ( $p > 0.05$ ), which may be attributed to the small size of our study sample. These findings suggest that the observed morphological changes are non-specific to the degeneration that occurs with ALS and are not directly related to the reduction of the phrenic nerve's cross-sectional area. Therefore, large-scale studies are necessary to obtain more accurate assessments and draw significant conclusions.

One of the objectives of this study was to identify the relationship between ultrasound changes in the PN and clinical characteristics of ALS, such as the form of the disease, duration, and functional status. However, we did not find any significant correlations ( $p > 0.05$ ). Similarly, a study conducted by Surat et al. [37] also found no significant correlation between decreased PN cross-sectional area and any clinical variables, including disease duration, onset type, and ALS-FRS-R functional score). The authors suggest that the lack of correlation between reduced PN CSA and disease duration may indicate changes in PN morphology in the early stages of the disease. This is consistent with evidence of distal

axonal degeneration occurring before the manifestation of symptoms in animal models of motor neuron disease.

Although the evaluation of other peripheral nerves showed very small long-term nerve changes [39], researchers acknowledge that a relatively small change in nerve cross-sectional area requires a large sample size to obtain significant results and draw conclusions about the potential of ultrasound examination. However, these studies suggest that ultrasound measurements could become crucial biomarkers in the future. Due to the limited literature data and the small sample size of our ALS patient group, we cannot provide clear and definite conclusions.

This is the first study of its kind in Lithuania to attempt to link ultrasound-observed changes in the PN to its dysfunction in patients with ALS. Therefore, future studies should aim to more thoroughly evaluate the relationship between these tests and ultrasound-observed changes in PN in our study. As mentioned earlier, the limited sample size is one of the shortcomings of this study that may have affected the reported results.

## 7. Conclusions

In this context, the results of this small study are particularly promising, as they suggest that sonographic findings could serve as a diagnostic tool for ALS. However, it is important to note that further research is necessary to validate these results and determine the full extent of their diagnostic utility. Continued investigation in this area will help refine the methodology, improve accuracy, and establish the reliability of sonographic techniques for ALS diagnosis. Such advancements can lead to a better understanding of the pathophysiology of ALS and potentially develop more effective treatments for this debilitating disease.

**Author Contributions:** Conceptualization, O.L., J.D., A.V. and R.B.; Methodology, O.L., A.V., R.B. and K.P.; Investigation, M.A.; Data curation, A.V.; Writing—original draft, O.L. and J.D.; Writing—review & editing, O.L. and J.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and informed consent was obtained from all participants. The study protocol was approved by the Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee, with bioethical permission No. BE-2-40, issued on 17 May 2022.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** Data is unavailable due to privacy or ethical restrictions.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Al-Chalabi, A.; Hardiman, O. The epidemiology of ALS: A conspiracy of genes, environment and time. *Nat. Rev. Neurol.* **2013**, *9*, 617–628. [CrossRef] [PubMed]
2. Hardiman, O.; Al-Chalabi, A.; Chio, A.; Corr, E.M.; Logroscino, G.; Robberecht, W.; Shaw, P.J.; Simmons, Z.; van den Berg, L.H. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2017**, *3*, 17071. [CrossRef] [PubMed]
3. Longinetti, E.; Fang, F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: An update of recent literature. *Curr. Opin. Neurol.* **2019**, *32*, 771–776. [CrossRef] [PubMed]
4. Byrne, S.; Walsh, C.; Lynch, C.; Bede, P.; Elamin, M.; Kenna, K.; McLaughlin, R.; Hardiman, O. Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2011**, *82*, 623–627. [CrossRef] [PubMed]
5. Camacho-Soto, A.; Searles Nielsen, S.; Faust, I.M.; Bucelli, R.C.; Miller, T.M.; Racette, B.A. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in older adults. *Muscle Nerve* **2022**, *66*, 289–296. [CrossRef]
6. Mehta, P.; Kaye, W.; Raymond, J.; Wu, R.; Larson, T.; Punjani, R.; Heller, D.; Cohen, J.; Peters, T.; Muravov, O.; et al. Prevalence of Amyotrophic Lateral Sclerosis—United States, 2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **2018**, *67*, 216–218. [CrossRef]
7. Jordan, H.; Rechtman, L.; Wagner, L.; Kaye, W.E. Amyotrophic lateral sclerosis surveillance in Baltimore and Philadelphia. *Muscle Nerve* **2015**, *51*, 815–821. [CrossRef]
8. Logroscino, G.; Traynor, B.J.; Hardiman, O.; Chiò, A.; Mitchell, D.; Swingler, R.J.; Millul, A.; Benn, E.; Beghi, E.; EURALS. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2010**, *81*, 385–390. [CrossRef]

9. Longinetti, E.; Regodón Wallin, A.; Samuelsson, K.; Press, R.; Zachau, A.; Ronnevi, L.O.; Kierkegaard, M.; Andersen, P.M.; Hillert, J.; Fang, F.; et al. The Swedish motor neuron disease quality registry. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2018**, *19*, 528–537. [CrossRef]
10. Benjaminsen, E.; Alstadhaug, K.B.; Gulsvik, M.; Baloch, F.K.; Odeh, F. Amyotrophic lateral sclerosis in Nordland county, Norway, 2000–2015: Prevalence, incidence, and clinical features. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2018**, *19*, 522–527. [CrossRef]
11. Dorst, J.; Chen, L.; Rosenbohm, A.; Dreyhaupt, J.; Hübers, A.; Schuster, J.; Weishaupt, J.H.; Kassubek, J.; Gess, B.; Meyer, T.; et al. Prognostic factors in ALS: A comparison between Germany and China. *J. Neurol.* **2019**, *266*, 1516–1525. [CrossRef] [PubMed]
12. Bonafede, R.; Mariotti, R. ALS Pathogenesis and Therapeutic Approaches: The Role of Mesenchymal Stem Cells and Extracellular Vesicles. *Front. Cell Neurosci.* **2017**, *11*, 80. [CrossRef] [PubMed]
13. Al-Chalabi, A.; Hardiman, O.; Kiernan, M.C.; Chiò, A.; Rix-Brooks, B.; van den Berg, L.H. Amyotrophic lateral sclerosis: Moving towards a new classification system. *Lancet Neurol.* **2016**, *15*, 1182–1194. [CrossRef] [PubMed]
14. Pinto, S.; Gromicho, M.; Oliveira Santos, M.O.; Swash, M.; De Carvalho, M. Respiratory onset in amyotrophic lateral sclerosis: Clinical features and spreading pattern. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2023**, *24*, 40–44. [CrossRef] [PubMed]
15. Shoesmith, C.L.; Findlater, K.; Rowe, A.; Strong, M.J. Prognosis of amyotrophic lateral sclerosis with respiratory onset. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2007**, *78*, 629–631. [CrossRef] [PubMed]
16. Kiernan, M.C.; Vucic, S.; Cheah, B.C.; Turner, M.R.; Eisen, A.; Hardiman, O.; Burrell, J.R.; Zoing, M.C. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* **2011**, *377*, 942–955. [CrossRef]
17. Fantini, R.; Mandrioli, J.; Zona, S.; Antenora, F.; Iattoni, A.; Monelli, M.; Fini, N.; Tonelli, R.; Clini, E.; Marchioni, A. Ultrasound assessment of diaphragmatic function in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Respirology* **2016**, *21*, 932–938. [CrossRef]
18. Pinto, S.; Alves, P.; Pimentel, B.; Swash, M.; de Carvalho, M. Ultrasound for assessment of diaphragm in ALS. *Clin. Neurophysiol.* **2016**, *127*, 892–897. [CrossRef]
19. Pinto, S.; Alves, P.; Swash, M.; de Carvalho, M. Phrenic nerve stimulation is more sensitive than ultrasound measurement of diaphragm thickness in assessing early ALS progression. *Neurophysiol. Clin.* **2017**, *47*, 69–73. [CrossRef]
20. Kwon, S.; Min, J.H.; Cho, H.J.; Joo, B.E.; Cho, E.B.; Seok, J.M.; Kim, M.J.; Kim, B.J. Usefulness of phrenic latency and forced vital capacity in patients with ALS with latent respiratory dysfunction. *Clin. Neurophysiol.* **2015**, *126*, 1421–1426. [CrossRef]
21. Hobson-Webb, L.D.; Simmons, Z. Ultrasound in the diagnosis and monitoring of amyotrophic lateral sclerosis: A review. *Muscle Nerve* **2019**, *60*, 114–123. [CrossRef] [PubMed]
22. Singh, D.; Verma, R.; Garg, R.K.; Singh, M.K.; Shukla, R.; Verma, S.K. Assessment of respiratory functions by spirometry and phrenic nerve studies in patients of amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurol. Sci.* **2011**, *306*, 76–81. [CrossRef] [PubMed]
23. Sathyaprabha, T.N.; Pradhan, C.; Nalini, A.; Thennarasu, K.; Raju, T.R. Pulmonary function tests and diaphragmatic compound muscle action potential in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* **2010**, *121*, 400–405. [CrossRef] [PubMed]
24. Paschoal, I.A.; Villalba Wde, O.; Pereira, M.C. Chronic respiratory failure in patients with neuromuscular diseases: Diagnosis and treatment. *J. Bras. Pneumol.* **2007**, *33*, 81–92. [CrossRef]
25. Manera, U.; Torrieri, M.C.; Moglia, C.; Canosa, A.; Vasta, R.; Ribolla, F.; Palumbo, F.; Solero, L.; Mora, G.; Mattei, A.; et al. Arterial blood gas analysis: Base excess and carbonate are predictive of noninvasive ventilation adaptation and survival in 61 amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2021**, *22* (Suppl. S1), 33–39. [CrossRef]
26. Schmidt, E.P.; Drachman, D.B.; Wiener, C.M.; Clawson, L.; Kimball, R.; Lechtzin, N. Pulmonary predictors of survival in amyotrophic lateral sclerosis: Use in clinical trial design. *Muscle Nerve* **2006**, *33*, 127–132. [CrossRef]
27. Fregonezi, G.; Araújo, P.R.; Macêdo, T.L.; Dourado Junior, M.E.; Resqueti, V.R.; Andrade Ade, F. Monitoring respiratory muscle strength assists in early diagnosis of respiratory dysfunction as opposed to the isolated use of pulmonary function evaluation in amyotrophic lateral sclerosis. *Arq. Neuro-Psiquiatr.* **2013**, *71*, 146–152. [CrossRef]
28. Pinto, S.; de Carvalho, M. Correlation between Forced Vital Capacity and Slow Vital Capacity for the assessment of respiratory involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A prospective study. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2017**, *18*, 86–91. [CrossRef]
29. Pinto, S.; Pinto, A.; de Carvalho, M. Phrenic nerve studies predict survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin. Neurophysiol.* **2012**, *123*, 2454–2459. [CrossRef]
30. Bradley, W.G.; Good, P.; Rasool, C.G.; Adelman, L.S. Morphometric and biochemical studies of peripheral nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* **1983**, *14*, 267–277. [CrossRef]
31. Fischer, L.R.; Glass, J.D. Axonal degeneration in motor neuron disease. *Neurodegener. Dis.* **2007**, *4*, 431–442. [CrossRef] [PubMed]
32. Canella, C.; Demondion, X.; Delebarre, A.; Moraux, A.; Cotten, H.; Cotten, A. Anatomical study of phrenic nerve using ultrasound. *Eur. Radiol.* **2010**, *20*, 659–665. [CrossRef] [PubMed]
33. Patel, Z.; Franz, C.K.; Bharat, A.; Walter, J.M.; Wolfe, L.F.; Koralnik, I.J.; Deshmukh, S. Diaphragm and Phrenic Nerve Ultrasound in COVID-19 Patients and Beyond: Imaging Technique, Findings, and Clinical Applications. *J. Ultrasound Med.* **2022**, *41*, 285–299. [CrossRef] [PubMed]
34. Nwawka, O.K. Ultrasound Imaging of the Brachial Plexus and Nerves About the Neck. *Ultrasound Q.* **2019**, *35*, 110–119. [CrossRef] [PubMed]
35. Walter, U.; Tsiberidou, P. Differential age-, gender-, and side-dependency of vagus, spinal accessory, and phrenic nerve calibers detected with precise ultrasonography measures. *Muscle Nerve* **2019**, *59*, 486–491. [CrossRef] [PubMed]

36. Czaplicki, C.D.; Zhang, N.; Knuttinen, M.G.; Naidu, S.G.; Patel, I.J.; Kriegshauser, J.S. Ultrasound-Guided Phrenic Nerve Block for Lung Nodule Biopsy: Single-Center Initial Experience. *Acad. Radiol.* **2022**, *29* (Suppl. S2), S118–S126. [CrossRef]
37. Armon, C. Smoking may be considered an established risk factor for sporadic ALS. *Neurology* **2009**, *73*, 1693–1698. [CrossRef]
38. Verdú, E.; Ceballos, D.; Vilches, J.J.; Navarro, X. Influence of aging on peripheral nerve function and regeneration. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **2000**, *5*, 191–208. [CrossRef]
39. Schreiber, S.; Dannhardt-Stieger, V.; Henkel, D.; Debska-Vielhaber, G.; Machts, J.; Abdulla, S.; Kropf, S.; Kollwe, K.; Petri, S.; Heinze, H.J.; et al. Quantifying disease progression in amyotrophic lateral sclerosis using peripheral nerve sonography. *Muscle Nerve* **2016**, *54*, 391–397. [CrossRef]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Article

# Phrenic Nerve Sonography Alterations in Patients with ALS: Insight with Clinical and Neurophysiological Findings

Ovidijus Laucius \*, Justinas Drūteika, Renata Balnytė, Jolita Palačionytė, Miglė Ališauskienė, Kęstutis Petrikonis and Antanas Vaitkus

Department of Neurology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, 44307 Kaunas, Lithuania; justinas.druteika@lsmu.lt (J.D.); renata.balnyte@lsmu.lt (R.B.); jolita.palacionyte@lsmu.lt (J.P.); migle.alisauskiene@lsmu.lt (M.A.); kestutis.petrikonis@lsmu.lt (K.P.); antanas.vaitkus@lsmu.lt (A.V.)

\* Correspondence: ovidijus.laucius@lsmu.lt

**Abstract: Background:** Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disorder, and although the diagnosis is primarily based on clinical criteria, ENMG, as the “gold standard”, does not always show detectable changes. Therefore, our study suggests that alterations in echogenicity and heterogeneity of the phrenic nerve (PN) may serve as potential additional diagnostic tools for ALS. **Methods:** Our study included 32 patients in the ALS group and 64 individuals in the control group. Each participant underwent an interview and completed questionnaires to collect clinical and demographic data, including age, gender, height, body mass index (BMI), hip and waist circumference, duration of illness, ALS-FRS-R score, comorbidities, and medication use. Ultrasound examinations of the PN were performed by two authors using a high-resolution “Philips EPIQ 7” ultrasound machine equipped with a linear 4–18 MHz transducer. The ALS group participants underwent PN sonography and conduction examinations, arterial blood gas (ABG) analysis, respiratory function tests (RFT), and electroneuromyography (ENMG). **Results:** The study demonstrated that the phrenic nerve is significantly smaller on both sides in patients with ALS compared to the control group ( $p < 0.01$ ). Changes in the homogeneity and echogenicity of the PN were also observed on both sides. On the right side, 43.8% of the nerves showed heterogeneity, 40.6% were isoechoic, and 21.9% were hyperechoic. On the left side, 59.4% of the nerves exhibited heterogeneity, 34.4% were isoechoic, and 28.1% were hyperechoic. Moreover, sonography on both sides showed significant correlation with ALS-FRS-R, COMPASS-31, and ENMG results. **Conclusions:** Our study highlights the importance of phrenic nerve ultrasound as a promising supplementary diagnostic tool for ALS. The significant differences in phrenic nerve size, echogenicity, and homogeneity between patients with ALS and the control group demonstrate that ultrasound imaging can detect morphological changes in the phrenic nerve. Incorporating phrenic nerve ultrasound into routine diagnostic protocols could improve early detection, enhance disease monitoring, and offer a more comprehensive understanding of the neurodegenerative processes in ALS.

**Keywords:** phrenic nerve; sonography; ultrasound; amyotrophic lateral sclerosis (ALS)



**Citation:** Laucius, O.; Drūteika, J.; Balnytė, R.; Palačionytė, J.; Ališauskienė, M.; Petrikonis, K.; Vaitkus, A. Phrenic Nerve Sonography Alterations in Patients with ALS: Insight with Clinical and Neurophysiological Findings. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 6302. <https://doi.org/10.3390/jcm13216302>

Academic Editors: Raffaele Natella, Aniello Iovino, Vito Stifano and Moussa Antoine Chalah

Received: 21 September 2024

Revised: 8 October 2024

Accepted: 16 October 2024

Published: 22 October 2024



**Copyright:** © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

In our previous study [1], we hypothesized that the reduction of PN detectable via ultrasound could be one of the first signs of ALS, potentially offering valuable insights for early diagnosis and prognosis. In order to strengthen the diagnostic value of PN ultrasound, the current study aims to compare sonographic changes with functional measurements of nerve conduction and respiratory function.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by the degeneration of upper and lower motor neurons leading to muscle weakness, severe disability, and ultimately a fatal outcome [2–4]. The etiology of ALS remains largely unknown in most cases. Sporadic instances account for approximately 90–95% of

all cases, whereas genetic factors play a role in 5–10% of occurrences [5,6]. The prevalence of ALS varies geographically. Regional incidence rates vary from 0.6 to 3.8 per 100,000 individuals, with a global incidence of approximately 1.6 to 1.76 per 100,000 population [6–9]. In Asian countries, incidence rates range from 0.7 to 2.2 cases per 100,000 population, while in more developed regions such as Europe and North America, rates are higher, ranging from 1.5 to 3.8 per 100,000 population [2,4,6,9–12]. Data on ALS within the Lithuanian population remain inconclusive; however, estimates suggest an incidence of 2 to 3.5 cases per 100,000 individuals. ALS can manifest at any age of life, with the risk increasing with each decade, particularly after the age of 40. Typically, the disease is most commonly diagnosed in older adults, with the median age at diagnosis between 51 and 66 years [13–16]. Males are slightly more affected than females until the age of 65 [6], with a higher incidence observed in males across all age groups. The peak prevalence age for males is 85–89 years, whereas for females, it is 80–84 years. The age-standardized male-to-female ratio increased from 1.22 (1.19:1.24) in 1990 to 1.25 (1.23:1.28).

