

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
MEDICINOS AKADEMIJA

Vytautas Griška

**PERSPEKTYVINIS ERKINIO  
ENCEFALITO PASEKMIŲ IR SMEGENŲ  
PAŽAIDOS BIOŽYMENŲ TYRIMAS**

Daktaro disertacija  
Medicinos ir sveikatos mokslai,  
medicina (M 001)

Kaunas, 2024

Disertacija rengta 2019–2023 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Medicinos fakulteto Infekcinių ligų klinikoje.

### **Mokslinė vadovė**

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

### **Konsultantė**

prof. dr. Aistė Prankevičienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, socialiniai mokslai, psichologija – S 006).

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

#### **Pirmininkas**

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

#### **Nariai:**

prof. dr. Nida Žemaitienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, visuomenės sveikata – M 004);

doc. dr. Gediminas Urbonas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Ligita Jančorienė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Dace Zavadska (Rygos Stradinio universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija bus ginama viešajame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2024 m. rugpjūčio 30 d. 11 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Kauno ligoninės Bendrosios chirurgijos klinikos 287 auditorijoje.

Disertacijos gynimo vietos adresas: Josvainių g. 2, LT-47144, Kaunas, Lietuva.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES  
MEDICAL ACADEMY

**Vytautas Griška**

**A PROSPECTIVE STUDY  
ON THE OUTCOME OF TICK-BORNE  
ENCEPHALITIS AND BRAIN DAMAGE  
BIOMARKERS**

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

Kaunas, 2024

Dissertation has been prepared at the Department of Infectious Diseases of Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2019–2023.

### **Scientific Supervisor**

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

### **Consultant**

Prof. Dr. Aistė Pranckevičienė (Lithuanian University of Health Sciences, Social Sciences, Psychology – S 006).

**Dissertation is defended at the Medical Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences.**

### **Chairperson**

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

### **Members:**

Prof. Dr. Nida Žemaitienė (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Public Health – M 004);

Assoc. Prof. Dr. Gediminas Urbonas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Ligita Jančorienė (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Dace Zavadska (Riga Stradiņš University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

Dissertation will be defended at the open session of the Medical Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences on the 30<sup>th</sup> of August, 2024 at 11 a. m. in the auditorium no. 287 of the Department of General Surgery at Lithuanian University of Health Sciences Kaunas Hospital.  
Address: Josvainių str. 2, LT-47144, Kaunas, Lithuania.

# TURINYS

SANTRUMPOS .....	8
ĮVADAS .....	10
1. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	12
1.1. Darbo tikslas.....	12
1.2. Darbo uždaviniai .....	12
2. MOKSLINIS DARBO NAUJUMAS IR AKTUALUMAS .....	13
3. LITERATŪROS APŽVALGA .....	14
3.1. Trumpa erkinio encefalito istorija .....	14
3.2. Virusų struktūra.....	14
3.3. Epidemiologija .....	16
3.4. Patogenezė.....	18
3.5. Klinikinė erkinio encefalito eiga .....	23
3.6. Diagnostiniai EE aspektai .....	24
3.6.1. Etiologinė EE diagnostika .....	24
3.6.2. Smegenų skysčio tyrimas EE metu .....	25
3.6.3. Vaizdiniai CNS tyrimai EE metu.....	25
3.7. EE gydymas.....	26
3.8. Ilgalaikiai liekamieji reiškiniai.....	26
3.9. Neuroinfekcijų sąlygoti neurokognityvinių funkcijų pažeidimai .....	29
3.10. Autoimuninio uždegimo ryšys su infekcijomis ir jų įtaka kognityvinėms funkcijoms .....	32
3.11. Smegenų pažaidos biožymenys.....	35
3.12. EE Profilaktika .....	37
4. TYRIMO METODIKA.....	38
4.1. Tyrimo etiniai aspektai .....	38
4.2. Tiriamoji imtis .....	38
4.3. Pacientų ištyrimas ūmios fazės metu.....	38
4.4. Ligos išiečių vertinimo metodika .....	39
4.4.1. Artimųjų išiečių vertinimas .....	39
4.4.2. Tolimųjų išiečių vertinimas .....	40
4.5. EE pacientų demografinis grupavimas neurokognityvinių pasekmių įvertinimui ...	40
4.6. Kontrolinė grupė.....	40
4.7. Pažintinių funkcijų vertinimas ilgalaikio stebėjimo vizitų metu .....	41
4.8. Biologinių mėginių paėmimas, saugojimas ir tyrimas .....	42
4.8.1. Smegenų skysčio mėginiai .....	42
4.8.2. Kraujo mėginiai .....	42
4.8.3. Mikrobiologinė diagnostika.....	42
4.8.4. NS pažeidimo biožymenų nustatymas.....	43
4.8.5. Autoimuninių encefalitų antikūnų nustatymas .....	44
4.9. Statistiniai metodai .....	44
5. TYRIMO REZULTATAI .....	46
5.1. Tiriamųjų atranka ir įtraukimas į tyrimą.....	46
5.2. Demografiniai ir epidemiologiniai duomenys.....	46

5.3. Klinikinis EE pasireiškimas ūmios fazės metu .....	48
5.4. Likvoro tyrimai.....	50
5.5. Kraujo tyrimai .....	52
5.6. Tiriamųjų būklė išrašant iš stacionaro .....	52
5.7. Ilgalaikiai liekamieji reiškiniai.....	54
5.7.1. Liekamieji reiškiniai po 6 mėnesių.....	55
5.7.1.1. Objektivūs neurologiniai liekamieji reiškiniai .....	55
5.7.1.2. Subjektyvūs simptomai .....	56
5.7.1.3. Negalios vertinimas naudojant MRS skalę .....	57
5.7.2. Liekamieji reiškiniai po 18 mėnesių .....	58
5.7.2.1. Objektivūs neurologiniai liekamieji reiškiniai .....	58
5.7.2.2. Subjektyvūs simptomai .....	58
5.7.2.3. Negalios vertinimas naudojant MRS skalę .....	58
5.8. Neurokognityvinių funkcijų įvertinimas naudojant MCCB testų rinkinį.....	59
5.8.1. Kognityvinių funkcijų palyginimas skirtingose amžiaus grupėse.....	62
5.8.2. Kognityvinių funkcijų palyginimas tarp skirtingų EE sunkumo formų .....	64
5.8.3. Kognityvinių funkcijų pokyčiai per vienerius metus .....	65
5.8.4. Kognityvinio funkcionavimo ir subjektyvių simptomų sąsajos .....	66
5.8.5. Kognityvinio funkcionavimo sąsajos su kitais ūmios ligos fazės faktoriais .....	66
5.9. Smegenų pažaidos biožymenų nustatymo rezultatai.....	66
5.9.1. Neuronų pažeidimo žymenys .....	67
5.9.1.1. NFL smegenų skystyje .....	67
5.9.1.2. NFL serume .....	69
5.9.1.3. Neurograninas smegenų skystyje .....	71
5.9.2. Glijos pažeidimo žymenys.....	71
5.9.2.1. GFAP smegenų skystyje.....	71
5.9.2.2. GFAP serume.....	75
5.9.2.3. S-100B smegenų skystyje .....	77
5.9.2.4. S-100B serume .....	79
5.9.2.5. YKL-40 smegenų skystyje .....	79
5.9.3. Neuronų ir glijos pažeidimo žymenys .....	81
5.9.3.1. TAU baltymas smegenų skystyje .....	81
5.9.4. Likvoro žymenų palyginimas įvairiose pacientų grupėse .....	83
5.9.5. Serumo žymenų palyginimas įvairiose pacientų grupėse.....	84
5.9.6. Prognostinė smegenų pažaidos biožymenų vertė .....	86
5.9.6.1. Likvoro žymenų vertė prognozuojant sąmonės sutrikimus EE metu.....	86
5.9.6.2. Serumo žymenų vertė prognozuojant sąmonės sutrikimus EE metu.....	87
5.9.6.3. Likvoro žymenų vertė prognozuojant gydymo ITS poreikį.....	88
5.9.6.4. Serumo žymenų vertė prognozuojant gydymo ITS poreikį .....	89
5.10. Smegenų pažaidos biožymenų ryšys su išliekančia negalia po 18 mėnesių.....	90
5.10.1. Likvoro žymenys .....	90
5.10.2. Serumo žymenys.....	91