Various pathogenic factors of the disease lead to a wide range of clinical features and symptoms in ALS presentation [16,17]. The diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis is made using the Gold Coast Criteria [18], which have been developed to provide a more streamlined and standardized approach to diagnosing this condition. According to the Gold Coast criteria, ALS is diagnosed when there is evidence of both upper and lower motor neuron degeneration that is progressive and not explained by other conditions. Although the diagnosis of ALS is primarily based on clinical criteria and the monitoring of disease progression, various diagnostic tests can enhance the accuracy of patient assessment and reduce diagnostic errors [19].

The phrenic nerve, originating from the cervical spinal cord (C3–C5), provides the motor innervation necessary for diaphragmatic contraction, which is essential for generating negative intrathoracic pressure and facilitating lung inflation during inspiration [20]. Respiratory onset in ALS is uncommon, occurring in fewer than 5% of cases [21]. However, respiratory involvement typically develops during the course of the disease, and the progressive decline in phrenic nerve (PN) function leads to respiratory muscle weakness, paralysis, and ultimately, patient death [22,23]. Several studies have shown that ultrasound assessment of the PN and nerve conduction can help evaluate respiratory function and predict patient survival [5,6,24,25]. A more detailed investigation of the phrenic nerve is crucial due to its vital role in controlling the diaphragm, the primary muscle involved in respiration.

This study is the first of its kind conducted in Lithuania. We performed a comparative analysis of the phrenic nerve in terms of cross-sectional area, homogeneity, and echogenicity. These morphological parameters were evaluated alongside clinical indicators, blood sample analyses, nerve conduction studies, and assessments using the ALS functional Rating scale-revised (ALSFRS-R) and the composite autonomic symptom scale 31 (COMPASS-31). Significant attention is given to respiratory function, as its impairment occurs at various stages of the disease and is associated with a poorer prognosis [17,26]. This comprehensive approach allowed us to investigate the correlation between nerve ultrasound characteristics and various clinical and functional parameters in patients with ALS, with the aim of suggesting that it could serve as an additional tool in determining diagnosis.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Subjects

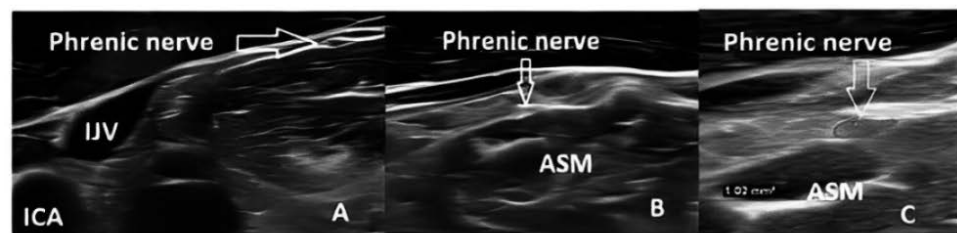
The study was carried out at the Department of Neurology of the Lithuanian University of Health Sciences. Participants in the ALS group were involved in the investigation between 2022 and 2023. Inclusion criteria for the study included patients diagnosed with amyotrophic lateral sclerosis according to the Gold Coast diagnostic criteria [18] aged over 18 years, with no other suspected diseases based on electrophysiological and imaging tests, no other neurodegenerative diseases identified, and no diagnosed neuromuscular junction disorders. Exclusion criteria involved patients younger than 18 years, lack of pa-

tient consent, pregnant women, and patients with electrophysiological or imaging findings suggesting another disease that could influence the study results.

The participants were divided into two groups: Group 1 consisted of patients with ALS ( $n = 32$ ), who all met the “Gold Coast” criteria [18]. Group 2 served as the control group ( $n = 64$ ). Each participant underwent an interview and filled out questionnaires to collect clinical and demographic data, including age, gender, height, body mass index (BMI), hip and waist circumference, duration of illness, ALS-FRS-R score, comorbid illness, and medication use. ALS group participants underwent a PN ultrasound and conduction examination, arterial blood gas (ABG), and respiratory functional tests (RFT). Elektroneuromyography (ENMG) was performed on all participants with ALS as the gold standard for confirming the diagnosis [18]. Only 10 patients in the control group underwent the procedure due to its painful nature. In further stages of the study, we utilized ABG and RFT reference values published in the literature, corresponding to the age and gender of individuals in the control group. All participants in the control group were over 18 years old, with no signs and symptoms of other neurodegenerative diseases, polyneuropathies, neuromuscular junction disorders, endocrine disorders, oncological diseases, or other comorbid diseases that could affect respiratory function, as well as those taking medications that could affect respiration.

## 2.2. The Phrenic Nerve Examination

The phrenic nerve ultrasound was conducted by two authors, both of whom are neurologists experienced in carotid artery and peripheral nerve sonography, using a “Philips EPIQ7” machine (Arbor Medical Corporation LT, Baltu pr. 145, Kaunas, LT-47125, Lithuania), Kaunas, Lithuania, Arbor Medical Corporation LT, with a 4–18 MHz transducer (CE 0086). We used the same nerve ultrasound examination technique as in our previous study [1]. The transducer was placed, and a spindle-shaped hypoechoic structure with a more hyperechoic periphery was identified as the PN on the anterior scalene muscle (Figure 1). Qualitative characteristics (homogeneity, echogenicity) and quantitative measurements (cross-sectional area) were assessed. The area was measured three times by each examiner with a 0.01 mm<sup>2</sup> margin of error, then averaged. Both examiners were blinded to each other’s results.



**Figure 1.** (A) Normal phrenic nerve ultrasound in a healthy volunteer. (B) Phrenic nerve ultrasound in a participant with ALS. (C) Methodology for measuring the cross-sectional area of the phrenic nerve. ASM—anterior scalene muscle; IJV—internal jugular vein; ICA—internal carotid artery.

## 2.3. Electrophysiological Examination

The PN electrophysiological examination was performed using the Nicolet Natus EDX system, Vilnius, Lithuania, Sormedica (CE 592232). The participants were positioned on their backs, and the skin of the examination area was cleaned with alcohol. The surface and recording electrodes (G1, G2) were coated with gel to improve the contact between the electrodes and the skin. The first electrode (G1) was fixed 5 cm above the sternal angle, and the second electrode (G2) was placed 16 cm from the first electrode along the anterior axillary line. Bipolar stimulation was used for stimulation, where the PN

was stimulated between the clavicular head of the sternocleidomastoid muscle and the sternal head in the supraclavicular fossa. Electrical stimulation was performed with 0.1 ms duration pulses [27]. The motor response (M response) was recorded. Measurements were performed during normal inhalation and exhalation, and data on the conduction of the left and right PN were obtained—for analysis, the larger response was used, and the amplitude (ms) and area (mVms) of the motor response were evaluated. Due to the painful nature of the investigation, only 10 volunteers from the control group were able to participate.

#### 2.4. Examination of Respiratory Function and Analysis of Arterial Blood Gas

To evaluate respiratory function, patients with ALS were referred for a consultation with a pulmonologist. All participants were evaluated after the diagnosis of ALS was confirmed. During the visit, all participants underwent a chest organ X-ray examination, arterial blood gas analysis (ABG), spirometry (Ganshorn Medizin Electronic, Niederlauer, Germany), and respiratory muscle strength testing (Ganshorn Medizin Electronic, Niederlauer, Germany). The chest X-ray was used to evaluate lung structure, while ABG analysis assessed arterial blood gas parameters, including acid-base balance (pH), partial oxygen pressure (pO<sub>2</sub>), partial carbon dioxide pressure (pCO<sub>2</sub>), base excess/deficit (SBE), bicarbonate concentration (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), and oxygen saturation (SO<sub>2</sub>). Forced vital capacity (FVC) and forced expiratory volume in one second (FEV1) were obtained during spirometry. This test was interpreted according to the American Thoracic Society's (ATS) recommendations. Respiratory muscle strength was assessed for maximal inspiration (PI max) and expiration (PE max) according to international assessment recommendations [28]. PI max reflects the strength of the diaphragm and internal intercostal muscles, while PE max indicates the strength of the transverse thoracic, external intercostal, and abdominal muscles. The results were evaluated, and the pulmonologist provided a conclusion on respiratory function. Moreover, following confirmation of ALS diagnosis, as pulmonary function, we evaluated arterial blood gas parameters, including pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BE(b), and sO<sub>2</sub>. Control group participants were not included, as there are established international laboratory ranges for these parameters, eliminating the necessity for control comparisons.

#### 2.5. Statistical Analysis

The data analysis in our previous publications included the application of both descriptive and comparative statistical analysis methods, utilizing Microsoft Excel and IBM SPSS v29. Normally distributed variables were compared using the two-sided t-test, with means and standard deviations reported. Non-normally distributed variables were analyzed using the Mann-Whitney U test, with median values along with minimum and maximum values provided for group comparison. Statistical hypotheses were tested, and significant differences and dependencies were identified at a significance level of  $p < 0.05$ .

### 3. Results:

#### 3.1. Demographic and Clinic Data

In a prospective study, 32 patients with ALS and 64 control group participants were included. Only newly diagnosed patients with ALS were included and subsequently classified into one of three ALS subgroups, as shown in Table 1. In our comparative analysis between patients with ALS and the control group, no significant differences were found in age or sex distribution. The age of disease onset in the ALS group was  $57.97 \pm 9.22$  years, and the disease duration was  $15.41 \pm 9.04$  months. Although the ALS group demonstrated a lower average height compared to controls ( $p = 0.009$ ), the difference in weight was not statistically significant ( $p = 0.846$ ). Notably, patients with ALS exhibited a significantly smaller hip circumference ( $p = 0.002$ ) and a non-significant reduction in waist circumference ( $p = 0.113$ ). Furthermore, patients with ALS had a significantly higher BMI ( $p = 0.001$ ) compared to controls. Data regarding the demographic and clinical characteristics of the subjects are shown in Table 1.

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of patients with ALS and control group.

Variable	Control Group	ALS Group	p Value <sup>a</sup>
Number	64	32 LMN—14 UMN—9 Bulbar—9	
Age years, mean ± SD (range, years)	60.84 ± 10.67	59.34 ± 9.93	p = 0.508
Sex (M:F)	1:1.37	1.28:1	p = 0.193 <sup>b</sup>
Weight kg, mean ± SD (range, kg)	80.81 ± 14.48	72.22 ± 15.59	p = 0.846
Height cm, mean ± SD (range, cm)	170.56 ± 9.92	170.16 ± 8.98	p = 0.009
Hip circumference ± SD (range, cm)	103.19 ± 8.07	98.97 ± 13.62	p = 0.002
Waist circumference ± SD (range, cm)	92.92 ± 10.48	84.84 ± 13.87	p = 0.113
BMI Kg/m <sup>2</sup> ± min/max (range, Kg/m <sup>2</sup> )	27.72 (18.67–36.63)	24.89 (18.99–36.57)	p = 0.001 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Student's *t*-test; <sup>b</sup> X<sup>2</sup> test for equality of proportions; <sup>c</sup> Mann–Whitney U test; BMI—body mass index. ALS—amyotrophic lateral sclerosis; LMN—lower motor neuron; UMN—upper motor neuron.

**3.2. Phrenic Nerve Sonography Findings in Patients with ALS and Control Group**

In the control group, the average cross-sectional area of the phrenic nerve was 1.12 ± 0.02 mm<sup>2</sup> on the right side and 1.08 ± 0.016 mm<sup>2</sup> on the left side. In contrast, in patients with ALS, there was a significant decrease in the cross-sectional area of the PN, measuring 0.81 ± 0.02 mm<sup>2</sup> on the right side and 0.82 ± 0.02 mm<sup>2</sup> on the left side, with *p*-values less than 0.01 for both sides compared to the control group.

Changes in the homogeneity and echogenicity of the PN were also observed on both sides. On the right side, 43.8% of the nerves showed heterogeneity, 40.6% were isoechoic, and 21.9% were hyperechoic. On the left side, 59.4% of the nerves exhibited heterogeneity, 34.4% were isoechoic, and 28.1% were hyperechoic. More details are shown in Table 2.

**Table 2.** Phrenic nerve echogenicity and homogeneity changes in patients with ALS and control group.

		Control Group Right	ALS Right	p Value	Control Group Left	ALS Left	p Value
Homogeneity	Homogenous	92.2%	43.8%	<0.001	87.5%	40.6%	<0.001
	Heterogenous	7.8%	56.2%	<0.001	12.5%	59.4%	<0.001
Echogenicity	Hypoechoic	75%	37.5%	<0.001	78.1%	37.5%	<0.001
	Hyperechoic	0%	21.9%	<0.001	0%	28.1%	<0.001

X2 test for equality of proportions. Ultrasonic features of the PN nerve in the group of patients diagnosed with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) (*n* = 32), showing homogeneity and echogenicity. Abbreviations: ALS—amyotrophic lateral sclerosis; %—percentage.

Homogeneity on both sides of the phrenic nerve suggests that most cases are either normal or exhibit heterogeneity. Changes observed in the lower motor neuron (LMN) form of ALS indicate that most alterations are prevalent in LMN cases. Similarly, changes in echogenicity, comparable to homogeneity, are observed in LMN and also in the bulbar

form on the left side. Moreover, the right side displays a significantly higher COMPASS-31 score ( $p < 0.001$ ), and both sides show significant changes in the ALSFRS-R score ( $p < 0.001$ ). These findings are shown in Table 3.

**Table 3.** Phrenic nerve changes associations with demographic, clinic and ultrasound findings in ALS.

	Right PN US Patients Nr.—32	Left PN US Patients Nr.—32
Demographics		
Height cm	$p=0.269$	$p=0.124$
Weight kg	$p < 0.016$	$p < 0.001$
BMI kg/m <sup>2</sup>	$p < 0.026$	$p=0.004$
Waist circumference cm	$p < 0.025$	$p=0.011$
Hip circumference cm	$p=0.149$	$p=0.053$
Sex	$p=0.777$	$p=0.974$
Age	$p=0.894$	$p=0.348$
Age at disease onset	$p=0.728$	$p=0.34$
Duration of illness	$p=0.529$	$p=0.704$
Compass-31	$p < 0.001$	$p=0.089$
ALFSR-R	$p < 0.001$	$p < 0.001$

Abbreviations: PN—phrenic nerve; US—ultrasound; BMI—body mass index; Compass-31—composite autonomic symptom score-31 scale. ALFSR-R—the revised amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale. Values except gender are mean SD. Significance of bold values:  $p < 0.05$ .

**3.3. Phrenic Nerve Changes Findings Associations with Electroneuromyography Examination**

The data comparing electrophysiological parameters between the control and ALS groups showed no significant differences in nerve conduction velocity, as indicated by similar latency times for both groups ( $p = 0.498$  for the right side and  $p = 0.369$  for the left side). However, significant reductions in amplitude and area under the curve are noted in the ALS group on both sides ( $p < 0.001$  for all). These findings are shown in Table 4.

**Table 4.** ENMG between ALS and control group.

	Control Group Patients Nr.—64	ALS Group Patients Nr.—32	p Value
Latency right ms ± min/max (range, ms)	6.75 (4.5–7.8)	6.40 (2.5–11.9)	0.498
Amplitude right mV ± min/max (range, mV)	1.25 (0.9–1.9)	0.40 (0.1–1.0)	<b>&lt;0.001</b>
Area right mVms ± min/max (range, mVms)	11.20 (5.4–17.3)	3.80 (0.6–10.2)	<b>&lt;0.001</b>
Latency left ms ± min/max (range, ms)	7.10 (4.8–8.0)	6.65 (2.7–10.1)	0.369
Amplitude left mV ± min/max (range, mV)	1.35 (1.0–1.8)	0.4 (0.1–6.0)	<b>&lt;0.001</b>
Area left mVms ± min/max (range, mVms)	11.15 (6.2–17)	3.85 (0.9–10.1)	<b>&lt;0.001</b>

Significance of bold values:  $p < 0.05$ .

**3.4. Correlations of Phrenic Nerve Changes with Respiratory Function in Patients with ALS**

In this study, our analysis specifically aimed to explore potential correlations between these arterial blood gas parameters and the cross-sectional area of the phrenic nerve, as

well as to assess any associations with changes in echogenicity and homogeneity. Our findings indicated that there were no significant correlations between the measured blood gas parameters and the anatomical and morphological characteristics of the phrenic nerve.

Respiratory parameters, such as FEV1 (L and %), FVC (L and %), FEV1/FVC ratio, and FEV1/FVC percentage, were also assessed. Our analysis did not reveal any statistically significant correlations between the cross-sectional area of the phrenic nerve and these respiratory parameters. Furthermore, comparisons between conducted study results and respiratory function also showed no significant changes (see Table 5).

**Table 5.** Correlation between EMG test results and respiratory function.

ALS Patients Nr.—32		FEV1 I	FEV1 %	FVC I	FVC %	FEV1/FVC	FEV1/FVC %
Latency	Right	0.05	0.18	0.13	0.09	0.11	0.12
	Left	0.09	0.22	0.21	0.15	0.33	0.37
Amplitude	Right	0.77	0.13	0.23	0.14	0.62	0.74
	Left	1.00	0.17	0.65	0.14	0.86	0.86
Area left	Right	0.94	0.19	0.48	0.16	0.93	0.84
	Left	0.73	0.15	0.33	0.16	0.79	0.91

Significance values:  $p < 0.05$ .