5.11. Smegenų pažaidos biožymenų ryšys su pažintinių funkcijų tyrimo rezultatais .....	93
5.12. Autoimuninių encefalitų žymenų nustatymas .....	96
6. REZULTATŲ APTARIMAS .....	97
IŠVADOS .....	105
PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS .....	106
SANTRAUKA .....	107
BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS .....	132
MOKSLINIŲ STRAIPSNIŲ SĄRAŠAS .....	148
MOKSLINIŲ KONFERENCIJŲ SĄRAŠAS .....	149
MOKSLINIŲ STRAIPSNIŲ KOPIJOS .....	150
PRIEDAI .....	169
CURRICULUM VITAE .....	173
PADĖKA .....	174

## SANTRUMPOS

<b>AMPA</b>	– <i>alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (angl.)</i>
<b>CASPR-2</b>	– <i>contactin-associated protein-like 2 (angl.)</i>
<b>CCL</b>	– chemokino ligandas
<b>CCR</b>	– chemokino receptorius
<b>CDC</b>	– JAV ligų kontrolės ir prevencijos centras (angl. <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> )
<b>CNS</b>	– centrinė nervų sistema
<b>DNR</b>	– deoksiribonukleininė rūgštis
<b>DPPX</b>	– <i>dipeptidyl-peptidase-like protein 6 (angl.)</i>
<b>EBV</b>	– <i>Epstein-Barr</i> virusas
<b>ECDC</b>	– Europos ligų kontrolės centras (angl. <i>European Centre for Disease prevention and Control</i> )
<b>EE</b>	– erkinis encefalitas
<b>EEE</b>	– Europos ekonominė erdvė
<b>EEV</b>	– erkinio encefalito virusas
<b>ES</b>	– Europos Sąjunga
<b>GABA</b>	– <i>gamma-aminobutyric acid (angl.)</i>
<b>GFAP</b>	– glijos fibrilinis rūgštinis baltymas (angl. <i>glial fibrillary acidic protein</i> )
<b>GKS</b>	– Glazgo komos skalė
<b>GOS</b>	– Glazgo išeičių skalė (angl. <i>Glasgow Outcome Scale</i> )
<b>HHV-6</b>	– <i>Human herpes virus-6</i>
<b>HHV-7</b>	– <i>Human herpes virus-7</i>
<b>HSV-1</b>	– <i>Herpes simplex-1</i> virusas
<b>HSV-2</b>	– <i>Herpes simplex-2</i> virusas
<b>IFN</b>	– interferonas
<b>IgG</b>	– imunoglobulinas G
<b>IgM</b>	– imunoglobulinas M
<b>IL</b>	– interleukinas
<b>ITS</b>	– intensyvios terapijos skyrius
<b>IVIG</b>	– intraveninis imunoglobulinas
<b>IQR</b>	– tarpkvartilinis plotis (angl. <i>interquartile range</i> )
<b>JAK-STAT</b>	– <i>Janus kinase/signal transducers and activators of transcription (angl.)</i>
<b>KYNA</b>	– kinureninė rūgštis (angl. <i>kynurenic acid</i> )
<b>KT</b>	– kompiuterinė tomografija
<b>LLS</b>	– laisvės laipsnių skaičius
<b>LGI-1</b>	– <i>leucine-rich glioma inactivated-1 (angl.)</i>



<b>MCCB</b>	– <i>Matrics Consensus Cognitive Battery (angl.)</i>
<b>M</b>	– vidurkis
<b>MRS</b>	– Modifikuota Rankino skalė
<b>MRT</b>	– magnetinio rezonanso tomografija
<b>N</b>	– skaičius
<b>NFL</b>	– neurofilamento lengvoji grandinė (angl. <i>neurofilament light chain</i> )
<b>NK</b>	– natūralieji žudikai (angl. <i>natural killers</i> )
<b>NMDA</b>	– N-metil-D-aspartatas
<b>NS</b>	– nestruktūrinis baltymas (angl. <i>non-structural</i> )
<b>P</b>	– reikšmingumo lygmuo
<b>PGR</b>	– polimerazės grandininė reakcija
<b>PNS</b>	– periferinė nervų sistema
<b>PSO</b>	– Pasaulio Sveikatos Organizacija
<b>RNR</b>	– ribonukleininė rūgštis
<b>rRNR</b>	– ribosominė ribonukleininė rūgštis
<b>RS</b>	– Rankino skalė
<b>SARS-CoV-2</b>	– <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (angl.)</i>
<b>SN</b>	– standartinis nuokrypis
<b>SP</b>	– standartinė paklaida
<b>TLR</b>	– <i>Toll-like</i> receptorius
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	– tumoro nekrozės faktorius $\alpha$
<b>VZV</b>	– <i>Varicella zoster</i> virusas
<b>ŽLA</b>	– žmogaus leukocitų antigenas

## ĮVADAS

Erkinis encefalitas (EE) yra dažniausia ir viena iš sunkiausių virusinių centrinės nervų sistemos (CNS) infekcijų Lietuvoje bei viena iš svarbiausių virusinių transmisinių būdu perduodamų infekcijų Europoje ir dalyje Azijos. Nepaisant egzistuojančios itin efektyvios imunoprofilaktikos skiepais, sergamumas EE Lietuvoje nuolat didėja ir pastaraisiais metais yra didžiausias Europoje [1].

Didžioji dalis užsikrėtimų EE virusu sukelia besimptomę infekciją [2,3], tačiau simptominiai EE atvejai gali pasireikšti įvairiai ir sukelti tiek lengvesnės eigos meningitą, tiek sunkios ir labai sunkios formos meningoencefalitą bei meningoencefalomielitą ar mieloradikulitą [4–6]. Dažniausiai nustatoma meningoencefalitinė forma, kuri pasireiškia maždaug 44–64 proc. atvejų [5,7,8]. Nepasaint to, kad mirštamumas nuo EE yra gana nedidelis [5,6,9,10], EE sunkumas ir mastas sąlygoja didžiulę medicininę, socialinę ir ekonominę našta žmogui, jo artimam aplinkai, sveikatos apsaugos sistemai, taip pat ir visai visuomenei.

Įvairūs ilgalaikių liekamųjų EE reiškinių tyrimai, atliekami nuo vėlyvų 90-ųjų, vienareikšmiškai patvirtina, kad EE sukelia ilgalaikes pasekmes [4–6]. Ilgalaikiai liekamieji reiškiniai po persirgto EE išlieka maždaug trečdaliui pacientų. Taip pat yra žinoma, kad EE gali sukelti ne vien objektyviai įvertinamus neurologinius pažeidimus (pvz. išliekantys paralyžiai, tremoras, ataksija), bet ir vadinamąjį „poencefalitinį sindromą“, pasireiškiantį įvairiais subjektyviais simptomais bei pažintinių funkcijų sutrikimais [7]. Anksčiau atliktų prospektyvinių tyrimų duomenimis, neurologiniai ir neuropsichiatriniai liekamieji reiškiniai nustatomi 40–46 proc. pacientų praėjus vieniems metams po ūmios EE fazės [4,5], tačiau iki šiol pažintinių funkcijų pažeidimai nėra tinkamai įvertinti patikimais, standartizuotais instrumentais. Persirgusių virusinėmis CNS infekcijomis stebėsenos ir maksimalaus funkcinio aktyvumo atstatymo metodika nėra standartizuota, o jos poreikis egzistuoja tarptautiniu mastu.