#### 4. Discussion

The present study offers a comprehensive evaluation of phrenic nerve (PN) sonographic characteristics and their correlations with clinical neurophysiological parameters in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS). This is the first investigation of its kind conducted in Lithuania, providing valuable insights into the utility of PN ultrasound as a diagnostic and prognostic tool in ALS.

Patients with ALS showed a significantly reduced hip circumference ( $p = 0.002$ ) and a non-significant decrease in waist circumference ( $p = 0.113$ ), suggesting potential muscle loss or weight reduction typical in ALS progression. Furthermore, ALS patients had a significantly lower body mass index (BMI) ( $p = 0.001$ ) compared to controls, which may reflect varying degrees of muscle wasting or differential fat distribution as the disease progresses. Moreover, this condition is associated with an increased risk of death [29,30].

Our findings indicate that the cross-sectional area of the PN is significantly reduced in patients with ALS compared to the control group. This observation aligns with previous studies that have demonstrated a reduction in nerve size associated with motor neuron degeneration in ALS [24,31]. The reduction in PN size likely reflects the atrophy of motor neurons and muscle fibers, aligning with the pathophysiological mechanisms underlying ALS. It is supported by post-mortem studies [32], which revealed a loss of large, myelinated axons, predominantly in distal regions, as well as significant distal axonal PN atrophy. One of the pathogenic mechanisms involves oxidative damage leading to axonal dysfunction and degradation [33]. Oxidative stress, influencing diffuse cellular processes, may explain the diffuse degeneration of both the right and left PN. Additionally, we evaluated echogenicity and homogeneity changes. Heterogeneous and hyperechoic changes in the PN were observed more frequently in the ALS group, suggesting structural and compositional alterations within the nerves. These sonographic changes are likely due to the degenerative processes affecting nerve fibers and surrounding tissues, supporting the potential of PN ultrasound as a non-invasive biomarker for ALS, as discussed in our recent study [1]. The assessment of homogeneity and echogenicity revealed significant alterations in patients with ALS; however, there are no existing studies available for direct comparison.

Despite observing clear morphological differences in PN sonography, our study did not establish significant correlations between PN size and parameters of arterial blood gas analysis or various respiratory function parameters. These findings contrast with those of Heiman-Patterson et al. (2021), who reported that pulmonary function

decline is associated with a worse prognosis for ALS [34]. This discrepancy suggests that while PN ultrasound can provide detailed structural insights, it may not directly reflect the functional respiratory impairment or systemic biochemical changes in patients with ALS. This highlights the complexity of ALS pathology, where multiple factors contribute to disease progression and clinical manifestations. It is important to emphasize that the results of spirometry and respiratory muscle strength tests depend on the patient's effort and, in some cases, the form or severity of the disease. In contrast, PN electrophysiological testing requires less patient involvement.

Electroneuromyography (ENMG) data also revealed significant differences in amplitude and area between patients with ALS and controls, consistent with findings from other studies that reported amplitude and latency changes in PN conduction studies [26]. These results align with the established role of ENMG in diagnosing ALS by providing direct evidence of motor neuron dysfunction. Some authors suggest that ENMG is more sensitive in assessing respiratory distress in ALS compared to phrenic nerve CSA [20,35]. However, the painful nature of ENMG limited its application in participants, highlighting the need for less invasive diagnostic methods, such as ultrasound.

Interestingly, the demographic analysis revealed no significant differences in age or sex distribution between patients with ALS and controls, although patients with ALS exhibited a lower BMI. This lower BMI could be reflective of reduced physical activity due to muscle weakness and paralysis, which is common in ALS. The observed demographic characteristics are consistent with the known epidemiology of ALS, which predominantly affects older adults with a slight male predominance.

The analysis revealed significant correlations between phrenic nerve ultrasound findings and clinical scores, particularly for Compass-31 and the ALS functional rating scale-revised (ALSFRS-R). On the right side, Compass-31 showed strong statistical significance ( $p < 0.001$ ), suggesting that autonomic dysfunction, as assessed by Compass-31, may be associated with changes in phrenic nerve morphology. However, on the left side, Compass-31 did not show a significant correlation ( $p = 0.089$ ).

For ALSFRS-R, significant correlations were observed on both sides, with  $p < 0.001$  for both the right and left phrenic nerve ultrasound assessments. This suggests that phrenic nerve alterations are closely linked to the functional impairments assessed by ALSFRS-R, which reflects the overall severity of ALS-related motor dysfunction. Our study has several strengths, including a well-defined cohort, rigorous sonographic evaluation, and a comprehensive analysis of multiple parameters. However, it also has limitations, such as the relatively small sample size and the exclusion of certain control participants from ENMG due to discomfort associated with the procedure. Future studies should consider increasing the number of patients with ALS to further validate these findings and explore longitudinal changes in phrenic nerve (PN) ultrasound characteristics, as well as the potential variability in nerve changes across different age groups and stages of the disease. Longitudinal studies could also help track the progression of phrenic nerve degeneration and its relationship to respiratory dysfunction in ALS. Future research should aim to include larger cohorts to further validate the utility of PN ultrasound in ALS diagnosis and prognosis.

## 5. Conclusions

Our study highlights the importance of phrenic nerve ultrasound as a promising supplementary diagnostic tool for ALS. The significant differences in phrenic nerve size, echogenicity, and homogeneity between patients with ALS and the control group demonstrate that ultrasound imaging can detect morphological changes in the phrenic nerve. Incorporating phrenic nerve ultrasound into routine diagnostic protocols could improve early detection, enhance disease monitoring, and offer a more comprehensive understanding of the neurodegenerative processes in ALS. This tool could be particularly valuable in cases where ENMG results are inconclusive, making it a useful complement to existing diagnostic methods. Further research and larger-scale studies are needed to confirm these

findings and explore the full potential of phrenic nerve ultrasound in clinical practice for ALS diagnosis and management.

**Author Contributions:** Conceptualization, O.L., J.D., R.B. and A.V.; methodology, O.L., J.D., R.B. and A.V.; software, O.L.; validation, R.B. and A.V.; formal analysis, O.L.; investigation, O.L., J.D., M.A. and J.P.; resources, K.P.; data curation, O.L., J.D., R.B. and A.V.; writing—original draft preparation, O.L., J.D. and R.B.; writing—review and editing, R.B., A.V. and K.P.; visualization, R.B. and K.P.; supervision, A.V.; project administration, O.L.; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and informed consent was obtained from all participants. The study protocol was approved by the Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee, with bioethical permission No. BE-2-40, issued on 17 May 2022. An analysis, medical documentation of participants, as well as laboratory and instrumental research data, was performed.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The original contributions presented in the study are included in the article, further inquiries can be directed to the corresponding authors.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References



1. Laucius, O.; Drūteika, J.; Balnytė, R.; Petrikonis, K.; Ališauskienė, M.; Vaitkus, A. Sonographic Phrenic Nerve Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Medicina* **2023**, *59*, 1745. [CrossRef] [PubMed]
2. Al-Chalabi, A.; Hardiman, O. The epidemiology of ALS: A conspiracy of genes, environment and time. *Nat. Rev. Neurol.* **2013**, *9*, 617–628. [CrossRef]
3. Hardiman, O.; Al-Chalabi, A.; Chio, A.; Corr, E.M.; Logroscino, G.; Robberecht, W.; Shaw, P.J.; Simmons, Z.; van den Berg, L.H. Correction: Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2017**, *3*, 17085. [CrossRef] [PubMed]
4. Longinetti, E.; Fang, F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: An update of recent literature. *Curr. Opin. Neurol.* **2019**, *32*, 771–776. [CrossRef]
5. Byrne, S.; Walsh, C.; Lynch, C.; Bede, P.; Elamin, M.; Kenna, K.; McLaughlin, R.; Hardiman, O. Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2010**, *82*, 623–627. [CrossRef]
6. Camacho-Soto, A.; Nielsen, S.S.; Faust, I.M.; Bucelli, R.C.; Miller, T.M.; Racette, B.A. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in older adults. *Muscle Nerve* **2022**, *66*, 289–296. [CrossRef] [PubMed]
7. Mehta, P.; Raymond, J.; Raymond, J.; Zhang, Y.; Zhang, Y.; Punjani, R.; Punjani, R.; Han, M.; Han, M.; Larson, T.; et al. Prevalence of amyotrophic lateral sclerosis in the United States, 2018. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2023**, *24*, 702–708. [CrossRef]
8. Jordan, H.; Rechtman, L.; Wagner, L.; Kaye, W.E. Amyotrophic lateral sclerosis surveillance in Baltimore and Philadelphia. *Muscle Nerve* **2014**, *51*, 815–821. [CrossRef]
9. Logroscino, G.; Traynor, B.J.; Hardiman, O.; Chiò, A.; Mitchell, D.; Swingler, R.J.; Millul, A.; Benn, E.; Beghi, E.; Eurals, F. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2009**, *81*, 385–390. [CrossRef]
10. Marin, B.; Boumédiène, F.; Logroscino, G.; Couratier, P.; Babron, M.-C.; Leutenegger, A.-L.; Copetti, M.; Preux, P.-M.; Beghi, E. Variation in worldwide incidence of amyotrophic lateral sclerosis: A meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* **2017**, *46*, 57–74. [CrossRef]
11. Doi, Y.; Atsuta, N.; Sobue, G.; Morita, M.; Nakano, I. Prevalence and Incidence of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Japan. *J. Epidemiol.* **2014**, *24*, 494–499. [CrossRef] [PubMed]
12. Barceló, M.A.; Povedano, M.; Vázquez-Costa, J.F.; Franquet, Á.; Solans, M.; Saez, M. Estimation of the prevalence and incidence of motor neuron diseases in two Spanish regions: Catalonia and Valencia. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 6207. [CrossRef] [PubMed]
13. Longinetti, E.; Wallin, A.R.; Samuelsson, K.; Press, R.; Zachau, A.; Ronnevi, L.-O.; Kierkegaard, M.; Andersen, P.M.; Hillert, J.; Fang, F.; et al. The Swedish motor neuron disease quality registry. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2018**, *19*, 528–537. [CrossRef]
14. Benjaminsen, E.; Alstadhaug, K.B.; Gulsvik, M.; Baloch, F.K.; Odeh, F. Amyotrophic lateral sclerosis in Nordland county, Norway, 2000–2015: Prevalence, incidence, and clinical features. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2018**, *19*, 522–527. [CrossRef]
15. Dorst, J.; Chen, L.; Rosenbohm, A.; Dreyhaupt, J.; Hübers, A.; Schuster, J.; Weishaupt, J.H.; Kassubek, J.; Gess, B.; Meyer, T.; et al. Prognostic factors in ALS: A comparison between Germany and China. *J. Neurol.* **2019**, *266*, 1516–1525. [CrossRef]
16. Fantini, R.; Mandrioli, J.; Zona, S.; Antenora, F.; Iattoni, A.; Monelli, M.; Fini, N.; Tonelli, R.; Clini, E.; Marchioni, A. Ultrasound assessment of diaphragmatic function in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Respirology* **2016**, *21*, 932–938. [CrossRef]
17. Pinto, S.; Alves, P.; Swash, M.; de Carvalho, M. Phrenic nerve stimulation is more sensitive than ultrasound measurement of diaphragm thickness in assessing early ALS progression. *Neurophysiol. Clin.* **2016**, *47*, 69–73. [CrossRef]

18. Shefner, J.M.; Al-Chalabi, A.; Baker, M.R.; Cui, L.-Y.; de Carvalho, M.; Eisen, A.; Grosskreutz, J.; Hardiman, O.; Henderson, R.; Matamala, J.M.; et al. A proposal for new diagnostic criteria for ALS. *Clin. Neurophysiol.* **2020**, *131*, 1975–1978. [CrossRef] [PubMed]
19. Vidovic, M.; Müschen, L.H.; Brakemeier, S.; Machetanz, G.; Naumann, M.; Castro-Gomez, S. Current State and Future Directions in the Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cells* **2023**, *12*, 736. [CrossRef]
20. de Carvalho, M.; Swash, M.; Pinto, S. Diaphragmatic Neurophysiology and Respiratory Markers in ALS. *Front. Neurol.* **2019**, *10*, 143. [CrossRef]
21. Pinto, S.; Gromicho, M.; Santos, M.O.O.; Swash, M.; De Carvalho, M. Respiratory onset in amyotrophic lateral sclerosis: Clinical features and spreading pattern. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2022**, *24*, 40–44. [CrossRef] [PubMed]
22. Hobson-Webb, L.D.; Simmons, Z. Ultrasound in the diagnosis and monitoring of amyotrophic lateral sclerosis: A review. *Muscle Nerve* **2019**, *60*, 114–123. [CrossRef] [PubMed]
23. Shoesmith, C.L.; Findlater, K.; Rowe, A.; Strong, M.J. Prognosis of amyotrophic lateral sclerosis with respiratory onset. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2007**, *78*, 629–631. [CrossRef] [PubMed]
24. Suratos, C.T.; Takamatsu, N.; Yamazaki, H.; Osaki, Y.; Fukumoto, T.; Nodera, H.; Izumi, Y. Utility of phrenic nerve ultrasound in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol. Belg.* **2020**, *121*, 225–230. [CrossRef] [PubMed]
25. Rowland, L.P. How amyotrophic lateral sclerosis got its name: The clinical-pathologic genius of Jean-Martin Charcot. *Arch. Neurol.* **2001**, *58*, 512–515. [CrossRef]
26. Kwon, S.; Min, J.-H.; Cho, H.-J.; Joo, B.-E.; Bin Cho, E.; Seok, J.M.; Kim, M.-J.; Kim, B.J. Usefulness of phrenic latency and forced vital capacity in patients with ALS with latent respiratory dysfunction. *Clin. Neurophysiol.* **2015**, *126*, 1421–1426. [CrossRef]
27. Ngo, S.; Steyn, F.; McCombe, P. Body mass index and dietary intervention: Implications for prognosis of amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurol. Sci.* **2014**, *340*, 5–12. [CrossRef]
28. Laveneziana, P.; Albuquerque, A.; Aliverti, A.; Babb, T.; Barreiro, E.; Dres, M.; Dubé, B.P.; Fauroux, B.; Gea, J.; Guenette, J.A.; et al. ERS statement on respiratory muscle testing at rest and during exercise. *Eur. Respir. J.* **2019**, *53*, 1801214. [CrossRef] [PubMed]
29. Resman-Gäspersč, A.; Podnar, S. Phrenic nerve conduction studies: Technical aspects and normative data. *Muscle Nerve* **2008**, *37*, 36–41. [CrossRef]
30. Chang, J.; Shaw, T.B.; Holdom, C.J.; McCombe, P.A.; Henderson, R.D.; Fripp, J.; Barth, M.; Guo, C.C.; Ngo, S.T.; Steyn, F.J.; et al. Lower hypothalamic volume with lower body mass index is associated with shorter survival in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Eur. J. Neurol.* **2022**, *30*, 57–68. [CrossRef]
31. Walter, U.; Sobiella, G.; Prudlo, J.; Batchakaschvili, M.; Böhmert, J.; Storch, A.; Hermann, A. Ultrasonic detection of vagus, accessory, and phrenic nerve atrophy in amyotrophic lateral sclerosis: Relation to impairment and mortality. *Eur. J. Neurol.* **2023**, *31*, e16127. [CrossRef] [PubMed]
32. Bradley, W.G.; Good, P.; Rasool, C.G.; Adelman, L.S. Morphometric and biochemical studies of peripheral nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* **1983**, *14*, 267–277. [CrossRef] [PubMed]
33. Fischer, L.R.; Glass, J.D. Axonal Degeneration in Motor Neuron Disease. *Neurodegener. Dis.* **2007**, *4*, 431–442. [CrossRef] [PubMed]
34. Heiman-Patterson, T.D.; Khazaal, O.; Yu, D.; Sherman, M.E.; Kasarskis, E.J.; Jackson, C.E.; the PEG NIV Study Group. Pulmonary function decline in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener.* **2021**, *22*, 54–61. [CrossRef]
35. El Helow, M.R.; Ahmed, S.F.; El Bably, M.M.; ElHadba, D.M. Neuromuscular Phrenic Nerve Ultrasound versus Nerve Conduction Study of Phrenic Nerve in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Qjm Int. J. Med.* **2024**, *117*, hcae070.537. [CrossRef]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## Article

# Ultrasonography of the Vagus Nerve for ALS Patients: Correlations with Clinical Data and Dysfunction of the Autonomic Nervous System

Ovidijus Laucius <sup>1,\*</sup>, Justinas Drūteika <sup>1</sup>, Tadas Vanagas <sup>1,\*</sup>, Renata Balnytė <sup>1</sup> , Andrius Radžiūnas <sup>2</sup>  and Antanas Vaitkus <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, 44307 Kaunas, Lithuania; justinas.druteika@lsmu.lt (J.D.); renata.balnyte@lsmu.lt (R.B.); antanas.vaitkus@lsmu.lt (A.V.)

<sup>2</sup> Department of Neurosurgery, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, 44307 Kaunas, Lithuania; andrius.radziunas@lsmu.lt

\* Correspondence: ovidijus.laucius@lsmu.lt (O.L.); tadas.vanagas@lsmu.lt (T.V.)

**Abstract:** *Background and Objectives:* Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by the degeneration of both upper and lower motor neurons, leading to the rapid decline of motor function. In recent years, dysfunction of the autonomic nervous system (ANS) has also been increasingly recognized as a contributing factor in various neurodegenerative diseases, including ALS. This study is the second publication from our ALS research cohort at Kaunas Clinics. Our previous work examined ultrasonographic changes in the phrenic nerve as a supplementary diagnostic approach for ALS. *Materials and Methods:* In the present study, we investigated ultrasonographic alterations of the vagus nerve within the same ALS cohort, aiming to explore correlations with ANS involvement. We performed high-resolution ultrasonography of the vagus nerve (VN), collected clinical data, conducted heart rate monitoring, and evaluated respiratory function. *Results:* We prospectively included 32 ALS patients meeting “Gold Coast” criteria and 64 age- and sex-matched control patients. The average onset of ALS was  $57.97 \pm 9.22$  years, and the duration of the disease was  $15.41 \pm 9.04$  months. For ALS patients, we found significantly reduced vagus nerve cross-sectional area (CSA) at the level of the carotid artery bifurcation bilaterally compared to controls (right VN  $1.86 \pm 0.21$  vs.  $2.07 \pm 0.18$  mm<sup>2</sup>,  $p < 0.001$ ; left VN  $1.69 \pm 0.21$  vs.  $1.87 \pm 0.21$  mm<sup>2</sup>,  $p < 0.001$ ). Reduced values of the left VN positively correlated with the reduced values of FEV1% and sO<sub>2</sub>. *Conclusions:* Our findings revealed a significant bilateral reduction in vagus nerve size in ALS patients compared to controls, suggesting that vagal atrophy may serve as a potential marker of autonomic dysfunction in ALS.