Nepaisant to, kad EEV pirmą kartą išskirtas tiek iš erkių, tiek iš sergančių pacientų dar 1937 metais, priešvirusinio gydymo nėra, o EE patogenezė ir tikslūs procesai, sąlygojantys šiuos ilgalaikius liekamuosius reiškinius, yra menkai ištirti. Tai žymiai apsunkina efektyvaus patogenetinio gydymo paieškas.

Įprastiniai EE diagnostikos tikslais atliekami kraujo bei smegenų skysčio tyrimai neleidžia prognozuoti būsimos ligos eigos, sunkumo formos ir liekamųjų reiškinių. Tą patį galima teigti ir apie vaizdinius galvos smegenų tyrimus, įskaitant MRT [11]. EEV RNR retai nustatomas smegenų skystyje, o viruso RNR kiekybinis nustatymas taip pat neturi sąsajų su ligos sunkumu

ir prognoze [12]. Tiriama neuronų bei neuroglijos pažeidimą atspindintys biožymenys, kurių įtaka svarbi nustatyti prognozes įvairių CNS ligų, tokių kaip išeminė galvos smegenų pažeidimas, trauminis smegenų pažeidimas ar neurodegeneracinės ligos, metu [13–22]. Neuroinfekcijų srityje šie biožymenys daugiausia ištyrinėti herpes virusų (*HSV-1*, *VZV*) sukeltų encefalitų metu [23,24]. Kitų etiologijų atvejais tyrimai pradėti palyginti neseniai. Daugumos tyrimų imtys buvo ganėtinai mažos ir koncentravosi į pavienių biožymenų nustatymą [25–29]. Be to, kai kuriuose tyrimuose gauti prieštaringi rezultatai [29].

Prieš gerą dešimtmetį išaiškinta, kad įvairios virusinės infekcijos sukelia autoimuninius pažeidimus CNS. *HSV-1* sukkelto virusinio encefalito svarba autoimuninio anti-NMDAR encefalito išsivystymui jau neabejotina ir yra aprašyta ne viena dešimtis tokių atvejų [30,31]. Be *HSV-1*, publikuoti atvejai susieti su japoniško encefalito virusu, žmogaus imunodeficito virusu, *Angiostrongylus cantonesis*, tuberkuliozės mikobakterijomis, *EBV*, *HHV-6*, *HHV-7*, *VZV*, Vakarų Nilo virusu, Enterovirusais ir netgi SARS-CoV-2 virusu [32–39]. Nors jau yra žinomi du anti-NMDAR encefalito atvejai po erkinio encefalito, tačiau sisteminių tyrimų apie galimą autoimuninį pažeidimą po EE vis dar trūksta [39,40]. Kadangi autoimuniniai encefalitai dažniausiai pasireiškia poūme eiga ir pažintinių funkcijų sutrikimais, o dalis jų gali būti efektyviai gydomi imunomoduliaciniais medikamentais [41], nauji duomenys apie šiuos procesus po EE būtų itin vertingi.

# 1. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

## 1.1. Darbo tikslas

Nustatyti ilgalaikių pasekmių po erkinio encefalito suaugusiems dažnį ir pobūdį bei įvertinti tam tikrų smegenų pažaidos biožymenų reikšmę erkinio encefalito sunkumui bei liekamųjų reiškinių išsivystymui.

## 1.2. Darbo uždaviniai

1. Nustatyti erkiniu encefalitu sirgusių pacientų sociodemografines charakteristikas ir ligos sunkumo formą ūmioje fazėje.
2. Įvertinti sveikimo periodą po erkinio encefalito ir nustatyti negalią sąlygojančias neurologines pasekmes po 1,5 metų.
3. Nustatyti kognityvinius liekamuosius reiškinius po erkinio encefalito pagal skirtingų pažintinių funkcijų pažeidimą.
4. Ištirti neuronų ir neuroglijos pažaidą atspindinčių biožymenų kiekį smegenų skystyje ir kraujyje ūmioje ligos fazėje ir sąsajas su ligos sunkumu ir ilgalaikėmis pasekmėmis.
5. Ištirti autoimuninių encefalitų antikūnus kraujyje ūmioje ligos fazėje ir po 6 mėnesių neurologinių ir kognityvinių pasekmių turintiems ligoniams.

## 2. MOKSLINIS DARBO NAUJUMAS IR AKTUALUMAS

Nepaisant to, kad keliuose tyrimuose mėginta detaliau įvertinti pažintinių funkcijų pažeidimus po EE, turimi duomenys gauti daugiausia naudojant mažo jautrumo instrumentus bei pačių pacientų įsivertinimą, o ne objektyvius visuotinai pripažintus pažintinių funkcijų vertinimo įrankius [5,7,8,42]. Šiame tyrime atliktas kol kas išsamiausias objektyvus neurokognityvinių funkcijų įvertinimas po persirgto EE suaugusiesiems, naudojant standartizuotą testų rinkinį bei nustatyta pažeidimų pokyčių dinamika bėgant laikui.

Šio didelės imties tyrimo metu iširtas platus spektras įvairių CNS pažeistos biožymenų, atspindinčių neuronų, neuroglijos bei sinapsių pažeidimą tiek smegenų skystyje, tiek kraujyje. Įvertinta jų prognostinė reikšmė ligos eigai, jos sunkumui bei nustatytas šių žymenų ryšys su ilgalaikiais liekamaisiais reiškiniais.

Šiame darbe pirmą kartą atliktas autoimuninių antikūnų tyrimas ne tik prieš anti-NMDAR, bet ir kitus su limbiniu encefalitu asocijuotus receptorių: anti-CASPR-2, anti-AMPA1/2, anti-LGI-1, anti-DPPX bei anti-GABAbR1/2 po persirgto EE.

Vis dar trūksta žinių apie neurokognityvines EE pasekmes, o tikslus jų nustatymas būtinas įrodymais pagrįstai persirgusiųjų EE stebėsenai ir personalizuotai reabilitacijai sukurti. Tyrimo rezultatai galės būti naudojami standartizuotos ilgalaikės priežiūros bei pagalbos sistemos/reabilitacijos po EE gairėms sukurti. Biožymenų tyrimo rezultatai ir ryšio su ligos sunkumo forma nustatymas pagilins žinias apie EE patogenezę, tai yra būtina tęsiant efektyvaus gydymo paieškas. Vertinant jau turimas žinias apie autoimuninių encefalitų ryšį su infekcinėmis ligomis, galimo autoimuninio pobūdžio pažeidimo po EE paieška yra svarbus žingsnis siekiant išsiaiškinti persistuojančių, progresuojančių ar naujai išsivysčiusių simptomų po EE patogenezę. Ypač svarbus faktas, kad dauguma autoimuninės kilmės smegenų pažeidimų gali būti sėkmingai gydomi imunomoduliaciniais medikamentais, todėl autoimuninio pažeidimo nustatymas galėtų atverti kelią patogenetiniam gydymui vietoje šiuo metu prieinamo mažai efektyvaus simptominio gydymo.

## 3. LITERATŪROS APŽVALGA

### 3.1. Trumpa erkinio encefalito istorija

EEV pirmą kartą išskirtas iš erkių bei pacientų dar 1937 metais ekspedicijų į Rusijos tolimuosius rytus metu, kurioms vadovavo prof. Levas Zilberas [43]. Tuo pat metu nustatytas ir pirmasis ligos vektorius – *Ixodes persulcatus* erkės. Naujo sukėlėjo paieškos pradėtos dėl tame regione pasireiškusio didelio kiekio sunkių nervų sistemą pažeidžiančių ligų, kurių didelė dalis baigdavosi mirtimi, o kilmė nebuvo aiški. Europoje EEV pirmą kartą išskirtas 1948 metais tuometinėje Čekoslovakijoje iš *Ixodes ricinus* erkių, kurios iki šiol išlieka svarbiausias vektorius Europos regione [44]. Neilgai trukus EEV išskirtas ir kitose Europos šalyse – Austrijoje, Slovėnijoje, Lenkijoje, Suomijoje, Švedijoje – šios valstybės iki šiol išlieka didelio endemiškumo zonos. Lietuvoje EEV pirmą kartą diagnozuotas 1953 metais Kaune, nors tuo metu diagnozė nustatyta remiantis tik klinikiniais bei epidemiologiniais duomenimis. Tuo tarpu serologinė ligos diagnostika, kuri iki šiol išlieka auksinis diagnostikos standartas, Lietuvoje pradėta 1970 metais [45]. Dėl savo sezoniskumo EEV ilgą laiką buvo, o kai kur dar ir iki šiol vadinamas pavasario-vasaros meningoencefalitu, taip pat pagal geografinį paplitimą galima rasti naudojamus ir Centrinės Europos encefalito ar Rusijos pavasario-vasaros encefalito pavadinimus [46].

### 3.2. Virusų struktūra

Erkinio encefalito virusas priklauso *Flavivirus* genties *Flaviviridae* virusų šeimai. Flavivirusai gali būti pernešami uodų, erkių arba priskirti grupei be žinomo vektoriaus. EEV priskiriamas erkių pernešamų flavivirusų grupei. Erkių pernešamų flavivirusų grupė savo ruožtu skirstoma į žinduolių bei jūros paukščių grupes. Žinduolių grupei kartu su EEV priskiriami tokie virusai kaip *Louping ill* virusas (LIV), *Langat* virusas (LGTV), *Powassan* virusas (POWV), Omsko hemoraginės karštinės virusas (OHFV), Kyasanuro miško virusas (KFDV), Kadam virusas (KADV) ir kiti [47].

EEV sudarytas iš nukleokapsidės bei lipidinės membranos. Nukleokapsidę sudaro viengrandė RNR bei kapsidės baltymas C (angl. *core*, pagrindinė jo funkcija – struktūrinė), o lipidinėje membranoje inkorporuoti membranos glikoproteinas (M) bei apvalkalo glikoproteinas (angl. *envelope*, E). Tiek šie struktūriniai baltymai, tiek RNR užkoduoti nestruktūriniai baltymai turi tam tikras funkcijas viruso dauginimosi cikle ir savitai sąveikauja su šeimininko imunine sistema. Manoma, kad C baltymas turi svarbią reikšmę neuropatogenezėje, nes eksperimentiniuose pelių modeliuose į EEV genomą įvedus tam

tikras mutacijas, lemiančias C baltymo struktūrinius pokyčius, buvo gaunami imunogeniški, tačiau neinvazyvūs virionai [48]. E baltymas dalyvauja imuninio atsako aktyvavime, įskaitant ir neutralizuojančių antikūnų sintezę. Manoma, kad šis baltymas yra pagrindinis viruso virulentiškumo veiksnys [49]. Įvairių E baltymo aminorūgščių pasikeitimai dažniausiai sumažina viruso neuroinvazyvumą, nepaisant to, kad neurovirulentiškumas išlieka nesumažėjęs [50,51]. E baltyme taip pat identifiкуotos sritys, atsakingos už sąveiką su imlių ląstelių paviršiniaisiais receptoriais bei susiliejimą su endosomų membranomis. Patekimo į žmogaus ląsteles metu viruso E baltymas sąveikauja su heparano sulfatu, kuris randamas daugelio skirtingų organizmo ląstelių paviršiuje. M baltymo prekursorius (prM) apsaugo nuo priešlaikinio nesubrendusių virionų susiliejimo su membranomis, nes struktūriškai uždengia E baltymo paviršių. Virusui subrendus, susiformuoja membranos glikoproteinas M, o E baltymas tampa „atviras“, todėl gali tęstis viruso dauginimosi ciklas.

Iš viso virusas turi septynis nestruktūrinius baltymus. Nestruktūrinis baltymas 1 (NS1) lokalizuojasi ląstelės citoplazmoje ir yra būtinas viruso RNR replikacijos metu, kai kartu su kitais nestruktūriniais baltymais ir viruso RNR suformuoja replikacijos kompleksą. Yra žinoma, kad NS1 aktyvuoja *toll-like* receptorius (TLR) [52] bei inhibuoja komplemento sistemą [53,54]. Pastaruoju metu tirama NS1 svarba EE diagnostikai, ypač praėjusioje vakcinuotų asmenų atvejais [55,56]. NS2A funkcija iki šiol nėra iki galo aiški. Manoma, kad jis dalyvauja replikacijos komplekso formavimesi [57] bei kartu su kitais nestruktūriniais baltymais blokuoja interferono signalo perdavimą. Tuo tarpu NS2B veikia kaip NS3 baltymo proteazinio aktyvumo kofaktorius. NS3 yra atsakingas už viruso replikaciją ir baltymų apdorojimą. Skirtingos sritys turi skirtingą fermentinį aktyvumą ir gali veikti kaip serino proteazė, helikazė ar RNR nukleozidų trifosfatazė [57]. Dėl ypatingos baltymo svarbos replikacijos procese jis įvardinamas kaip puikus taikynys kuriant specifinius priešvirusinius inhibitorius [58,59]. NS4A bei NS4B taip pat įeina į replikacijos komplekso sudėtį, be to, NS4B iš dalies blokuoja tiek STAT1 sistemos aktyvaciją, tiek interferono stimuliuojamo atsako elemento (angl. *IFN-stimulated response element, ISRE*) aktyvatorius ląstelėse [60]. NS5 yra didžiausias viruso baltymas, veikiantis kaip RNR polimerazė [61]. Kartu su NS3 suformuojamas kompleksas lemia NS3 RNR nukleozidų trifosfatazės stimuliaciją [57,62]. Greta pagrindinės fermentinės funkcijos NS5 baltymas taip pat dalyvauja slopinant JAK-STAT sistemos signalo perdavimą [63,64].

Išskiriami trys pagrindiniai EEV potipiai: Europos (EEV-Eu), Tolimųjų Rytų (EEV-FE, angl. *Far East*) bei Sibiro (EEV-Sib) [46]. Pastaraisiais metais nurodomi ir trys nauji EEV potipiai: Himalajų, Obės ir Baikalo [65,66]. Pastarojo kilmė grindžiama rekombinacija tarp EEV-FE ir EEV-SIB potipių [67].