**Keywords:** vagus nerve; ultrasound; heart rate variability; ALS; autonomic nervous system



check for updates

Academic Editor: Jung-Ho Lee

Received: 31 March 2025

Revised: 9 May 2025

Accepted: 13 May 2025

Published: 16 May 2025

**Citation:** Laucius, O.; Drūteika, J.; Vanagas, T.; Balnytė, R.; Radžiūnas, A.; Vaitkus, A. Ultrasonography of the Vagus Nerve for ALS Patients: Correlations with Clinical Data and Dysfunction of the Autonomic Nervous System. *Medicina* **2025**, *61*, 902. <https://doi.org/10.3390/medicina61050902>

**Copyright:** © 2025 by the authors. Published by MDPI on behalf of the Lithuanian University of Health Sciences. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

*Medicina* **2025**, *61*, 902

<https://doi.org/10.3390/medicina61050902>

## 1. Introduction

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease marked by muscle weakness and paralysis, ultimately resulting in fatality due to the degeneration of both upper and lower motor neurons [1–3]. The exact cause of ALS remains largely unknown in most cases. Approximately 90–95% of ALS cases are sporadic, while genetic factors account for 5–10% [4,5]. A small percentage of ALS cases are familial and are associated with mutations in genes such as SOD1, C9orf72, and TARDBP [6].

While electroneuromyography (ENMG) is the gold standard for diagnosing ALS, its sensitivity is not absolute and may vary depending on the operator's expertise. This limitation is particularly pronounced in ALS cases with predominant upper motor neuron (UMN) involvement, especially those with initial bulbar onset. Nonetheless, ENMG remains valuable in detecting subclinical lower motor neuron (LMN) involvement, providing critical evidence to support a clinical diagnosis of ALS [7]. The time to ALS diagnosis is largely influenced by the initial symptom presentation, which can vary depending on the affected anatomical region, such as the bulbar, limb, axial, or respiratory systems. This variability often necessitates differential diagnosis, specialized evaluations, and, in some cases, consultation with non-neurological specialists, which can delay the diagnostic process and adversely impact patient outcomes [8]. Efforts to develop faster, more cost-effective, and accessible diagnostic methods are ongoing.

Several studies have demonstrated the degeneration of peripheral nerves, including the vagus [9–11], phrenic [12], and peripheral limb nerves [13], during the progression of ALS. Recent studies indicate that skin innervation alterations, including a progressive reduction in Meissner corpuscles and intraepidermal nerve fibre changes, correlate with ALS progression and may serve as a valuable prognostic biomarker [14]. High-resolution ultrasound studies have detected significant atrophy of the VN in patients exhibiting bulbar symptoms, suggesting degeneration of motor fibres within the nerve [10]. This atrophy is believed to result from the degeneration of motor neurons in the brainstem nuclei, such as the nucleus ambiguus, which are responsible for innervating muscles involved in swallowing and speech [10]. Consequently, atrophy of the VN may contribute to bulbar dysfunctions commonly seen in ALS, including dysphagia and dysarthria [15].

Emerging research highlights the potential influence of body composition on peripheral nerve structure and function. Greater muscle mass and its associated metabolic activity may influence local blood flow and the neural microenvironment, potentially contributing to alterations in nerve architecture [16]. These findings indicate that metabolic and mechanical factors, beyond the primary neurodegenerative processes, might affect peripheral nerve integrity in ALS. Consequently, assessing peripheral nerve structure and composition could provide additional insights into ALS pathophysiology and help identify potential biomarkers for earlier diagnosis. In conjunction with autonomic dysfunction [17]—manifested by cardiac abnormalities, respiratory and gastrointestinal disturbances, urinary tract issues, and erectile dysfunction—these findings suggest that peripheral and autonomic nervous system involvement may precede the more prominent muscle atrophy typically observed by patients, clinicians, and through ENMG recordings.

This study is the second publication from our ALS research cohort at Kaunas Clinics. Our previous work examined ultrasonographic changes in the phrenic nerve as a supplementary diagnostic approach for ALS [12]. In the present study, we investigated ultrasonographic alterations of the VN within the same ALS cohort and added additional results from the assessment of respiratory function and heart rate monitoring, which were not done previously. Our aim was to explore changes of the VN in ALS and find possible correlations with the involvement of the ANS.

## 2. Materials and Methods

The study was conducted at the Department of Neurology, Lithuanian University of Health Sciences, with ALS patients recruited between 2022 and 2023. Participants were categorized into two groups: the ALS group (N = 32), consisting of individuals meeting the “Gold Coast” diagnostic criteria for ALS, and a control group (N = 64).

Comprehensive clinical and demographic data were collected through interviews and standardized questionnaires, including information on age, gender, height, body mass

index (BMI), hip and waist circumference, disease duration, comorbidities, and medication use. In ALS patients, ultrasonography of the VN (USVN) was performed to assess its cross-sectional area (CSA), homogeneity, and echogenicity. These morphological parameters were analysed in relation to clinical features, respiratory function tests (RFTs), arterial blood gas (ABG) analyses, heart rate variability (HRV) analysis, and standardized assessments, including the revised ALS Functional Rating Scale (ALSFRS-R) and the Composite Autonomic Symptom Scale 31 (COMPASS-31). Age- and gender-adjusted normative values for ABG and RFTs were referenced from published literature. ENMG was conducted in all ALS patients to confirm the diagnosis based on the “Gold Coast” criteria [18].

Control group patients were selected randomly and underwent USVN. Inclusion criteria required all control participants to be over 18 years of age and free from neurodegenerative diseases, polyneuropathies, neuromuscular junction disorders, endocrine disorders, oncological diseases, or any conditions affecting respiratory function. Additionally, none of the control participants were on medications known to influence respiration or heart rate.

### 2.1. Ultrasonography of the Vagus Nerve (USVN)

The USVN was performed by two investigators using a high-resolution Philips EPIQ 7 ultrasound system equipped with a linear 4–18 MHz transducer (CE 0086). The transducer was positioned transversely above the clavicle in the cervical region, aligning with the level of the levator scapulae muscle where the VN courses along the anterior scalene muscle. In B-mode ultrasonography, the VN was visualized adjacent to the carotid artery bifurcation, posterior to the confluence of the internal and common carotid arteries. The nerve was identified within its connective tissue sheath, exhibiting a characteristic sonographic appearance with a centrally hypoechoic region surrounded by a hyperechoic periphery.

VN diameter was measured in millimetres using cross-sectional imaging at two predefined locations: near the carotid bulb and at the junction where the common carotid artery bifurcates. Both quantitative and qualitative characteristics of the nerve were evaluated, including its structural homogeneity (classified as homogeneous or heterogeneous) and echogenicity (categorized as hypoechoic, isoechoic, or hyperechoic).

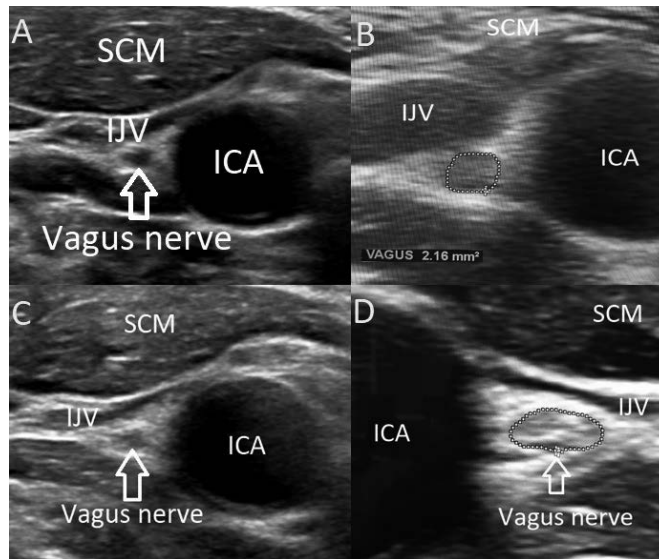
The CSA of the VN was determined in a transverse plane by tracing the hypoechoic nerve region within the hyperechoic border, following the methodology established by Walter et al. in 2018 [19]. Measurements were obtained independently by two examiners, each assessing one side three times with a precision margin of 0.01 mm<sup>2</sup>. The mean of the three measurements was calculated for each side, followed by a grand average across both sides. To ensure measurement reliability, both examiners were blinded to each other’s results. The measuring methodology and VN anatomical structure are illustrated in Figure 1.

### 2.2. Respiratory Function (RF)

To assess RF in ALS patients, participants were referred for a pulmonology consultation. During this evaluation, all individuals underwent a chest X-ray, ABG analysis, and spirometry. The chest X-ray was performed to assess lung structure, while ABG analysis measured key respiratory parameters, including arterial pH, partial pressures of oxygen (pO<sub>2</sub>) and carbon dioxide (pCO<sub>2</sub>), base excess (BE), bicarbonate concentration (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), and oxygen saturation (sO<sub>2</sub>).

Spirometry was conducted to determine forced vital capacity (FVC) and forced expiratory volume in one second (FEV1), adhering to the 2022 European Respiratory Society (ERS) and American Thoracic Society technical standards for lung function assess-

ment. The pulmonologist analysed the results and provided a clinical interpretation of respiratory function.



**Figure 1.** (A) Normal results of the USVN in a healthy volunteer (hypoechoic, homogenic). (B) Methodology for measuring CSA of the VN by ultrasound (isoechoic, homogenic). (C) USVN of ALS patient (hyperechoic, homogenic). (D). USVN of ALS patient (hyperechoic, heterogeneous). SCM—sternocleidomastoid muscle. IJV—internal jugular vein. ICA—internal carotid artery.

### 2.3. Heart Rate Variability (HRV)

Autonomic dysfunction in ALS can present as sympathetic hyperactivity and sympathovagal imbalance, manifesting at both early and advanced disease stages [20]. In severe cases, this dysfunction may lead to critical autonomic disturbances, such as autonomic storms, characterized by profound fluctuations in blood pressure and heart rate, potentially resulting in sudden death.

HRV is a key physiological parameter used to assess fluctuations in the time intervals between consecutive heartbeats, providing valuable insights into neurocardiac function. It serves as an indicator of the heart's ability to adapt to physiological and environmental changes through dynamic interactions between the heart and brain via the ANS [21]. Rather than being solely a measure of cardiac function, HRV reflects the complex interplay of multiple regulatory systems operating on different timescales, allowing the organism to adapt to environmental and psychological fluctuations. HRV serves as a crucial marker of autonomic regulation, influencing essential physiological functions such as blood pressure control, respiratory gas exchange, and vascular tone modulation. Additionally, it extends beyond cardiovascular control, impacting the gastrointestinal and possibly musculoskeletal systems, thereby providing a broad reflection of autonomic nervous system coherence [22].

In this study, HRV was calculated using 24-h heart rate monitoring data obtained from ALS patients wearing Holter monitors. Three primary HRV parameters were analysed: SDNN, RMSSD, and pNN50 [22]. SDNN, the standard deviation of normal sinus beat interbeat intervals, is considered the gold standard for medical stratification of cardiac

risk. RMSSD, the root mean square of successive differences between normal heartbeats, represents short-term variations in heart rate and is the main time-domain metric used to assess vagally mediated fluctuations in HRV. Lastly, pNN50, the percentage of adjacent NN intervals differing by more than 50 milliseconds (ms), is closely correlated with parasympathetic nervous system activity.

Research on early-stage ALS, particularly cases involving bulbar onset, has identified significant autonomic alterations even at rest [23]. These findings suggest that autonomic dysfunction may develop early in ALS, particularly affecting parasympathetic cardiovascular control. This is evidenced by reduced overall and high-frequency HRV power, indicating impaired sinus arrhythmia, as well as altered HRV responses during tilt-table testing [24]. Such observations highlight autonomic dysregulation as an early hallmark of ALS, potentially preceding significant motor impairment.

#### 2.4. Composite Autonomic Symptom Scale 31

The Composite Autonomic Symptom Scale 31 (COMPASS-31) represents a significant advancement in the assessment of autonomic dysfunction. This tool efficiently condenses the extensive 169-item Autonomic Symptom Profile (ASP) into a streamlined 31-question instrument, maintaining its effectiveness in evaluating autonomic symptoms across six domains [25]. Notably, the COMPASS-31 has shown promise in distinguishing Multiple System Atrophy with predominant parkinsonism (MSA-P) from Parkinson's Disease (PD) [26]. A study conducted by Kim et al. demonstrated that COMPASS-31 is particularly effective in evaluating autonomic dysfunction in patients with parkinsonism. The study highlighted its significant correlation with objective autonomic function test results, showcasing its ability to differentiate MSA-P from PD with high sensitivity and moderate specificity. This distinction was especially pronounced in drug-naive patients, underscoring the tool's potential in early diagnosis. The COMPASS-31's design allows it to retain the comprehensive nature of the original ASP while reducing respondent burden, making it a more user-friendly option for both clinical and research purposes.

### 3. Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted using both descriptive and comparative methods with Microsoft Excel and IBM SPSS 29.0 software. For the comparison of categorical data in the tables, the Chi-squared  $\chi^2$  test was used. Correlation analyses were carried out using Pearson's correlation test for normally distributed data and Spearman's correlation test for non-normally distributed data. Statistical significance was determined at a threshold of  $p < 0.05$ .

### 4. Results

#### 4.1. Demographic and Clinical Data

In this study, we included 32 ALS patients and 64 control group patients. ALS patients were classified into three subgroups: Eighteen (56.3%) with lower motor neuron (LMN) predominance, five (15.6%) with upper motor neuron (UMN) predominance, and nine (28.1%) with the bulbar form (Table 1). ALS and control group patients were age- and sex-matched (age— $59.34 \pm 9.93$  and  $60.84 \pm 10.67$  respectively,  $p = 0.508$ , male to female ratio—1:1.37 and 1:1.28 accordingly,  $p = 0.193$ ). The average onset of ALS was  $57.97 \pm 9.22$  years, and the duration of the disease was  $15.41 \pm 9.04$  months.

**Table 1.** Distribution of ALS patients by the predominant clinical form and sex.

ALS Form \ Sex	Female	Male	All ALS
Overall, n (%)	14 (43.8%)	18 (56.3%)	32 (100%)
UMN, n (%)	3 (60.0%)	2 (40.0%)	5 (15.6%)
LMN, n (%)	5 (35.7%)	13 (72.2)	18 (56.3%)
Bulbar/pseudobulbar,			
n (%)	6 (66.7%)	3 (33.3%)	9 (28.1%)
Duration of illness, months ± min/max	15.43 ± [6–30]	15.39 ± [5–44]	15.41 ± [5–44]

Values are reported using absolute values and percentage. ALS—amyotrophic lateral sclerosis; LMN—lower motor neuron; UMN—upper motor neuron.

4.2. USVN

In the control group, the mean CSA of the VN was  $2.07 \pm 0.18 \text{ mm}^2$  on the right side and  $1.87 \pm 0.21 \text{ mm}^2$  on the left side. In contrast, ALS patients exhibited a significant reduction in the CSA of the VN, with measurements of  $1.86 \pm 0.21 \text{ mm}^2$  on the right side ( $p < 0.001$ ) and  $1.69 \pm 0.21 \text{ mm}^2$  on the left side ( $p < 0.001$ ) compared to the control group (Table 2).

**Table 2.** Cross-sectional area of the VN between groups.

Side of the VN	Control Group	ALS Group	p Value
Right VN	$2.07 \pm 0.18$	$1.86 \pm 0.21$	<0.001
Left VN	$1.87 \pm 0.21$	$1.69 \pm 0.21$	<0.001

Values are reported as mean ± SD;  $\chi^2$  was used to test for equality of proportions.

Bilateral changes in homogeneity and echogenicity were observed. On the right side, 62.5% of nerves displayed heterogeneity, 50.0% were isoechoic, and 28.1% were hyperechoic. On the left side, 62.5% of nerves showed heterogeneity, 34.4% were isoechoic, and 40.6% were hyperechoic (Tables 3–5).

**Table 3.** Ultrasonographic characteristics of the right VN between groups.

Ultrasonography Characteristics	Control Group	ALS Group	p Value	
Homogeneity	Homogeneous	62 (96.9%)	12 (37.5%)	<0.001
	Heterogeneous	2 (3.1%)	20 (62.5%)	<0.001
Echogenicity	Hypoechoic	64 (100.0%)	7 (21.9%)	<0.001
	Isoechoic	0	16 (50.0%)	<0.001
	Hyperechoic	0	9 (28.1%)	<0.001

Values are reported using absolute values and percentages;  $\chi^2$  was used to test for equality of proportions.