Europinio potipio EEV antigeninė stuktūra yra gana homogeniška ir nėra nustatyta žymių variacijų [46]. Sibiro bei Tolimųjų Rytų potipiai taip pat yra labai giminingi Europos potipiui, o jų apvalkalo baltymo aminorūgščių sekos 96 proc. identiškos [68]. Nepaisant to, literatūroje aprašomi atvejai, kai net dviejų aminorūgščių pasikeitimas tiek struktūriniuose, tiek nestruktūriniuose baltymuose gali sąlygoti ir padidėjusį EEV virulentiškumą, ir priešingai – sumažinti klinikinį infekcijos pasireišimą [69,70]. Taip pat EEV-Sib sukeltas EE gali įgyti lėtinę eigą, tuo tarpu EEV-FE potipio sukeltas EE dažniausiai pasireiškia žymiai sunkesne eiga, o mirštamumas siekia net 20 proc. [71,72]. Šio potipio sukeltas EE, priešingai EEV-Eu atvejams, taip pat sukelia sunkesnę vaikų ligos eigą, taip pat gerokai dažniau lemia sunkius ilgalaikius lieka muosius neurologinius deficitus [71,73].

### 3.3. Epidemiologija

EEV natūralus gamtinis rezervuaras – smulkūs graužikai. Vakarų Europoje ir Lietuvoje pagrindinis EEV vektorius yra *Ixodes ricinus* erkės, tuo tarpu rytinėje dalyje bei Azijoje – *Ixodes persulcatus*. Kitose Baltijos šalyse (Latvijoje bei Estijoje) papildusios abiejų rūšių *Ixodes* erkės. Nedidelis kiekis *Ixodes persulcatus* erkių taip pat buvo nustatytas šiaurės rytų Lietuvoje, regionuose, besiribojančiuose su Latvija [74,75]. Pastaruoju metu vis dažniau pranešama apie *Dermacentor reticulatus* erkių svarbą plintant EEV [76,77], o šių erkių paplitimas Baltijos šalyse taip pat yra didėjantis [75].

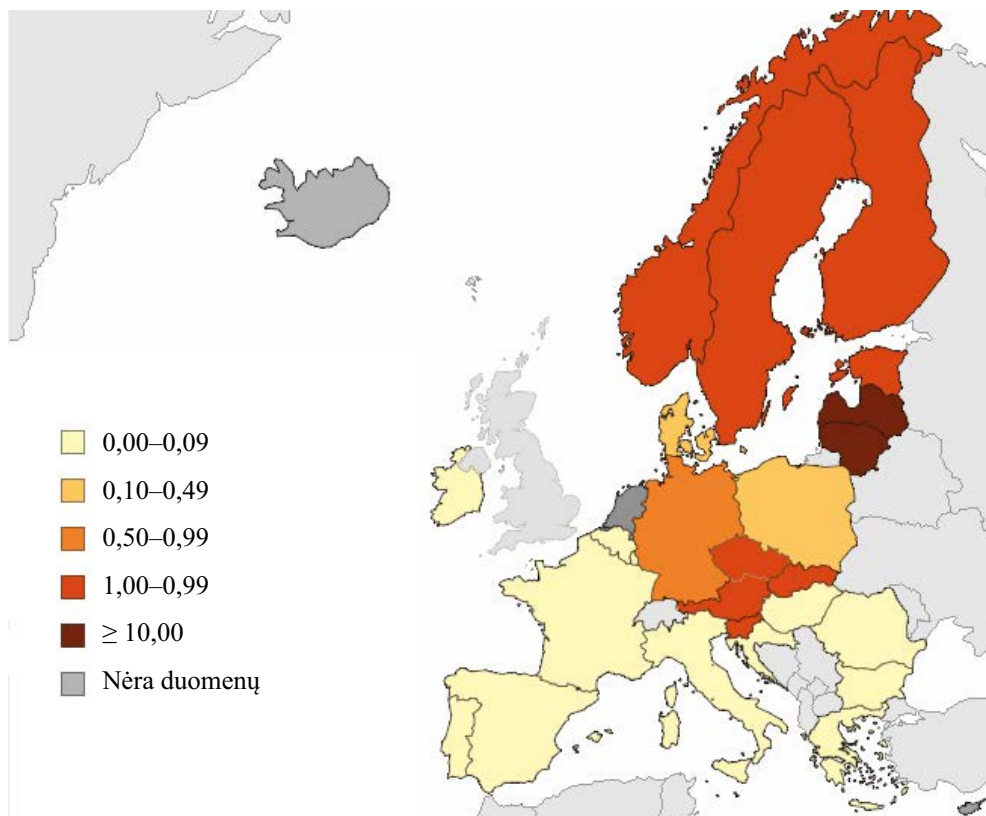
EEV žmogui dažniausiai perduodamas įsisiurbiant erkei. Erkės įsisiurbimo metu užsikrėtimas įvyksta iš karto ir ankstyvas erkės pašalinimas neužkerta kelio šiai infekcijai. 32–50 proc. atvejų įsisiurbimas lieka nepastebėtas [5,6,73]. Kitas užsikrėtimo kelias, Europoje sudarantis apie 1 proc. atvejų, yra alimentarinis – per užkrėstų gyvūnų pieną [78,79]. Šis perdavimo būdas gali sukelti infekcijos protrūkius šeimose bei nedidelėse bendruomenėse, o kai kurių tyrimų duomenimis, EEV RNR gali būti nustatomas net šaldytuose pieno produktuose [78]. Nepaisant to, kad apie užsikrėtimą per pieną žinoma jau seniai, pirmasis atvejis apie galimą viruso perdavimą iš motinos vaikui paskelbtas tik 2022 metais [80]. Literatūroje aprašytas atvejis, kai EEV perduotas organų transplantacijos metu [81], tuo tarpu duomenų apie užsikrėtimą kraujo transfuzijų metu, išskyrus vieną 1989 metų publikaciją, nėra, tačiau vertinant ši plitimo kelią tarp kitų flavivirusų rizika didelio endemiškumo zonose negali būti atmesta [82]. Retais atvejais EEV gali būti perduodamas per uodžiamąjį nervą dirbant laboratorijose [79].

Virusas daugiausiai paplitęs Europoje (Europos, EEV-Eu potipis) ir Azijoje (Tolimųjų Rytų, EEV-FE, bei Sibiro, EEV-SIB potipiai). Europoje didžiausias ligos paplitimas registruojamas Baltijos šalyse, Čekijoje, Austrijoje [1].



Pastarųjų metų ECDC duomenimis, stebimas žymus sergamumo didėjimas Slovakijoje, Lietuvoje, Lenkijoje bei Italijoje (3.3.1 pav.) [83]. Lietuvoje ši infekcija sukeliama tik EEV-Eu viruso potipio, tačiau kaimyninėse Latvijoje bei Estijoje buvo izoliuoti ir EEV-FE bei EEV-SIB potipiai [84–87].

2020 metais Europos Sąjungoje/Europos ekonominės erdvės šalyse registruoti 3734 EE atvejai, sergamumas siekė 0,9/100 000 gyventojų ir jis palaipsniui didėja nuo 0,6/100 000 gyventojų 2016–2018 metais. Lietuvoje šis rodiklis siekia 24,3/100 000, po to seka Slovėnija (8,9/100 000), Čekija (7,9/100 000) ir Latvija (7,8/100 000) [1].



**3.3.1 pav.** EE paplitimas ES/EEE šalyse 2021 metais

Adaptuota pagal ECDC Surveillance Atlas duomenis.

Sergamumas didžiausias šiltuoju metų laikotarpiu, dažniausiai užsikrečiama kaimiškose, miškingose vietovėse, tačiau didelio endemiškumo šalyse užsikrėtimo rizika didelė net ir didmiesčiuose [76,88]. Įprastai vyrų sergamumas didesnis nei moterų [5,6,46]. Vaikai sudaro apie 5–15 proc. visų EE atvejų [89–91]. Įprastai EE vaikų populiacijoje pasireiškia lengvesne eiga ir

vyrauja meningitinė forma, o mirštamumas netgi žemesnis nei suaugusiųjų [90]. 2023 metais publikuoto tyrimo duomenimis tik apie 5 proc. vaikų išliko liekamųjų reiškinių praėjus 18 mėnesių po ūmios ligos, lyginant su 50 proc. suaugusiųjų tarpe [92]. Nepaisant to, vis dar manoma, jog ilgalaikė EE įtaka vaikų raidai, mokymosi rezultatams gali būti daug didesnė, tačiau vis dar trūksta ilgalaikių didelės apimties tyrimų [93,94].

### 3.4. Patogenezė

Erkinio encefalito virusas, kaip ir dauguma kitų flavivirusų, į ląsteles dažniausiai patenka endocitozės būdu, sąveikaudamas su paviršiaus receptoriais, tačiau įmanomas ir mikropinocitozės kelias [95–97].

Viruso RNR replikacija vyksta citoplazmoje bei smulkiuose membraninėse struktūrose, vadinamose replikacijos skyreliais, kurie susiformuoja iš endoplazminio tinklo. RNR naudojama kaip matrica tiek replikacijai, tiek viruso baltymų transliacijai. Naujai susintezuota viruso RNR yra kondensuojama kapsidės C baltymo, o nukleokapsidei susiliejus su endoplazminio tinklo membrana ir E bei prM baltymais susiformuoja išorinis viruso apvalkalas. Virionams subrendus, jie sekreciniu keliu pasišalina iš infekuotos ląstelės [98]. Didžioji dauguma ląstelių šio proceso metu patiria drastiškus morfologinius pokyčius (endoplazminio tinklo proliferacija, Goldžio komplekso reorganizacija) ir dėl to žūsta.

Virusui patekus į žmogaus organizmą erkės įkandimo metu, pirmosios reaguoja dendritinės ląstelės, kurių paviršiuje ekspresuojamas didelis kiekis *toll-like* receptorių (TLR), kurie dalyvauja flavivirusų, įskaitant EEV, atpažinime [95,97]. EEV patekus į dendritines ląsteles vyksta brendimo procesas, dėl jo išskiriami chemokinai, uždegiminiai citokinai ir I tipo interferonai (IFN- $\alpha/\beta$ ). Nepaisant dalyvavimo imuniniame atsake, dendritinės ląstelės pačios gali tapti EEV taikiniais, jose gali prasidėti viruso replikacija, o pačių ląstelių migracija prisideda prie viruso diseminacijos [99]. Kaip ir dendritinės ląstelės, makrofagai taip pat gali būti infekuoti ir prisidėti prie lokalaus viruso replikacijos [98]. Nepaisant to, makrofagai pradeda produkuoti azoto oksidą (NO), kuris prisideda prie viruso replikacijos slopinimo [100] bei aktyvuoja citokinų gamybą, ypač TNF- $\alpha$ , IL-1 ir IL-8 [101]. Makrofagai taip pat atlieka antigeną pristatančių ląstelių T ir B limfocitams funkciją antriniuose limfoidiniuose organuose. Kartu su dendritinėmis ląstelėmis bei makrofagais pirminiame imuniniame atsake taip pat dalyvauja neutrofilai, kurie produkuoja TNF- $\alpha$ . Šių imuninių ląstelių produkuojami citokinai iš dalies lemia kraujo-smegenų barjero pralaidumo padidėjimą, o tai yra vienas iš įtariamų viruso invazijos į CNS kelių. Alimentarinio užsikrėtimo atveju į žarnyno epitelį patekusį virusą taip pat pirmiausia bando neutralizuoti dendritinės ląs-

telės [102]. Po pradinės viruso replikacijos odoje ji tęsiasi sritiniuose limfmazgiuose, o iš ten patenka į limfinę sistemą ir kraują [46]. Vireminės fazės metu infekuojama daug organizmo audinių (kepenys, blužnis, kaulų čiulpai), o besitęsianti viruso replikacija lemia pailgėjusią viremiją ir galimai invaziją į CNS [103]. Tolimesnė ligos eiga priklauso nuo pradinio imuninio atsako infekcijos patekimo vietoje, infekcijos išplitimo periferiniuose organuose bei humoralinio atsako viremijos metu [102]. Žemas neutralizuojančių antikūnų kiekis viremijos pradžioje predisponuoja neuroinvazyvumą bei lemia sunkesnę ligos eigą [104].

Viruso invazija į CNS aiškinama ne vien padidėjusiu kraujo-smegenų barjero pralaidumu. 2011 metais su pelėmis atlikto tyrimo metu vireminės fazės metu padidėjusio barjero pralaidumo nenustatyta, todėl padaryta išvada, kad barjero suardymas yra nulemtas jau CNS uždegimo metu padidėjusio citokinių bei chemokinių išskyrimo [105]. Neuroinvazyvumas taip pat aiškinamas „Trojos arklio“ mechanizmu – virusą į CNS gali pernešti infekuotos imuninės ląstelės – dentritinės ląstelės, makrofagai, neutrofilai ir T limfocitai [106].

Pagrindiniai EEV CNS taikiniai – neuronai, o dažniausiai pažeidžiamos sritys – smegenų kamienas, pamato branduoliai, smegenėlės, pogumburis bei kakliniai nugaros smegenų segmentai [46,107]. Oligodendrocitai infekuojami retai, o mikroglijos ląstelės bei kraujagyslių endoteliocitai yra netinkami EEV replikacijai [97,107]. 2009 metais atlikto tyrimo metu autopsijos medžiagoje smegenų audinyje viruso antigenų išsidėstymas neatitiko uždegiminių pakitimų lokalizacijos. Tai leidžia manyti, jog uždegimas pažeidžia ne tik infekuotas nervines ląsteles [107]. 2014 metais atlikto tyrimo duomenimis, astroцитai taip pat gali būti infekuoti. Dėl to vyksta jų aktyvacija ir prasideda uždegiminių citokinių bei chemokinių, tokių kaip TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, CXCL10, CCL4, gamyba, kurie savo ruožtu didina kraujo-smegenų barjero pralaidumą bei prisideda prie neurotoksiškumo [27,108,109]. Neurotoksiškumą lemia tiek tiesioginis viruso pažeidimas, tiek infekcijos sukeltas imuninis atsakas [97], o nervinės ląstelės gali žūti tiek nekrozės, tiek apoptozės būdu [110]. 2022 metais Japonijoje atlikto tyrimo duomenimis, ląstelių žūtis vyksta ir nekrotozės keliu, tačiau šis tyrimas atliktas naudojant EEV-FE viruso potipį [111]. CNS uždegimo metu nustatytas daugelio citokinių bei chemokinių ekspresijos padidėjimas – tiek intraląstelinės adhezijos molekulės-1 (angl. *intracellular adhesion molecule-1*, *ICAM-1*), tiek vietinė CXCL10 gamyba skatina Th1 limfocitų pritraukimą [112–115]. Taip pat nustatomas ir CCL5 (dar vadinamo *RANTES*, angl. *Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted*) koncentracijos padidėjimas, šis savo ruožtu sąveikauja su CCR5, su transmembraniniu baltymu konjuguotu chemokinių receptoriu, randamu ant citotoksinių T ląstelių, T helperių (Th1), makrofagų, dendritinių ląstelių, mikroglijos bei astrocitų [116,117]. 2019 metais atlikto

tyrimo metu siekta nustatyti EEV bei neuronų sąveiką ir eksperimentinio modelio būdu buvo nustatyta, kad EEV nervų sistemos ląstelėse išjungia baltyimų transliacijos mechanizmus bei sutrikdo rRNR ekspresiją [118]. Panašūs procesai anksčiau jau buvo nustatyti kitų flavivirusų sukeltamų infekcijų metu [119].