**Table 4.** Ultrasonographic characteristics of the left VN between groups.

Ultrasonographic Characteristics	Control Group	ALS Group	p Value	
Homogeneity	Homogeneous	64 (100.0%)	12 (37.5%)	<0.001
	Heterogeneous	0	20 (62.5%)	<0.001
Echogenicity	Hypoechoic	64 (100.0%)	8 (25.0%)	<0.001
	Isoechoic	0	11 (34.4%)	<0.001
	Hyperechoic	0	13 (40.6%)	<0.001

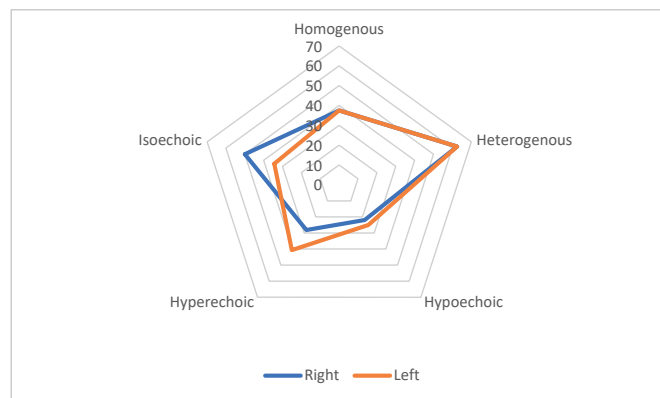
Values are reported using absolute values and percentages;  $\chi^2$  was used to test for equality of proportions.

**Table 5.** Correlations of the results of USVN and the clinical features of ALS patients.

Clinical Features	Mean ± SD	Right VN US	Left VN US
Height, cm	170.43 ± 9.57	<i>p</i> = 0.001	<i>p</i> = 0.036
Weight, kg	77.95 ± 15.33	<i>p</i> < 0.001	<i>p</i> < 0.001
BMI, kg/m <sup>2</sup>	26.78 ± 4.39	<i>p</i> < 0.001	<i>p</i> < 0.001
Waist circumference, cm	90.23 ± 12.26	<i>p</i> < 0.001	<i>p</i> < 0.001
Hip circumference, cm	101.78 ± 10.38	<i>p</i> < 0.001	<i>p</i> < 0.001
Age, years	60.34 ± 10.39	<i>p</i> = 0.737	<i>p</i> = 0.169
Age at disease onset, years	57.97 ± 9.22	<i>p</i> = 0.468	<i>p</i> = 0.011
Duration of illness, months	15.41 ± 9.04	<i>p</i> = 0.526	<i>p</i> = 0.021
Compass31	8.89 ± 12.69	<i>p</i> = 0.01	<i>p</i> = 0.02
ALFSR-R	38.41 ± 5.86	<i>p</i> = 0.125	<i>p</i> = 0.757
Sex	-	<i>p</i> = 0.777	<i>p</i> = 0.921

Values are reported as mean ± SD; correlations were assessed using Pearson’s or Spearman’s tests, as appropriate.

The radar chart in Figure 2 represents a greater number of heterogeneous than homogeneous, and hyperechoic than hypo- or isoechoic vagus nerves that were found in ALS patients.



**Figure 2.** Radar chart showing homogeneity and echogenicity of the VN in ALS patients.

These findings suggest potential structural alterations in the VN. The observed variations in echogenicity levels between the control group and ALS patients may offer valuable insights into the impact of the disease. Notably, most changes in homogeneity and echogenicity were predominantly observed in patients with LMN and bulbar forms of ALS, with UMN forms being less informative in this context.

**4.3. USVN and Clinical Features of ALS Patients**

In our study, USVN findings were not statistically significant when compared to the ALFRS-R scale. However, significant correlations were observed between both USVN assessments and the COMPASS-31 scale. Specifically, the correlations were significant on the right side (*p* = 0.01) and left side (*p* = 0.02).

4.4. VN and RF in Patients with ALS

In the evaluation of the VN and RF, USVN of the right side of the VN did not reveal significant differences in respiratory parameters, including FEV, FEV1%, FVC, FVC%, FEV1/FVC ratio, and FEV1/FVC%. However, on the left side, significant changes were noted in the FEV1% parameter. No significant changes were observed in the other measures (Table 6).

Table 6. Correlations between measurements of the vagus nerve and respiratory parameters.

Resp. Parameters	Mean ± SD	Correlations with Right VN	Correlations with Left VN
FEV1	2.46 ± 1.07	0.617	0.064
FEV1%	75.84 ± 24.02	0.640	0.041
FVC1	3.02 ± 1.29	0.762	0.372
FVC%	73.03 ± 23.38	0.827	0.082
FEV1/FVC ratio	81.07 ± 6.32	0.600	0.489
FEV1/FVC%	102.38 ± 7.71	0.970	0.652

Values are reported as mean ± SD; correlations were assessed using Pearson’s or Spearman’s tests, as appropriate. Statistical significance:  $p < 0.05$ ; FEV—Forced Expiratory Volume; FVC—Forced Vital Capacity.

ABG analysis, including parameters such as pH,  $sO_2$ ,  $sCO_2$ ,  $pO_2$ , and  $HCO_3^-$ , was performed alongside the USVN. The only significant correlation was noted comparing  $sO_2$  values with the reduced CSA of the left VN for ALS patients ( $p = 0.049$ ). No other significant correlations were found (Table 7).

Table 7. Correlations between measurements of the VN and ABG parameters.

ABG Parameters	Mean ± SD	Correlations with Right VN	Correlations with Left VN
pH	7.43 ± 0.03	0.478	0.054
$pCO_2$	37.41 ± 5.45	0.364	0.261
$pO_2$	94.4 ± 17.29	0.736	0.625
$sO_2$	96.34 ± 1.79	0.454	0.049
$HCO_3^-$	24.03 ± 2.87	0.161	0.898
BE	0.38 ± 2.34	0.059	0.278

Values are reported as mean ± SD; correlations were assessed using Pearson’s or Spearman’s tests, as appropriate. Statistical significance:  $p < 0.05$ ; pH—acidity scale,  $sO_2$ —oxygen saturation;  $sCO_2$ —carbon dioxide saturation,  $pO_2$ —partial pressure of oxygen,  $HCO_3^-$ —bicarbonate concentration, BE—base excess.

4.5. Vagus Nerve and Heart Rate Variability (HRV)

SDNN values of ALS patients were  $70.91 \pm 20.39$  milliseconds (ms), indicating that they all probably had compromised cardiac health. RMSSD values for ALS patients were  $28.94 \pm 13.38$  ms. The result of pNN50 among ALS patients was extremely low, at  $2.61 \pm 1.83\%$ . Usually, lower values (below 10%) may suggest reduced HRV, which could be associated with stress, aging, or poor cardiovascular health. No correlations were found between HRV and the cross-sectional areas of right or left VN (Table 8).

Table 8. Correlations between measurements of the VN and HRV parameters.

HRV Parameters	Mean ± SD	Correlations with Right VN	Correlations with Left VN
SDNN, ms	70.91 ± 20.39	0.975	0.681
RMSSD, ms	28.94 ± 13.38	0.213	0.358
pNN50, %	2.61 ± 1.83	0.741	0.219

Values are reported as mean ± SD; correlations were assessed using Pearson’s or Spearman’s tests, as appropriate. Statistical significance:  $p < 0.05$ ; SDNN—standard deviation of the interbeat intervals of normal sinus beats, RMSSD—the root mean square of successive differences between normal heartbeats, pNN50 is the proportion of NN50 divided by the total number of NN (R-R) intervals.

## 5. Discussion

This study represents the first investigation of its kind in Lithuania. We performed a comparative analysis of the VN, evaluating its CSA, homogeneity, and echogenicity. These morphological parameters were assessed alongside clinical indicators, RF tests, ABG analyses, and clinical assessments using the ALSFRS-R and COMPASS-31 scales. This comprehensive approach allowed us to explore the correlation between USVN characteristics and various clinical and functional parameters in ALS patients, particularly focusing on respiratory function and heart rate variability.

This study revealed significant morphological changes in the VN of ALS patients compared to healthy controls. The observed reduction in the CSA of the VN in ALS patients highlights the nerve's susceptibility to neurodegenerative processes. Notably, variations in echogenicity and homogeneity suggest underlying structural alterations, potentially reflecting the severity and progression of ALS. These findings are consistent with those of other authors who have also observed reductions in the VN [9–11,15]. However, some researchers have not identified any ultrasonographic changes of the VN [27].

The diagnostic accuracy of the CSA of the VN alone for distinguishing bulbar from non-bulbar ALS appears to be limited, as suggested by previous studies [28]. Given these limitations, a combined diagnostic approach integrating USVN with other autonomic markers, such as HRV and composite autonomic symptom scores, could enhance its clinical utility. Additionally, alternative ultrasound parameters, such as VN fascicular structure and echogenicity, may provide a more comprehensive assessment of autonomic involvement in ALS. Further research is needed to validate these multimodal approaches and determine their role in ALS diagnostics.

The study demonstrated significant ultrasonographic associations between the right and left VN and various body metrics, including height, weight, BMI, waist circumference, and hip circumference ( $p < 0.001$  for most metrics). These findings suggest that larger body size, which typically indicates greater muscle and fat mass, might be correlated with changes in vagus nerve morphology. However, control group patients with a lower mass index did not show any USVN changes in the CSA.

The observed variations in echogenicity levels between the control group and ALS patients may offer valuable insights into the impact of the disease. Notably, most changes in homogeneity and echogenicity were predominantly observed in patients with LMN and bulbar forms of ALS, with UMN forms being less informative in this context.

Our results also showed significant associations between USVN findings and the COMPASS-31 scores. This indicates that changes in VN morphology correlate with autonomic dysfunction as measured by the COMPASS-31, suggesting that changes in nerve structure may manifest in measurable autonomic symptoms in ALS patients, highlighting the complex interplay between neurological and functional aspects of the disease. The COMPASS-31 correlation with VN morphology may reflect the involvement of autonomic pathways in ALS, particularly given the role of the VN in regulating autonomic functions. The observed relationship could indicate early autonomic dysfunction even in the absence of significant structural degeneration.

However, ALSFRS-R scores did not show a similar pattern of significant correlations, except for a marginal association with left-side findings ( $p = 0.125$ ). This suggests that while VN changes are linked with autonomic symptoms, they may not directly correlate with broader functional impairments captured by the ALSFRS-R.

Interestingly, the age at disease onset demonstrated a significant correlation with the left VN findings, but not with the right-side VN. This could indicate a side-specific vulnerability of the vagus nerve to early degenerative changes in ALS, or it might reflect asymmetrical disease progression, which is not uncommon in this condition. It could

also suggest that the left VN is more significantly impacted by the disease. Additionally, the duration of illness showed a significant association with the left VN, suggesting that longer disease duration might be linked to more pronounced ultrasonographic changes, particularly on the left side.

Examination of RF was almost unremarkable, except for a significant correlation between the reduction of the left VN and FEV1% parameter, highlighting a potential asymmetrical involvement of the VN in ALS as well. The observed significant variation in FEV1% on the left VN measurements might be attributed to the different impact of ALS on nerve function, which could be associated with atrophy, potentially influencing respiratory outcomes. However, ABG analysis showed no significant correlation with the VN assessments, probably suggesting that there is no direct association between the VN characteristics and oxygen saturation in the blood.

Research in ALS has highlighted the significance of HRV in understanding the disease's autonomic dysfunction. Studies consistently show that ALS patients exhibit significant alterations in HRV, pointing to ANS involvement, particularly in parasympathetic cardiovascular regulation. For example, ALS patients tend to demonstrate reduced HRV compared to healthy individuals, indicating vagal-sympathetic imbalance [24]. This imbalance is characterized by an increased mean resting heart rate, reduced standard deviation of R-R intervals, and an elevated low-frequency to high-frequency (LF/HF) ratio, all suggestive of altered sympathetic and parasympathetic control of cardiac function [29]. Further investigations have explored HRV variations in ALS patients with different levels of respiratory function. Advanced chaotic global analysis methods revealed increased complexity in HRV among ALS patients, particularly through chaotic parameters and entropy measures [29]. This increased HRV complexity underscores the profound impact of ALS on the ANS, extending beyond its well-known motor dysfunction. In our study, HRV analysis in the ALS group revealed reduced values of SDNN, RMSSD, and pNN50, consistent with the probable involvement of the ANS during ALS progression. However, HRV changes did not correlate with alterations in the USVN, suggesting that vagal autonomic dysfunction in ALS may be more functional than structural, aligning with previous findings that vagal visceral branches remain intact in advanced ALS stages [15,24]. Although degeneration of the VN in ALS may not be severe enough to directly impair heart rate regulation, cardiac function is modulated by a broader network of sympathetic and parasympathetic fibres within the ANS. Nevertheless, HRV alterations remain evident in ALS patients, reinforcing the role of autonomic dysfunction in disease progression.

The limitations of our study primarily include a small sample size and the lack of respiratory and cardiac function data for control participants, as such assessments are not routinely performed in healthy individuals. Secondly, ultrasonography of the peripheral nerves is challenging, and the real diagnostic accuracy might be low compared to other techniques, e.g., magnetic resonance imaging. A recent study explored high-resolution ultrasound and magnetic resonance microscopy for the differentiation of upper extremity peripheral nerve fascicles and concluded that ultrasound is less accurate [30]. The fascicular anatomy of the VN is complex and varies between individuals and along its length, which is a factor in correctly measuring CSA and requires experience. Thirdly, we did not observe the expected significant changes in HRV and did not conduct HRV analysis in the control group. A comprehensive evaluation of cardiac function was not performed, making it challenging to determine whether ALS patients were sufficiently homogeneous in this regard or if some individuals were more severely affected than others. Future studies could benefit from a multivariate analysis integrating various potential ALS diagnostic methods, such as ultrasonographic assessment of the vagus and phrenic nerves, RF tests, and HRV analysis, to identify the most reliable biomarkers.

## 6. Conclusions

Our findings underscore the complexity of neural involvement in ALS, as evidenced by alterations in USVN characteristics. However, the direct correlation between these changes and functional impairments remains variable. This complexity is further highlighted by the asymmetrical effects observed between the left and right sides of the body, suggesting a non-uniform progression of ALS. The study provides important insights into the involvement of the ANS, reflected through RF, HRV, and VN changes in ALS. Nevertheless, the diagnostic value of these markers for early ALS detection remains uncertain. Larger, prospective studies are required to test the hypothesis that these markers, particularly the degeneration of the VN and reduction in HRV, could aid in the earlier diagnosis of the disease.

**Author Contributions:** Conceptualization, O.L., J.D., R.B. and A.V.; methodology, O.L., J.D., R.B. and A.V.; software, O.L.; validation, R.B. and A.V.; formal analysis, O.L. and T.V.; investigation, O.L. and J.D.; resources R.B. and A.V.; data curation, O.L., J.D., R.B. and A.V.; writing—original draft preparation, O.L., J.D., T.V. and R.B.; writing—review and editing, R.B., A.R. and A.V.; visualization, O.L., T.V. and R.B.; supervision, A.V.; project administration, O.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and informed consent was obtained from all participants. The study protocol was approved by the Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee, with bioethical permission No. BE-2-40, issued on 17 May 2022. An analysis of medical documentation of participants, as well as laboratory and instrumental research data, was performed.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The original contributions presented in the study are included in the article; further inquiries can be directed to the corresponding authors.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## References


1. Longinetti, E.; Fang, F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: An update of recent literature. *Curr. Opin. Neurol.* **2019**, *32*, 771–776. [CrossRef] [PubMed]
2. Hardiman, O.; Al-Chalabi, A.; Chio, A.; Corr, E.M.; Logroscino, G.; Robberecht, W.; Shaw, P.J.; Simmons, Z.; van den Berg, L.H. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2017**, *3*, 17071. [CrossRef]
3. Al-Chalabi, A.; Hardiman, O. The epidemiology of ALS: A conspiracy of genes, environment and time. *Nat. Rev. Neurol.* **2013**, *9*, 617–628. [CrossRef] [PubMed]
4. Camacho-Soto, A.; Searles Nielsen, S.; Faust, I.M.; Bucelli, R.C.; Miller, T.M.; Racette, B.A. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in older adults. *Muscle Nerve* **2022**, *66*, 289–296. [CrossRef]
5. Byrne, S.; Walsh, C.; Lynch, C.; Bede, P.; Elamin, M.; Kenna, K.; McLaughlin, R.; Hardiman, O. Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2011**, *82*, 623–627. [CrossRef]
6. Ghasemi, M.; Brown, R.H.J. Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2018**, *8*, a024125. [CrossRef] [PubMed]
7. Turner, M.R.; UK MND Clinical Studies Group. Diagnosing ALS: The Gold Coast criteria the role of EMG. *Pract. Neurol.* **2022**, *22*, 176–178. [CrossRef]
8. Gwathmey, K.G.; Corcia, P.; McDermott, C.J.; Genge, A.; Sennfält, S.; de Carvalho, M.; Ingre, C. Diagnostic delay in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur. J. Neurol.* **2023**, *30*, 2595–2601. [CrossRef]
9. Tawfik, E.A. Vagus nerve ultrasound in a patient with amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* **2016**, *54*, 978–979. [CrossRef]
10. Holzapfel, K.; Naumann, M. Ultrasound Detection of Vagus Nerve Atrophy in Bulbar Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J. Neuroimaging* **2020**, *30*, 762–765. [CrossRef]
11. Walter, U.; Sobiella, G.; Prudlo, J.; Batchakaschvili, M.; Böhmert, J.; Storch, A.; Hermann, A. Ultrasonic detection of vagus, accessory, and phrenic nerve atrophy in amyotrophic lateral sclerosis: Relation to impairment and mortality. *Eur. J. Neurol.* **2024**, *31*, e16127. [CrossRef] [PubMed]