IFN- $\gamma$  dalyvauja EE uždegimo patogenezėje ir sukelia Th1 atsaką (nustatomas neopterinio, IL-12 kiekio padidėjimas). Tačiau keliuose atliktuose tyrimuose gauti priešaringi rezultatai – daugumoje atliktų studijų nustatytas padidėjęs IFN- $\gamma$  kiekis likvore [108,109,120–122], tuo tarpu vienoje, atliktoje 2015 metais, padidėjimo nenustatyta [123]. Be to, nustatyti padidėję interleukino-10 bei IFN- $\beta$  (I tipo IFN) ir IFN $\lambda$ 3 (III tipo IFN) kiekiai [123], kurie neigiamai koreliavo su EE sunkumu, nors statistinio reikšmingumo nenustatyta. Priešuždegiminis IL-10 poveikis jau buvo įrodytas ankstesniuose tyrimuose, kuriuose nustatytas Th1 kaskados slopinimas, įskaitant IFN- $\gamma$  produkcijos slopinimą, o mažas IL-10 kiekis taip pat nepakankamai slopina IL-1, IL-6 bei TNF- $\alpha$ , tai gali nulemti sunkesnę EE eigą [120]. 2022 metais atlikto tyrimo metu taip pat tirtas interleukinų atsakas serume pirmos EE bangos metu – nustatytas tiek įgimtam imuniniam atsakui būdingas CXCL11, tiek B ląstelių aktyvaciją atspindintis CXCL13 padidėjimas, taip pat T limfocitų mediatorių IL-4 ir IL-27 kiekių padidėjimas [108]. Įdomu tai, jog antrosios bangos metu serume nustatyti žymiai padidėję su angiogeneze siejamų žymenų (GRO- $\alpha$  ir VEGF-A) kiekiai.

Jau prieš daugiau nei 20 metų nustatyta, kad EE pacientų likvore padidėja būtent T limfocitų kiekis, lyginant su serumu, o B limfocitų ir natūraliųjų žudikų (angl. *natural killers*, *NK cells*) santykiai išlieka nepakitę [124]. 2009 metais publikuoto tyrimo su pelėmis metu pademonstruota T limfocitų potipių įtaka EE patogenezei. Jo metu nustatyta, kad CD8<sup>+</sup> limfocitų deficitas pailgina EE užkrėstų pelių išgyvenamumą, o adaptyvinis jų perkėlimas pelėms – sutrumpina. Priešingai, adaptyvus CD4<sup>+</sup> ląstelių perkėlimas išgyvenamumą pailgino [125]. Apibendrinant – Th1 atsakas, kuriame pagrindinį vaidmenį atlieka CD4<sup>+</sup> T limfocitai, padeda pašalinti virusą iš CNS, tuo tarpu citotoksiniai CD8<sup>+</sup> limfocitai yra pagrindiniai imunopatogenetinio mechanizmo kaltininkai. 2018 metais Švedijoje atlikto tyrimo metu tirta ne tik citotoksinių T limfocitų, bet ir NK ląstelių įtaka imunopatogenezei. NK citotoksiškumas priklauso nuo įvairių aktyvuojančių bei inhibuojančių receptorių, kurie reaguoja į greta esančių sveikų bei pakitusių ląstelių išskiriamus ligandus. Virusinių infekcijų sukeltas ląstelinis stresas yra vienas iš atvejų, kai ląstelės pradeda produkuoti molekules, aktyvuojančias NK ląsteles. Greta citotoksinio poveikio NK taip pat produkuoja citokinus bei chemokinus. To paties tyrimo metu nustatyta, kad hospitalizacijos metu (encefalito fazėje) buvo žymiai padidėjęs Ki67 žymens kiekis, kuris atspindi NK ląstelių aktyvaciją

ir proliferaciją. Lygiagrečiai stebėti ir padidėję IL-12, IL-15, IL-18, IFN- $\gamma$  bei TNF kiekiai. Aktyvuotų NK ląstelių kiekis normalizavosi praėjus 3 savaitėms. Priešingai NK ląstelėms, CD8+ bei CD4+ T limfocitai aktyvuojami per antigeną pristatančias ŽLA I ir ŽLA II molekules [126], tačiau dauguma flavivirusų inhibuoja antigeno pristatymą infekuodami dendritines ląsteles. Šio proceso mechanizmas šiuo metu dar nėra iki galo išsiaiškintas [127].

Anksčiau jau minėto įgimto imuninio atsako ir I tipo IFN išskyrimo pagrindas yra su patogenais susijusių molekulių modelių identifikacija (angl. *pathogen-associated molecular patterns, PAMP*), kuri aktyvuoja modelių atpažinimo receptorius (angl. *pattern recognition receptors, PRR*), tokius kaip *TLR-3, 7, 8* (daugiausiai nustatoma dendritinių ląstelių endosomose) bei citoplazmoje esančius *RIG-I-like* receptorius. Dėl to šie aktyvuoja priešvirusinius transkripcijos faktorius, kurie lemia citokinų, I tipo IFN bei interferono stimuliuojamų genų (*ISG*) expresiją per *JAK-STAT* sistemą [127]. Šio signalo perdavimą dalinai gali sutrikdyti tiek erkių seilėse randami baltymai, kurie slopina dendritinių ląstelių brendimą, sutrikdo antigeno pristatymo funkciją ir indukuoja Th2 atsaką [128], kuris, daugiausiai dėl IL-10 išskyrimo, turi priešuždegiminį poveikį, tiek EEV sudėtyje esantis nestruktūrinis baltymas 5 (NS5), kuris veikia antagonistiskai I tipo interferono receptoriams [102,129]. Būtent dėl *JAK-STAT* sistemos dalyvavimo EE patogenezėje citokinų signalizavimo supresoriai (angl. *Supressors of Cytokine Signalling, SOCS*) bei aktyvuotų *STAT* baltymų inhibitoriai (angl. *Protein inhibitors of STATs, PIAS*) įvardijami kaip potencialūs taikiniai kuriant flavivirusinių infekcijų patogenezę modifikuojančius medikamentus [130]. Anksčiau jau minėtų *Toll-like 3* tipo receptorių (*TLR-3*) genetinis polimorfizmas predisponuoja klinikinę EE pasireiškimą ir gali lemti sunkesnę ligos eigą [131].

CNS infekcijos metu vietinis IFN atsakas taip pat labai svarbus. Astroцитai įvardijami kaip pagrindiniai šio atsako efektoriai. 2016 metų tyrimo duomenimis, greitas I tipo IFN atsakas lemia virusinės infekcijos plitimo apribojimą tarp astroцитų bei slopina replikaciją astrocituose. Iškelta hipotezė, kad šis poveikis gali apsaugoti ne tik astroцитus, bet ir kitas CNS ląsteles [132]. 2019 metais atlikto tyrimo metu nustatyta koreliacija tarp chemokino CXCL13 bei B limfocitų kiekio smegenų skystyje, leidžianti manyti, kad B limfocitai ir lokali neutralizuojančių antikūnų gamyba gali turėti didesnę įtaką ligos patogenezėi, nei iki šiol manyta. Taip pat šis kiekis buvo reikšmingai didesnis encefalitu sirgusiems pacientams, lyginant su meningitu sirgusiųjų grupe [115]. Kito Lenkijoje atlikto tyrimo metu nustatytas IL-5 padidėjimas, kuris yra siejamas su B limfocitų diferenciacija į imunoglobulinus produkuojančias ląsteles [133]. Literatūroje aprašomi atvejai, kai B ląstelių gamybą slopinantis medikamentinis gydymas siejamas su sunkesnėmis ligos eigomis bei blo-

gesnėmis išėjimais tarp pacientų, sergančių flavivirusų sukeltomis infekcijomis [134].