12. Laucius, O.; Druteika, J.; Balnyte, R.; Petrikonis, K.; Alisauskiene, M.; Vaitkus, A. Sonographic Phrenic Nerve Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Medicina* **2023**, *59*, 1745. [CrossRef] [PubMed]
13. Gentile, F.; Scarlino, S.; Falzone, Y.M.; Lunetta, C.; Tremolizzo, L.; Quattrini, A.; Riva, N. The Peripheral Nervous System in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Opportunities for Translational Research. *Front. Neurosci.* **2019**, *13*, 601. [CrossRef]
14. Nolano, M.; Provitera, V.; Caporaso, G.; Fasolino, I.; Borreca, I.; Stancanelli, A.; Iuzzolino, V.V.; Senerchia, G.; Vitale, F.; Tozza, S.; et al. Skin innervation across amyotrophic lateral sclerosis clinical stages: New prognostic biomarkers. *Brain* **2024**, *147*, 1740–1750. [CrossRef]
15. Papadopoulou, M.; Bakola, E.; Papapostolou, A.; Stefanou, M.I.; Moschovos, C.; Salakou, S.; Zis, P.; Zouvelou, V.; Kimiskidis, V.K.; Chroni, E.; et al. Autonomic dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis: A neurophysiological and neurosonology study. *J. Neuroimaging* **2022**, *32*, 710–719. [CrossRef]
16. Smith, J.A.B.; Murach, K.A.; Dyar, K.A.; Zierath, J.R. Exercise metabolism and adaptation in skeletal muscle. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2023**, *24*, 607–632. [CrossRef]
17. Oprisan, A.L.; Popescu, B.O. Dysautonomia in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 14927. [CrossRef] [PubMed]
18. Shefner, J.M.; Al-Chalabi, A.; Baker, M.R.; Cui, L.Y.; de Carvalho, M.; Eisen, A.; Grosskreutz, J.; Hardiman, O.; Henderson, R.; Matamala, J.M.; et al. A proposal for new diagnostic criteria for ALS. *Clin. Neurophysiol.* **2020**, *131*, 1975–1978. [CrossRef]
19. Walter, U.; Tsiberidou, P.; Kersten, M.; Storch, A.; Lohle, M. Atrophy of the Vagus Nerve in Parkinson's Disease Revealed by High-Resolution Ultrasonography. *Front. Neurol.* **2018**, *9*, 805. [CrossRef]
20. Shimizu, T. Sympathetic Hyperactivity and Sympathovagal Imbalance in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Eur. Neurol. Rev.* **2013**, *8*, 46–50. [CrossRef]
21. Ben Mrad, I.; Ben Mrad, M.; Besbes, B.; Zairi, I.; Ben Kahla, N.; Kamoun, S.; Mzoughi, K.; Kraiem, S. Heart Rate Variability as an Indicator of Autonomic Nervous System Disturbance in Behcet's Disease. *Int. J. Gen. Med.* **2021**, *14*, 4877–4886. [CrossRef] [PubMed]
22. Shaffer, F.; Ginsberg, J.P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Front. Public Health* **2017**, *5*, 258. [CrossRef]
23. Merico, A.; Cavinato, M. Autonomic dysfunction in the early stage of ALS with bulbar involvement. *Amyotroph. Lateral Scler.* **2011**, *12*, 363–367. [CrossRef]
24. Pisano, F.; Miscio, G.; Mazzuero, G.; Lanfranchi, P.; Colombo, R.; Pinelli, P. Decreased heart rate variability in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* **1995**, *18*, 1225–1231. [CrossRef]
25. Sletten, D.M.; Suarez, G.A.; Low, P.A.; Mandrekar, J.; Singer, W. COMPASS 31: A refined and abbreviated Composite Autonomic Symptom Score. *Mayo Clin. Proc.* **2012**, *87*, 1196–1201. [CrossRef] [PubMed]
26. Kim, Y.; Seok, J.M.; Park, J.; Kim, K.H.; Min, J.H.; Cho, J.W.; Park, S.; Kim, H.J.; Kim, B.J.; Youn, J. The composite autonomic symptom scale 31 is a useful screening tool for patients with Parkinsonism. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0180744. [CrossRef]
27. Weise, D.; Menze, I.; Metelmann, M.C.F.; Woost, T.B.; Classen, J.; Otto Pelz, J. Multimodal assessment of autonomic dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur. J. Neurol.* **2022**, *29*, 715–723. [CrossRef] [PubMed]
28. Müller, K.J.; Schmidbauer, M.L.; Schönecker, S.; Kamm, K.; Pelz, J.O.; Holzapfel, K.; Papadopoulou, M.; Bakola, E.; Tsvigoulis, G.; Naumann, M.; et al. Diagnostic accuracy and confounders of vagus nerve ultrasound in amyotrophic lateral sclerosis—a single-center case series and pooled individual patient data meta-analysis. *J. Neurol.* **2024**, *271*, 6255–6263. [CrossRef]
29. Pimentel, R.M.M.; Ferreira, C.; Valenti, V.; Garner, D.M.; Macedo, H., Jr.; Oliveira, A.S.B.; Leitão, F.N.C.; de Abreu, L.C. Complexity Measures of Heart-Rate Variability in Amyotrophic Lateral Sclerosis with Alternative Pulmonary Capacities. *Entropy* **2021**, *23*, 159. [CrossRef]
30. Pušnik, L.; Radochová, B.; Janáček, J.; Saudek, F.; Serša, I.; Cvetko, E.; Umek, N.; Snoj, Ž. Fascicle differentiation of upper extremity nerves on high-resolution ultrasound with multimodal microscopic verification. *Sci. Rep.* **2025**, *15*, 557. [CrossRef]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Article

# Ultrasonography of the Vagus Nerve in Parkinson's Disease: Links to Clinical Profile and Autonomic Dysfunction

Ovidijus Laucius <sup>1,\*</sup>, Justinas Drūteika <sup>1</sup>, Tadas Vanagas <sup>1,\*</sup>, Renata Balnytė <sup>1</sup> , Andrius Radžiūnas <sup>2</sup> and Antanas Vaitkus <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, 44307 Kaunas, Lithuania; justinas.druteika@lsmu.lt (J.D.); renata.balnyte@lsmu.lt (R.B.); antanas.vaitkus@lsmu.lt (A.V.)

<sup>2</sup> Department of Neurosurgery, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, 44307 Kaunas, Lithuania; andrius.radziunas@lsmu.lt

\* Correspondence: ovidijus.laucius@lsmu.lt (O.L.); tadas.vanagas@lsmu.lt (T.V.)

## Abstract

**Background:** Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by both motor and non-motor symptoms, including autonomic dysfunction. Structural alterations in the vagus nerve (VN) may contribute to PD pathophysiology, though existing data remain inconsistent. **Objective:** This study aimed to evaluate morphological changes in the VN using high-resolution ultrasound (USVN) and to investigate associations with autonomic symptoms, heart rate variability (HRV), and clinical characteristics in PD patients. **Methods:** A cross-sectional study was conducted involving 60 PD patients and 60 age- and sex-matched healthy controls. USVN was performed to assess VN cross-sectional area (CSA), echogenicity, and homogeneity bilaterally. Autonomic symptoms were measured using the Composite Autonomic Symptom Scale 31 (COMPASS-31). HRV parameters—SDNN, RMSSD, and pNN50—were obtained via 24 h Holter monitoring. Additional clinical data included Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) scores, transcranial sonography findings, and third ventricle width. **Results:** PD patients showed significantly reduced VN CSA compared to controls (right:  $1.90 \pm 0.19 \text{ mm}^2$  vs.  $2.07 \pm 0.18 \text{ mm}^2$ ; left:  $1.74 \pm 0.21 \text{ mm}^2$  vs.  $1.87 \pm 0.22 \text{ mm}^2$ ;  $p < 0.001$  and  $p < 0.02$ ). Altered echogenicity and decreased homogeneity were also observed. Right VN CSA correlated with body weight, third ventricle size, and COMPASS-31 scores. Left VN CSA was associated with body size parameters and negatively correlated with RMSSD ( $p = 0.025$ ,  $r = -0.21$ ), indicating reduced vagal tone. **Conclusions:** USVN detects structural VN changes in PD, correlating with autonomic dysfunction. These findings support its potential as a non-invasive biomarker for early autonomic involvement in PD.

**Keywords:** vagus nerve; ultrasound; heart rate variability; Parkinson's disease (PD); autonomic nervous system



Received: 20 July 2025  
Revised: 11 August 2025  
Accepted: 21 August 2025  
Published: 25 August 2025

**Citation:** Laucius, O.; Drūteika, J.; Vanagas, T.; Balnytė, R.; Radžiūnas, A.; Vaitkus, A. Ultrasonography of the Vagus Nerve in Parkinson's Disease: Links to Clinical Profile and Autonomic Dysfunction. *Biomedicines* **2025**, *13*, 2070. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13092070>

**Copyright:** © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

*Biomedicines* **2025**, *13*, 2070

<https://doi.org/10.3390/biomedicines13092070>

## 1. Introduction

Parkinson's disease (PD), initially identified as “shaking palsy” by Dr. James Parkinson in 1817, represents a long-term, evolving condition marked by the degradation of both motor and non-motor functions. This disease profoundly affects individuals diagnosed with it, along with their families and those caring for them, by progressively impairing movement and muscle coordination [1].

PD incidence rate is usually comprised between 8 and 18 per 100,000 person-years [2]. The disease manifests in 1% of the population aged 60 years and above. Its occurrence is rare in individuals under 50 years of age, with prevalence increasing to 3% among the elderly people above 80. These findings underscore the age-dependent nature of the disease's prevalence, with a substantial rise noted in advanced age groups [3]. PD is less frequent in Asia than in North America, Europe and Australia [4]. Environmental risk factors such as cigarette smoking, coffee and tea consumption, and exposure to pesticides, especially insecticides like organochlorines, have been associated with Parkinson's disease (PD). These factors highlight the complex interplay between genetics and the environment in PD development [5].

PD is widely recognized as a disorder that affects motor skills but also profoundly impacts multiple systems including the autonomic nervous system [6]. These autonomic disturbances are often evident well before the motor symptoms manifest, highlighting the systemic nature of PD [7]. Non-motor features such as olfactory dysfunction, cognitive impairment, psychiatric symptoms, sleep disorders, autonomic dysfunction, pain, and fatigue are prevalent in the early stages of Parkinson's disease leading to a decline in health-related quality of life [8].

Two fundamental pathological features characterize autonomic dysfunction in PD: autonomic neuronal degeneration and the accumulation of  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ Syn). Neuronal degeneration manifests as the loss of neurons, degeneration of nerve fibers, and disruption of synaptic connections. The pathological accumulation of  $\alpha$ Syn results in the formation of Lewy bodies, a hallmark of PD [9]. The central autonomic network, which includes the cerebral cortex, insular cortex, hypothalamus, brainstem, and spinal cord, is affected by both neuronal loss and  $\alpha$ Syn deposition, as demonstrated in various neuropathological studies [10–15]. In the peripheral autonomic nervous system, structures such as VN, sympathetic nerve fibers, and enteric neural plexuses also exhibit significant neuronal loss and  $\alpha$ Syn pathology. Notably,  $\alpha$ Syn aggregation in these peripheral structures may occur earlier than in central nervous system regions, suggesting a potential peripheral origin of the disease process [15–18]. Moreover, aging induces structural degeneration in vagal afferents, impairing gut sensory feedback and motility control. Neurons in the nodose and dorsal root ganglia accumulate inclusions and lose Nissl substance, while their gastrointestinal terminals, including intraganglionic laminar endings (IGLEs) and villi afferents, undergo dystrophic changes such as axonal swellings, regression, and morphological distortions. These alterations likely result from reduced trophic support due to age-related loss of enteric neurons and interstitial cells of Cajal. The decline in vagal afferent integrity contributes to gastrointestinal dysfunctions like dysmotility and visceral hypersensitivity [19].

Early recognition of autonomic dysfunction is essential for effective intervention, as timely management can significantly improve patient outcomes. Treatment typically involves a multifaceted approach that begins with identifying and discontinuing medications that may contribute to or exacerbate autonomic symptoms. Patient education plays a crucial role, empowering individuals to recognize symptom triggers and adopt lifestyle modifications that can enhance autonomic stability. Non-pharmacological interventions, such as dietary modifications, physical therapy, compression garments, and fluid/salt intake adjustments, are often recommended as first-line strategies. In cases where symptoms persist or significantly impact quality of life, pharmacologic therapy tailored to the specific pathophysiological mechanisms involved may be necessary. A personalized, multidisciplinary approach incorporating neurologists, cardiologists, and autonomic specialists is often beneficial in optimizing patient care [20].

The vagus nerve (VN) has traditionally been studied for its efferent functions, particularly as the primary parasympathetic counterpart to the sympathetic nervous system, providing parasympathetic innervation to most organs. The parasympathetic and sympathetic nervous systems work in dynamic opposition, collectively regulating essential autonomic functions to maintain physiological balance [21]. Sympathetic activation causes blood vessel constriction, bronchodilation, an elevated heart rate, and the tightening of intestinal and urinary sphincters, reflecting its role in preparing the body for stress and heightened activity. In the neck, VN innervates most of the pharyngeal and laryngeal muscles, which are essential for swallowing and vocalization. It plays a crucial role in controlling speech and airway protection by regulating relevant muscles. In the thorax, VN provides the primary parasympathetic input to the heart, contributing to heart rate regulation by promoting a reduction in cardiac activity. This autonomic function helps maintain cardiovascular balance, particularly during periods of rest and digestion [22,23]. In PD autonomic dysfunctions such as orthostatic hypotension, which affects up to 58% of patients [24,25], and decreased heart rate variability, are common [26]. These issues are strongly associated with a worsening in the overall severity of the disease.

In this study we investigate structural changes in the VN in patients with PD and their potential association with clinical features of the disease. Using high-resolution ultrasound imaging, the study aims to evaluate the cross-sectional area, echogenicity, and homogeneity of the VN in PD patients compared to the control group. By analyzing these morphological parameters alongside clinical assessments, autonomic function tests, and neuroimaging findings, the study seeks to determine whether VN alterations can serve as an early biomarker of neurodegeneration in PD. Understanding these structural changes may contribute to improved diagnostic accuracy and the development of targeted interventions for autonomic dysfunction in PD.

## 2. Materials and Methods

The research adhered to the Declaration of Helsinki guidelines, and all participants provided informed consent. The protocol received approval from the Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee, with the ethical clearance number BE-2-40 dated 17 May 2022. The study involved analyzing data from medical records and results from instrumental research of the participants.

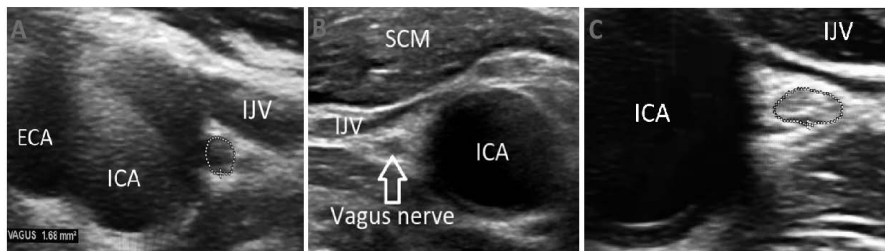
The investigation was conducted at the Department of Neurology, Lithuanian University of Health Sciences, between 2022 and 2024. The study cohort comprised two groups: one group included 60 patients diagnosed with PD, and the other group consisted of 60 healthy controls, matched for age and sex with the PD patients. PD patients were adults, diagnosed according to widely recognized MDS Clinical Diagnostic criteria for PD [27]. Healthy individuals included in the study were also adults, who had no prior diagnoses of neurodegenerative diseases, polyneuropathies, neuromuscular junction disorders, endocrine disorders, cancer, or any other conditions that could influence the study results. We only excluded PD patients who did not sign the informed consent form.

All participants took part in an interview and completed questionnaires to collect clinical and demographic information, including age, sex, height, body mass index (BMI), hip and waist circumference, disease duration, comorbidities, and current medications. In patients with Parkinson's disease, the VN was evaluated for cross-sectional area (CSA), homogeneity, and echogenicity. These morphological characteristics were analyzed in relation to clinical parameters, Sniffin' Sticks Screening 12 test, Unified Parkinson's disease rating scale (UPDRS), transcranial sonography (TCS) parameters, the Composite Autonomic Symptom Scale 31 (COMPASS-31) and heart rate variability (HRV) metrics. Vagus nerve ultrasonography (USVN) was performed for the control group patients as well.

### 2.1. Vagus Nerve Ultrasonography

Ultrasound evaluation of the vagus nerve was performed independently by two examiners using a Philips EPIQ 7 machine (Arbor Medical Corporation LT, Baltu pr. 145, Kaunas, LT-47125, Lithuania), with a high-resolution 4–18 MHz linear array transducer (CE 0086). The probe was oriented transversely in the lower cervical region, just above the clavicle, in line with the levator scapulae muscle, to visualize the nerve as it runs along the anterior scalene muscle. In B-mode imaging, the vagus nerve was recognized in close proximity to the carotid bifurcation, positioned posterior to the confluence of the internal and common carotid arteries, and displayed the characteristic sonographic appearance of a centrally hypoechoic structure encased by a hyperechoic connective tissue rim.

Measurements of the nerve's diameter were obtained in millimeters from transverse images at two distinct sites: in the vicinity of the carotid bulb and at the level of the common carotid artery bifurcation. Both morphometric and qualitative characteristics were documented. The internal echotexture was described as either uniform or non-uniform, and echogenicity was categorized as hypoechoic, isoechoic, or hyperechoic (Figure 1).



**Figure 1.** (A) Ultrasonography of the vagus nerve (USVN) showing a hypoechoic and homogeneous structure in a healthy volunteer. (B) USVN of a PD patient demonstrating an isoechoic and homogeneous appearance (C) USVN of a PD patient, demonstrating a hyperechoic and heterogeneous appearance. The dotted circle indicates the cross-sectional area of the vagus nerve. SCM—sternocleidomastoid muscle; IJV—internal jugular vein; ICA—internal carotid artery; ECA—external carotid artery.

For CSA measurements, a transverse imaging approach was used to delineate the hypoechoic nerve boundary against its hyperechoic margin, following the methodology described by Walter in 2018 [28]. Each examiner performed three independent measurements per side, ensuring a measurement precision of 0.01 mm<sup>2</sup>. The mean of the three values was calculated for each side, followed by an overall average. To minimize bias, both examiners conducted their assessments independently and were blinded to each other's results.

### 2.2. Heart Rate Variability

Heart rate variability (HRV) refers to the variation in the time intervals between successive heartbeats and serves as a vital marker of neuro-cardiac function. It reflects the heart's capacity to respond and adapt to both internal physiological changes and external environmental demands through modulation by the autonomic nervous system, highlighting the continuous interaction between the brain and the heart [29]. HRV is not only a reflection of cardiac function but also represents the dynamic interplay of multiple regulatory systems operating across various time scales. This adaptability is essential for maintaining homeostasis in the face of psychological and environmental challenges. Through autonomic regulation, HRV influences key physiological functions such as blood pressure control, respiratory dynamics, and vascular tone. Moreover, it

extends its regulatory role to other bodily systems, including the gastrointestinal and musculoskeletal systems, illustrating the widespread impact of autonomic nervous system activity on overall health and function [30].

In this study, HRV was evaluated using data obtained from 24 h Holter monitoring in patients with PD. Three key HRV parameters were analyzed: SDNN (normal > 100 ms, borderline 50–100 ms, abnormal < 50 s), which represents the standard deviation of normal-to-normal (NN) intervals and serves as a general indicator of overall heart rate variability and cardiac risk; RMSSD (normal > 42 ms, abnormal < 20–25 ms), the root mean square of successive differences between NN intervals, which reflects parasympathetic (vagal) activity; and pNN50 (normal > 15%, abnormal < 3%), the percentage of successive NN intervals that differ by more than 50 milliseconds, also associated with parasympathetic nervous system function. Together, these metrics offer valuable insights into autonomic nervous system regulation.

### 2.3. COMPASS-31

The Composite Autonomic Symptom Scale 31 (COMPASS-31) is a standardized questionnaire used to screen and quantify symptoms of autonomic nervous system (ANS) dysfunction. Adapted from the original 169-item Autonomic Symptom Profile, it condenses the assessment into 31 targeted questions spanning six domains: orthostatic intolerance, vasomotor, secretomotor, gastrointestinal, bladder, and pupillomotor function. By providing a weighted score, it offers a quick yet comprehensive overview of autonomic symptom burden, facilitating both clinical evaluation and research applications. Total scores range from 0 to 100 with higher values indicating greater autonomic symptom burden. There is no strict cut-off value to indicate ANS dysfunction using COMPASS-31 and in the research field of PD, it is usually treated as a continuous variable [31].

### 2.4. Statistical Analysis

In this study, both descriptive and inferential statistical analyses were employed. Data processing was carried out using Microsoft Excel and IBM SPSS Statistics, version 29.0. For variables with a normal distribution, we applied a two-tailed *t*-test and presented results as mean values with corresponding standard deviations. In cases where the data did not meet the assumptions of normality, the Mann–Whitney U test was used, and results were reported as medians with minimum and maximum values. To evaluate correlations, the Pearson correlation coefficient was applied for normally distributed variables, while the Spearman rank correlation test was used for non-normally distributed data. A *p*-value of less than 0.05 was considered statistically significant for all analyses.

## 3. Results

### 3.1. Demographic and Clinical Characteristic of PD Patients

In a comparative study examining the demographic and clinical characteristics of PD and control group patients, each group consisted of 60 participants. The mean age in the PD group was  $65.23 \pm 9.22$  years, compared to  $63.62 \pm 10.96$  years in the control group, though this difference was not statistically significant ( $p = 0.123$ ). The gender distribution (M:F ratio) showed a slight statistically insignificant variation (1.07:1 in controls vs. 1:1.31 in the PD group;  $p = 0.361$ ). The hip circumference was found to be significantly higher in the PD group ( $p = 0.04$ ). Other body measurements, including weight, height, waist circumference, and BMI, showed no significant differences, suggesting that PD does not substantially affect these characteristics compared to controls (Table 1).

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of patients with PD and control group.

Variable	Control Group (SD = n)	PD Group (SD = n)	p Value <sup>a</sup>
Number	60	60	
Age years, mean ± SD (range, years)	63.62 (SD = 10.96)	65.23 (SD = 9.22)	<i>p</i> = 0.123
Sex (M:F)	1.07:1	1:1.31	<i>p</i> = 0.361 <sup>b</sup>
Weight kg, mean ± SD (range, kg)	80.47 (SD = 13.207)	79.07 (SD = 14.343)	<i>p</i> = 0.679
Height cm, mean ± SD (range, cm)	170.43 (SD = 9.553)	170.88 (SD = 9.152)	<i>p</i> = 0.905
Hip circumference ± SD (range, cm)	92.55 (SD = 9.722)	95.00 (SD = 12.337)	<i>p</i> = 0.04
Waist circumference ± SD (range, cm)	103.03 (SD = 7.811)	102.30 (SD = 8.850)	<i>p</i> = 0.504
BMI kg/m <sup>2</sup> ± min/max (range, kg/m <sup>2</sup> )	26.93 (19.48–39.5)	27.68 (18.67–36.57)	<i>p</i> = 0.258 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Student’s *t*-test; <sup>b</sup>  $\chi^2$  test for equality of proportions; <sup>c</sup> Mann–Whitney U test; BMI—Body Mass Index.

PD group participants were included at any stage after visiting a neurologist (Table 2).

**Table 2.** Parkinson’s disease group patients by Hoehn–Yahr stages.

Hoehn–Yahr Stages	Number	M:F	Percentage (%)
1	3	3:0	5
1.5	3	0:3	5
2	6	3:3	10
2.5	5	4:1	8.3
3	18	12:6	30
4	14	7:7	23.3
5	11	2:9	18.3
	60	31:29	100

Hoehn–Yahr stages—system for describing how the symptoms of Parkinson’s disease progress.

**3.2. USVN Changes in PD Patients and Association with Clinical Features**

In the control group, the average VN CSA measured  $2.07 \pm 0.18 \text{ mm}^2$  on the right and  $1.87 \pm 0.22 \text{ mm}^2$  on the left. Among patients with PD, the CSA was significantly smaller, averaging  $1.90 \pm 0.19 \text{ mm}^2$  on the right ( $p < 0.001$ ) and  $1.74 \pm 0.21 \text{ mm}^2$  on the left ( $p < 0.02$ ) when compared with controls (Table 3). When evaluating the relationship between VN CSA and PD stage, statistically significant associations were observed on both sides. On the right side, a significant correlation was found using Pearson’s correlation ( $p = 0.016$ ), while on the left side, Spearman’s correlation revealed a similarly significant relationship ( $p = 0.003$ ). However, when comparing CSA values across PD stages using the Kruskal–Wallis test, no statistically significant differences were identified between the groups. On the right side, the *p*-value was 0.066, and on the left side, 0.069, indicating trends toward significance but not meeting the conventional threshold ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Cross-sectional area of the vagus nerve between groups.

Side of the VN	Control Group	PD Group	p Value
Right VN	$2.07 \pm 0.18$	$1.90 \pm 0.19$	$<0.001$
Left VN	$1.87 \pm 0.22$	$1.74 \pm 0.21$	$<0.02$

Values are stated using mean ± SD (standard deviation) values;  $\chi^2$  test for equality of proportions.

Significant differences in homogeneity and echogenicity of the VN were observed between the control and PD groups. The right VN was 96.7% homogenic in control group versus 23.3% in the PD group patients ( $p < 0.001$ ). The left VN was 83.3% homogenic in control group versus 3.3% in PD group ( $p < 0.001$ ). Hypoechoogenicity was predominant in

controls for both right (73.3%) and left VN (68.3%) compared to the PD group (16.7% and 15.0%, respectively), with isoechoic and hyperechoic patterns more prevalent in the PD group. Additional data are shown in Table 4.

**Table 4.** Homogeneity and echogenicity of the right and left VN between groups.

A-1. Homogeneity of the Right VN Between Groups			
Homogeneity	Control Group	PD Group	p Value
Homogeneous N; %	58; 96.7%	14; 23.3%	<0.001
Heterogeneous N; %	2; 3.3%	46; 76.7%	
A-2. Homogeneity of the left VN between groups.			
Homogeneity	Control Group	PD Group	p Value
Homogeneous N; %	50; 83.3%	2; 3.3%	<0.001
Heterogeneous N; %	10; 16.7%	58; 96.7%	
B-1. Echogenicity of the Right VN Between Groups			
Echogenicity	Control Group	PD Group	p Value
Hypoechoic N; %	44; 73.3%	10; 16.7%	<0.001
Isoechoic N; %	16; 26.7%	38; 63.3%	
Hyperechoic N; %	0	12; 20%	
B-2. Echogenicity of the left VN Between Groups.			
Echogenicity	Control Group	PD Group	p Value
Hypoechoic N; %	41; 68.3 %	9; 15%	<0.001
Isoechoic N; %	19; 31.7%	39; 65%	
Hyperechoic N; %	0	12; 20%	

Values are stated using absolute values and percentage values;  $\chi^2$  test for equality of proportions. A-1, A-2—homogeneity of the vagus nerve between groups. B-1, B-2—echogenicity of the vagus nerve between groups.

Weight ( $p = 0.021$ ,  $r = 0.296$ ), third ventricle size ( $p = 0.026$ ,  $r = 0.021$ ), and COMPASS-31 score ( $p = 0.047$ ,  $r = 0.257$ ) showed significant correlations with the right VN measurements. Other clinical features, including age, gender, BMI, waist and hip circumference, and TCS measurements, were not significantly associated ( $p > 0.05$ ). These findings suggest potential relevance of weight, third ventricle size, and COMPASS-31 score for the measurements of the right VN (Table 5).

**Table 5.** Correlations of the results of the right USVN and clinical features of PD patients.

Clinical Features	Mean (SD)	Right USVN	
		p Value	r Values
Age, years	65.23 (7.982)	$p = 0.700$	$r = 0.510$
Height, cm	170.88 (9.152)	$p = 0.159$	$r = 0.184$
Weight, kg	79.07 (14.343)	<b><math>p = 0.021</math></b>	<b><math>r = 0.296</math></b>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	26.93 (4.062)	$p = 0.130^b$	$r = 0.198$
Waist circumference, cm	95.00 (12.337)	$p = 0.145$	$r = 0.190$
Hip circumference, cm	102.30 (8.850)	$p = 0.807$	$r = 0.032$
TKS right, cm	0.29 (0.073)	$p = 0.197$	$r = -0.169$
TKS left, cm	0.32 (0.082)	$p = 0.651^b$	$r = -0.060$
Third ventricle	0.81 (0.149)	<b><math>p = 0.026</math></b>	<b><math>r = 0.021</math></b>
Compass31	23.77 (13.458)	<b><math>p = 0.047</math></b>	<b><math>p = 0.257</math></b>
Gender	-	$p = 0.271$	$p = -0.145$

Values are stated using mean and standard deviation (SD) values; Pearson and Spearman (<sup>b</sup>) correlations. Statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are highlighted in bold.

Height ( $p = 0.002$ ,  $r = 0.384$ ) and weight ( $p = 0.003$ ,  $r = 0.378$ ) showed significant positive correlations with the left USVN, while third ventricle size ( $p = 0.007$ ,  $r = 0.343$ ) was also significantly associated. Other clinical features, including age, gender, BMI, waist and hip circumference, and TCS measurements, did not show significant correlations ( $p > 0.05$ ) with the measurements of VN (Table 6).

**Table 6.** Correlations of the results of the left USVN and clinical features of PD patients.

Clinical Features	Mean (SD)	Left USVN	
		<i>p</i> Value	<i>r</i> Values
Age, years	65.23 (7.982)	$p = 0.081$	$r = -0.227$
Height, cm	170.88 (9.152)	<b><math>p = 0.002</math></b>	<b><math>r = 0.384</math></b>
Weight, kg	79.07 (14.343)	<b><math>p = 0.003</math></b>	<b><math>r = 0.378</math></b>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	26.93 (4.062)	$p = 0.112$	$r = 0.207$
Waist circumference, cm	95.00 (12.337)	$p = 0.065$	$r = 0.240$
Hip circumference, cm	102.30 (8.850)	$p = 0.556$	$r = -0.076$
TKS right, cm	0.29 (0.073)	$p = 0.180$	$r = -0.175$
TKS left, cm	0.32 (0.082)	$p = 0.674$	$r = -0.055$
Third ventricle	0.81 (0.149)	<b><math>p = 0.007</math></b>	<b><math>r = 0.343</math></b>
Compass31	23.77 (13.458)	$p = 0.528$	$p = 0.830$
Sex	-	$p = 0.175$	$p = 0.210$

Values are stated using mean and standard deviation (SD = n) values, Spearman correlations. Statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are highlighted in bold.

No significant correlations were observed between the right USVN and HRV parameters, including SDNN ( $p = 0.667$ ,  $r = -0.057$ ), RMSSD ( $p = 0.289$ ,  $r = -0.139$ ), and pNN50 ( $p = 0.306$ ,  $r = -0.134$ ). In contrast, left USVN demonstrated a significant negative correlation with RMSSD ( $p = 0.025$ ,  $r = -0.421$ ), indicating a potential association between reduced vagal activity and left VN measurements. However, no significant correlations were found between the left USVN and SDNN ( $p = 0.930$ ,  $r = 0.012$ ) or pNN50 ( $p = 0.109$ ,  $r = -0.209$ ), as presented in Table 7.

**Table 7.** Correlations between measurements of right VN and HRV parameters in PD group.

HRV Parameters	Mean (SD)	Right USVN	
		<i>p</i> Values	<i>r</i> Value
SDNN, ms	67.80 (SD = 19.422)	0.667	-0.057
RMSSD, ms	27.82 (SD = 11.967)	0.289	-0.139
pNN50, %	3.73 (SD = 2.736)	0.306 <sup>b</sup>	-0.134
Left USVN			
SDNN, ms	67.80 (SD = 19.422)	0.930	0.120
RMSSD, ms	27.82 (SD = 11.967)	<b>0.025</b>	<b>-0.421</b>
pNN50, %	3.73 (SD = 2.736)	0.109	-0.209

Values are stated using mean and standard deviation (SD = n) values; Pearson and Spearman (<sup>b</sup>) correlations. Statistically significant results ( $p < 0.05$ ) are highlighted in bold.

#### 4. Discussion

This study confirms and extends the findings of recent high-resolution ultrasound studies demonstrating significant atrophy of the VN in PD patients compared to controls [28,32–37]. Our results show a notable decrease in the CSA of the VN in PD patients,

highlighting similar neurodegenerative mechanisms across different neurological disorders. Walter et al. reported a significant reduction in the VN caliber in PD patients which did not correlate with disease duration or severity, suggesting that vagal atrophy is a relatively early event in neurodegenerative processes [28]. Similarly, Pelz et al. found that both left and right VN were significantly thinner in PD patients, reinforcing the notion that neurodegenerative changes in the VN can be detected independently of the clinical stages of the disease [34]. However, not all studies demonstrate a significant reduction in VN size on ultrasound between groups [38,39]. Neither of the studies included body measurements, which could have influenced the outcomes. Furthermore, a previous study on healthy individuals demonstrated that BMI was significantly correlated with the size of VN, even between sides [40]. However, other studies suggest that height and weight [41] and other parameters as age, gender, height, weight, BMI, heart rate, systolic blood pressure, diastolic blood pressure in patients with diabetes mellitus do not correlate with the size of VN [42].

Our study reveals notable differences in echogenicity, particularly with the higher incidence of hypoechoogenicity in the control group compared to the PD group. This observation suggests potential underlying differences in tissue architecture that could be indicative of neurodegenerative processes. Neuropathological research indicates that gastrointestinal dysfunction in PD is primarily linked to the accumulation of  $\alpha$ Syn inclusions (Lewy neuritis) in both the enteric nervous system (ENS) and the dorsal motor nucleus of the VN. A few autopsy studies have been conducted, and both demonstrate structural and functional changes in various neurological conditions, including degenerative diseases such as PD. Research suggests that axonal degeneration,  $\alpha$ Syn accumulation, and loss of parasympathetic innervation contribute to its deterioration [27]. Furthermore, axonal degeneration, along with dorsal motor nucleus degeneration, has been highlighted as a key factor in the development of non-motor symptoms (NMS) in PD [43–45]. Notably, still there appears to be a gap in existing literature regarding the specific role of echogenicity evaluation as a diagnostic marker in neurodegenerative diseases, which our findings begin to address.

The study on the correlation between USVN and clinical features in patients with PD provides valuable insights into potential diagnostic and prognostic indicators for the disease. The significant associations observed between right USVN measurements and clinical parameters such as weight, third ventricle size, and COMPASS-31 scores are particularly noteworthy. The left side USVN demonstrated significant associations between height, weight and third ventricle size. Enlargement of the third ventricle is linked to cognitive impairment not only in PD but also in other neurodegenerative disorders, including Alzheimer's disease and multiple sclerosis [46–49]. While it is not a specific indicator, its assessment using ultrasound adds value as an additional diagnostic tool.

The correlation between COMPASS-31 scores and ultrasound measurements of the right USVN in patients with PD. The analysis shows a weak positive correlation with an r-value of 0.257, which is statistically significant ( $p = 0.047$ ). This suggests that there might be a relationship between the severity of autonomic symptoms and the anatomical features of the right VN in these patients. This finding highlights the potential importance of the VN in autonomic dysfunction in PD and warrants further investigation to explore this connection more deeply. However, some studies did not show a relationship between the VN CSA and autonomic neuropathy using COMPASS-31 [42].

The presented data also reveals interesting correlations between USVN measurements and HRV parameters in the PD group. Notably, the RMSSD parameter showed a significant negative correlation with left USVN measurements, suggesting a decrease in vagal tone and autonomic dysfunction in these patients. This correlation implies that structural changes in the VN, as reflected by ultrasound measurements, may influence HRV, potentially

affecting autonomic regulation. Conversely, other HRV parameters like SDNN and pNN50 showed no significant correlation, highlighting the complexity of autonomic nervous system involvement in neurodegenerative diseases. This suggests that while some aspects of autonomic function (reflected by RMSSD) correlate with VN structure, other dimensions of HRV might be influenced by additional factors not captured solely by USVN.

Our study has several limitations. Firstly, the sample of our study is rather small and heterogeneous. We gathered PD patients affected by the disease at various stages (as measured by Hoehn–Yahr stage) and using various PD medications that might influence HRV. The data regarding the influence of dopaminergic therapy for HRV is inconclusive. Some studies support the contributory effect of levodopa medication in early PD [50], while others report no significant change or even further reduction in HRV [51]. Systematic reviews and meta-analyses, including Heimrich et al. (2021), confirm that HRV is generally reduced in PD, reflecting impaired autonomic (particularly parasympathetic) control—but he emphasizes variations across disease stages and modalities [52]. One aim of our study was to grossly see if morphological changes in the VN could be related to any disruption of ANS and our study suggests that there are correlations but another study with more PD patients could answer the question if and how ANS is influenced by specific PD therapy. We also did not evaluate for specific comorbidities of PD patients that might influence HRV and other ANS functions.

## 5. Conclusions

The pronounced contrast in echogenic patterns between the control and PD groups could provide a foundation for using echogenicity as a non-invasive diagnostic tool. In our study, the control group exhibited more consistent hypoechogenicity, potentially representing a normal or less-altered state, whereas the variation observed in the PD group might reflect pathological changes, such as increased tissue density or gliosis.

Findings of this study highlight the relevance of ultrasonographical examination of the VN in clinical settings, particularly in the early diagnosis and monitoring of ALS. Continued research is necessary to further elucidate the mechanisms underlying these changes and to confirm whether these ultrasonographical markers can effectively predict disease progression or response to treatment.

**Author Contributions:** Conceptualization, O.L.; Methodology, O.L. and A.R.; Software, J.D.; Formal analysis, O.L.; Investigation, O.L. and J.D.; Data curation, O.L. and R.B.; Writing—original draft, O.L., J.D. and T.V.; Writing—review & editing, T.V. and A.R.; Visualization, R.B., A.R. and A.V.; Supervision, R.B. and A.V.; Project administration, R.B. and A.V. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee with the ethical clearance number BE-2-40 dated 17 May 2022.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** Data is contained within the article.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Hughes, R.C. Parkinson's Disease and its Management. *BMJ* **1994**, *308*, 281. [CrossRef]
2. Lee, A.; Gilbert, R.M. Epidemiology of Parkinson Disease. *Neurol. Clin.* **2016**, *34*, 955–965. [CrossRef]
3. Tysnes, O.B.; Storstein, A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J. Neural Transm.* **2017**, *124*, 901–905. [CrossRef]

4. Pringsheim, T.; Jette, N.; Frolkis, A.; Steeves, T.D.L. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Mov. Disord.* **2014**, *29*, 1583–1590. [CrossRef]
5. Delamarre, A.; Meissner, W.G. Épidémiologie, facteurs de risque environnementaux et génétiques de la maladie de Parkinson. *Press Médicale* **2017**, *46*, 175–181. [CrossRef]
6. Costa, H.N.; Esteves, A.R.; Empadinhas, N.; Cardoso, S.M. Parkinson's Disease: A Multisystem Disorder. *Neurosci. Bull.* **2023**, *39*, 113–124. [CrossRef] [PubMed]
7. Cousineau, J.P.; Dawe, A.M.; Alpaugh, M. Investigating the Interplay between Cardiovascular and Neurodegenerative Disease. *Biology* **2024**, *13*, 764. [CrossRef] [PubMed]
8. Balestrino, R.; Schapira, A.H.V. Parkinson disease. *Eur. J. Neurol.* **2020**, *27*, 27–42. [CrossRef]
9. Chen, Z.; Li, G.; Liu, J. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease: Implications for pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Neurobiol. Dis.* **2020**, *134*, 104700. [CrossRef] [PubMed]
10. Christopher, L.; Koshimori, Y.; Lang, A.E.; Criaud, M.; Strafella, A.P. Uncovering the role of the insula in non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Brain* **2014**, *137*, 2143–2154. [CrossRef]
11. De Pablo-Fernandez, E.; Courtney, R.; Holton, J.L.; Warner, T.T. Hypothalamic  $\alpha$ -synuclein and its relation to weight loss and autonomic symptoms in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2017**, *32*, 296–298. [CrossRef]
12. Del Tredici, K.; Braak, H. Spinal cord lesions in sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* **2012**, *124*, 643–664. [CrossRef]
13. Muntané, G.; Dalfó, E.; Martínez, A.; Ferrer, I. Phosphorylation of tau and  $\alpha$ -synuclein in synaptic-enriched fractions of the frontal cortex in Alzheimer's disease, and in Parkinson's disease and related  $\alpha$ -synucleinopathies. *Neuroscience* **2008**, *152*, 913–923. [CrossRef]
14. Oinas, M.; Paetau, A.; Myllykangas, L.; Notkola, I.L.; Kalimo, H.; Polvikoski, T.  $\alpha$ -Synuclein pathology in the spinal cord autonomic nuclei associates with  $\alpha$ -synuclein pathology in the brain: A population-based Vantaa 85+ study. *Acta Neuropathol.* **2010**, *119*, 715–722. [CrossRef] [PubMed]
15. Orimo, S.; Uchiyama, T.; Nakamura, A.; Mori, F.; Kakita, A.; Wakabayashi, K.; Takahashi, H. Axonal  $\alpha$ -synuclein aggregates herald centripetal degeneration of cardiac sympathetic nerve in Parkinson's disease. *Brain* **2008**, *131*, 642–650. [CrossRef] [PubMed]
16. Bloch, A.; Probst, A.; Bissig, H.; Adams, H.; Tolnay, M.  $\alpha$ -Synuclein pathology of the spinal and peripheral autonomic nervous system in neurologically unimpaired elderly subjects. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **2006**, *32*, 284–295. [CrossRef]
17. Braak, H.; Sastre, M.; Bohl, J.R.E.; Vos, R.A.I.; Del Tredici, K. Parkinson's disease: Lesions in dorsal horn layer I, involvement of parasympathetic and sympathetic pre- and postganglionic neurons. *Acta Neuropathol.* **2007**, *113*, 421–429. [CrossRef]
18. Gold, A.; Turkalp, Z.T.; Munoz, D.G. Enteric alpha-synuclein expression is increased in Parkinson's disease but not Alzheimer's disease. *Mov. Disord.* **2013**, *28*, 237–241. [CrossRef]
19. Squire, L.R. The Legacy of Patient H.M. for Neuroscience. *Neuron* **2009**, *61*, 6–9. [CrossRef]
20. Palma, J.A.; Kaufmann, H. Treatment of autonomic dysfunction in Parkinson disease and other synucleinopathies. *Mov. Disord.* **2018**, *33*, 372–390. [CrossRef] [PubMed]
21. Browning, K.N.; Travagli, R.A. Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. *Compr. Physiol.* **2014**, *4*, 1339–1368. [CrossRef]
22. Breit, S.; Kupferberg, A.; Rogler, G.; Hasler, G. Vagus nerve as modulator of the brain-gut axis in psychiatric and inflammatory disorders. *Front. Psychiatry* **2018**, *9*, 44. [CrossRef]
23. Geng, D.; Liu, X.; Wang, Y.; Wang, J. The effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on HRV in healthy young people. *PLoS ONE* **2022**, *17*, e0263833. [CrossRef]
24. Allcock, L.M.; Ulyart, K.; Kenny, R.A.; Burn, D.J. Frequency of orthostatic hypotension in a community based cohort of patients with Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2004**, *75*, 1470–1471. [CrossRef] [PubMed]
25. Goldstein, D.S. Orthostatic hypotension as an early finding in Parkinson's disease. *Clin. Auton. Res.* **2006**, *16*, 46–54. [CrossRef]
26. Devos, D.; Kroumova, M.; Bordet, R.; Vodougnon, H.; Guieu, J.D.; Libersa, C.; Destee, A. Heart rate variability and parkinson's disease severity. *J. Neural Transm.* **2003**, *110*, 997–1011. [CrossRef]
27. Postuma, R.B.; Berg, D.; Stern, M.; Poewe, W.; Olanow, C.W.; Oertel, W.; Obeso, J.; Marek, K.; Litvan, I.; Lang, A.E.; et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2015**, *30*, 1591–1601. [CrossRef]
28. Walter, U.; Tsiberidou, P.; Kersten, M.; Storch, A.; Löhle, M. Atrophy of the Vagus Nerve in Parkinson's Disease Revealed by High-Resolution Ultrasonography. *Front. Neurol.* **2018**, *9*, 805. [CrossRef] [PubMed]
29. Ben Mrad, I.; Ben Mrad, M.; Besbes, B.; Zairi, I.; Ben Kahla, N.; Kamoun, S.; Mzoughi, K.; Kraiem, S. Heart rate variability as an indicator of autonomic nervous system disturbance in behcet's disease. *Int. J. Gen. Med.* **2021**, *14*, 4877–4886. [CrossRef] [PubMed]
30. Shaffer, F.; Ginsberg, J.P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Front. Public Health* **2017**, *5*, 258. [CrossRef]
31. Sletten, D.M.; Suarez, G.A.; Low, P.A.; Mandrekar, J.; Singer, W. COMPASS 31: A refined and abbreviated composite autonomic symptom score. *Mayo Clin. Proc.* **2012**, *87*, 1196–1201. [CrossRef]
32. Fedtke, N.; Witte, O.W.; Prell, T. Ultrasonography of the vagus nerve in Parkinson's disease. *Front. Neurol.* **2018**, *9*, 525. [CrossRef]

33. Dong, S.; Shen, B.; Jiang, X.; Zhu, J.; Zhang, H.; Zhao, Y.; Chen, Y.; Li, D.; Feng, Y.; Chen, Y.; et al. Comparison of vagus nerve cross-sectional area between brain-first and body-first Parkinson's disease. *Npj Park. Dis.* **2024**, *10*, 231. [CrossRef]
34. Pelz, J.O.; Belau, E.; Fricke, C.; Classen, J.; Weise, D. Axonal degeneration of the vagus nerve in Parkinson's disease—a high-resolution ultrasound study. *Front. Neurol.* **2018**, *9*, 951. [CrossRef]
35. Tsukita, K.; Taguchi, T.; Sakamaki-Tsukita, H.; Tanaka, K.; Suenaga, T. Vagus nerve atrophy in Parkinson's disease detected by ultrasonography. *J. Neurol. Sci.* **2017**, *381*, 129. [CrossRef]
36. Abdelnaby, R.; Elsayed, M.; Mohamed, K.A.; Dardeer, K.T.; Sonbol, Y.T.; ELgenidy, A.; Barakat, M.H.; Alwerdani, M.M.; Maier, A. Vagus nerve ultrasonography in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Auton. Neurosci. Basic Clin.* **2021**, *234*, 102835. [CrossRef]
37. Radziwon, J.; Slawek, J. Ultrasonographically measured atrophy of vagus nerve in Parkinson's Disease: Clinical and pathogenetic insights plus systematic review and meta-analysis. *Neurol. Neurochir. Pol.* **2024**, *58*, 471–483. [CrossRef]
38. Horsager, J.; Walter, U.; Fedorova, T.D.; Andersen, K.B.; Skjærbæk, C.; Knudsen, K.; Okkels, N.; von Weitzel-Mudersbach, P.; Dyrskog, S.E.; Bergholt, B.; et al. Vagus Nerve Cross-Sectional Area in Patients with Parkinson's Disease—An Ultrasound Case-Control Study. *Front. Neurol.* **2021**, *12*, 681413. [CrossRef] [PubMed]
39. Sijben, L.C.J.; Mess, W.H.; Walter, U.; Janssen, A.M.L.; Kuijf, M.L.; Oosterloo, M.; Weber, W.E.; Janssen, M.L. The cross-sectional area of the vagus nerve is not reduced in Parkinson's disease patients. *eNeurologicalSci* **2022**, *27*, 100400. [CrossRef] [PubMed]
40. Drakonaki, E.; Korschake, M.; Chlouverakis, G.; Tsiaoussis, J. Ultrasound morphometry of the cervical vagus nerve for daily clinical practice: Reference values for cross sectional area and fascicle count. *Ann. Anat.* **2023**, *250*, 152137. [CrossRef] [PubMed]
41. Bedewi, M.A.; Koth, M.A.; Almalki, D.M.; Alaseeri, A.A.; Sandougah, K.J.; Abdelnaby, R.; Soliman, S.B.; Alhariqi, B.A.; Alfaihi, T.; Aldossary, N.M. Ultrasound of the normal vagus nerve cross-sectional area in the carotid sheath. *Medicine* **2023**, *102*, E33996. [CrossRef]
42. Xiong, F.; Wang, Q.; Hu, Y.; Jiang, X.; Liu, L.; Han, Y.; Jiang, Q.; Yuan, S.; Xu, L. Ultrasound characteristics of the cervical vagus nerve in patients with type 2 diabetes and diabetic peripheral neuropathy. *Endokrynol. Pol.* **2023**, *Epub ahead of print*. [CrossRef] [PubMed]
43. Del Tredici, K.; Rüb, U.; De Vos, R.A.; Bohl, J.R.; Braak, H. Where does Parkinson disease pathology begin in the brain? *J. NeuroPathol. Exp. Neurol.* **2002**, *61*, 413–426. [CrossRef] [PubMed]
44. Özçağlayan, Ö.; Altunan, B.; Kurtoglu Özçağlayan, T.İ.; Ünal, A. The Atrophy of the Vagus Nerve Correlated with Gastrointestinal Non-Motor Symptoms Scores, in Parkinson's Disease: A Sonography Research Study. *J. Diagn. Med. Sonogr.* **2022**, *38*, 498–505. [CrossRef]
45. Cersosimo, M.G.; Benarroch, E.E. Pathological correlates of gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* **2012**, *46*, 559–564. [CrossRef] [PubMed]
46. Camicioli, R.; Sabino, J.; Gee, M.; Bouchard, T.; Fisher, N.; Hanstock, C.; Emery, D.; Martin, W.W. Ventricular dilatation and brain atrophy in patients with Parkinson's disease with incipient dementia. *Mov. Disord.* **2011**, *26*, 1443–1450. [CrossRef]
47. Takahashi, S.; Sanjo, N.; Miyamoto, S.; Hattori, T.; Oyama, J.; Tateishi, U.; Yokota, T. Width of the third ventricle as a highly-sensitive biomarker in chronic progressive neuro-Behçet's disease. *J. Neurol. Sci.* **2021**, *421*, 117284. [CrossRef]
48. Gao, H.L.; Qu, Y.; Chen, S.C.; Yang, Q.M.; Li, J.Y.; Tao, A.Y.; Mao, Z.J.; Xue, Z. Third ventricular width by transcranial sonography is associated with cognitive impairment in Parkinson's disease. *CNS Neurosci. Ther.* **2024**, *30*, e14360. [CrossRef]
49. Guenter, W.; Betscher, E.; Bonek, R. Predictive Value of the Third Ventricle Width for Neurological Status in Multiple Sclerosis. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 2841. [CrossRef] [PubMed]
50. Meng, L.; Dunckley, E.D.; Xu, X. Effects of a single dose levodopa on heart rate variability in Parkinson's disease. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* **2015**, *95*, 493–495. (In Chinese) [PubMed]
51. Stoco-Oliveira, M.C.; Valente, H.B.; Vanzella, L.M.; André, L.B.; Rodrigues, M.V.; Vanderlei, F.R.; de Carvalho, A.C.; Vanderlei, L.C.M. Does length of time since diagnosis in Parkinson's disease influence heart rate variability? A cross-sectional study. *Arq. Neuro-Psiquiatr.* **2022**, *80*, 593–600. [CrossRef]
52. Heimrich, K.G.; Bury, A.; Schönerberg, A.; Stumvoll, M.; Witte, O.W.; Prell, T. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease: A systematic review on heart rate variability. *Brain Sci.* **2021**, *11*, 959. [CrossRef] [PubMed]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## **PADĖKA**

Nuoširdžiai dėkoju savo doktorantūros vadovui prof. Antanui Vaitkui už nuolatinį palaikymą, kantrybę, vertingus patarimus ir įkvėpimą viso doktorantūros laikotarpio metu bei rengiant disertaciją.

Padėka prof. Renatai Balnytei už tikėjimą manimi, rūpestį, padrąsinimą ir nuoseklų palaikymą siekiant mokslinių tikslų.

Taip pat nuoširdžiai dėkoju prof. habil. dr. Daivai Rastenytei už skirtą laiką, dėmesį ir vertingas išvalgas.

Taip pat nuoširdžiai dėkoju gyd. Jolitai Čičelienei, Justinui Drūteikai ir Tadu Vanagui už suteiktą pagalbą bendradarbiavimą ir vertingas išvalgas, kurios reikšmingai prisidėjo prie šio darbo įgyvendinimo.

Už supratingumą, kantrybę ir paaukotą laiką nuoširdžiai dėkoju savo šeimai.

Visiems Jums esu nuoširdžiai dėkingas.

## CURRICULUM VITAE

**Name, Surname:** Ovidijus Laucius  
**Address:** Department of Neurology, Medical Academy,  
Lithuanian University of Health Sciences,  
Eivenių 2, LT-50161 Kaunas, Lithuania  
**E-mail:** Ovidijus.laucius@gmail.com  
Ovidijus.laucius@kaunoklinikos.lt

**Education:**

2021–2025 PhD studies, Medical Academy, Department of  
Neurology, Lithuanian University of Health Sciences

2014–2018 Postgraduate studies – residency of neurology,  
Medical Academy, Department of Neurology,  
Lithuanian University of Health Sciences

2008–2014 Master’s degree in Health Sciences, Medical Doctor,  
Medical Academy, Lithuanian University of Health  
Sciences

**Work experiences:**

2018–till present Assistant, Medical Academy, Department of  
Neurology, Lithuanian University of Health Sciences

2018–till present Neurologist, Department of Neurology,  
Hospital of Lithuanian University of Health Sciences  
Kauno klinikos

**Traineeships:**

2017 02 14– Clinical traineeship at the Department of Psychiatry,  
2017 02 18 Universitätsklinikum Würsbure (University Hospital  
Würzburg), Germany