IFN- $\gamma$  kiekio padidėjimas sukelia amino rūgšties triptofano degradaciją, o šis procesas yra aiškinamas organizmo siekiu sumažinti triptofano prieinamumą patogenams. Tuo tarpu triptofano skilimo produkto kinurenino metabolitai, manoma, reguliuoja balansą tarp imuninės sistemos aktyvavimo ir slopinimo [135,136], todėl triptofano skilimo kelio modifikavimas gali turėti įtakos EE patogenezėi dėl vyraujančių imunopatogenezinių mechanizmų. Kinureninė rūgštis (angl. *Kynurenic acid*, *KYNA*) yra kitas neuroaktyvus aminorūgšties triptofano apykaitos metabolitas, kuris, manoma, dalyvauja pažintinių funkcijų reguliavime. KYNA yra sintezuojama astrocituose, kurie yra vieni iš EEV taikinių, o pats junginys veikia kaip antagonistas NMDA (N-metil-D-aspartato) receptoriams [137–139] bei cholinerginiams  $\alpha 7$  nikotino receptoriams [140]. Tuo tarpu susilpnėjusi cholinerginė neurotransmisija, manoma, yra susijusi su sutrikusiomis kognityvinėmis funkcijomis [141,142]. Ankstesniuose tyrimuose yra nustatyta, kad pacientų, sergančių EE, smegenų skystyje yra žymiai padidėjęs kinureninės rūgšties (KYNA) kiekis, o jo padidėjimas susijęs su ligos sunkumo forma [143]. Kitas triptofano skilimo produktas yra kvinolino rūgštis, kuri identifikuojama kaip neurotoksinas [135]. Yra žinoma, kad citokinų ir kinurenino sistemos yra glaudžiai susijusios, todėl kinurenino metabolizmą veikiantis citokinų disbalansas gali nulemti neurologinių arba psichikos sutrikimų išsivystymą [136]. 2017 metais lenkų tyrėjų grupė taip pat nustatė sumažėjusius laisvojo karnitino bei acilkarnitino kiekius serume EE metu, tačiau jų vaidmuo EE patogenezėje nėra aiškus [144].

Sunkių ligos eiga gali nulemti ne tik tiesioginę neuronų pažeidimą, bet ir išsivysčiusi smegenų edema, tačiau duomenų apie padidėjusį inktrakranijinę spaudimą virusinių neuroinfekcijų metu ir jo gydymą nėra daug. Įprasta triada, leidžianti įtarti spaudimo padidėjimą (galvos skausmas, optinio nervo disko edema ir vėmimas), encefalito metu nustatoma retai, nes šiai komplikacijai išsivystyti reikia daugiau laiko, taip pat kartais nebūna galimybės skubiai įvertinti paciento akių dugnus. Smegenų edema encefalito metu gali pasireikšti tiek dėl citotoksinio uždegimio poveikio, tiek dėl vazogeninio komponento, tiek dėl intensyvios rehidracijos arba smegenų kamieno pažeidimo, kurį gali sukelti flavivirusai, tokie kaip Vakarų Nilo virusas, Šv. Liuiso encefalito virusas bei kitų tipų neurotropiniai virusai [145,146].

Net ir po daugelį metų trunkančių tyrimų, apimančių tiek molekulinis, tiek ląstelinis bei genetinius EE eiga lemiančius veiksnius, vis dar išlieka daugybė neatsakytų klausimų apie tikslią šios ligos patogenezę ir galimas intervencijas įvairiose jos stadijose.

### 3.5. Klinikinė erkinio encefalito eiga

EE inkubacinis periodas yra 4–28 dienos, tačiau dažniausiai užtrunka 7–10 dienų [46]. Trumpesnis inkubacinis periodas stebimas užsikrėtus alimentariu būdu. Literatūroje aprašyto EE perdavimo organų transplantacijos metu pacientams simptomai pasireiškė 17–49 dienos po transplantacijos [81]. Nebuvo nustatyta ryšio tarp inkubacinio periodo trukmės ir ligos sunkumo [46].

Dažniausiai, apie 74–87 proc. atvejų, liga pasireiškia dvibangė eiga [4,6]. Pirmą ligos bangą pasireiškia nespecifiniais, į gripą ar peršalimą panašiais simptomais – karščiavimu, raumenų skausmais, dideliu nuovargiu bei bendru negalavimu – ir trunka 1–8 dienas [8,46]. Šios ligos fazės metu pacientų būklė dažniausiai išlieka stabili ir hospitalizacijos neprireikia. Po pirmos bangos pacientų būklė pagerėja ir 1–33 dienas tęsiasi „besimptomis“ periodas [8,46]. Rečiau ligai būdinga vienbangė eiga, kurios metu nepasireiškia afibrilus periodas. Tokia ligos forma siejama su sunkesne ligos eiga [72]. Antros bangos metu atsinaujina karščiavimas, lydymas plataus spektro neurologinių simptomų. EE maždaug 43–55 proc. pasireiškia lengva forma (meningitu), 35–56 proc. – vidutinio sunkumo meningoencefalitu, o 5–15 proc. sunkiu meningoencefalitu [7,8,46]. Meningitinės formos metu vyrauja karščiavimas, galvos skausmai, pykinimas ir/ar vėmimas. Tuo tarpu meningoencefalito metu kartu su meningitininiais simptomais dažniausiai stebima galūnių ataksija, tremoras ir sąmonės sutrikimas [5]. Visas šias formas gali lydėti mielito reiškiniai, kurie pasireiškia 2,7–15 proc. atvejų [5], dažniau pažeidžiamos viršutinės galūnės [149]. Galviniai nervai pažeidžiami 5,2–11 proc. atvejų [5,6]. Literatūroje galima rasti ir pavienių atvejų aprašymų su retomis komplikacijomis, tokiomis kaip uveitas ar mioperikarditas [150,151].

EE sunkumas priklauso nuo daugelio veiksnių. Pacientų vyresnio amžiaus įtaka ligos sunkumui nustatyta daugelyje tyrimų [5,6,152–154]. 2018 metais publikuoto Slovėnijoje atlikto tyrimo duomenimis, nustatytas ligos sunkumo ryšys ne tik su pacientų amžiumi, bet ir vakcinacija nuo EE praeityje bei leukocitų kiekiu kraujyje, tačiau šiame tyrime pacientai pagal ligos sunkumą skirstyti tik į dvi grupes – lengvą (meningitas) ir sunkią (meningoencefalitas arba meningoencefalomielitas) [153]. Šio tyrimo metu, kaip ir kito, Lietuvoje atlikto retrospektyvinio tyrimo duomenimis, ligos sunkumas taip pat turėjo ryšį su serumo CRB koncentracija [10]. Kituose tyrimuose sunkesnė ligos eiga susieta su mažu kiekiu neutralizuojančių antikūnų [104] bei tam tikrų genų polimorfizmu [155]. Ankstesnių tyrimų duomenimis, pacientams su mielito reiškiniais prireikia ilgesnio stacionarinio gydymo [6]. Vietovėse, endeminėse tiek EE, tiek Laimo ligai, galimos koinfekcijos, kurių metu gali būti sudėtinga atskirti, kuri liga sukėlė įvairius neurologinius pažeidimus.

Mirštamumas nuo EE Europoje mažas ir siekia 1–4 proc. tarp pacientų, infekuotų EEV-Eu potipio virusu, tuo tarpu EEV-FE potipio infekcijos Azijoje mirtimi baigiasi net 15–20 proc. atvejų ir gali įgyti lėtinę eigą [46]. Pastaruoju metu pradėta diskutuoti, jog dalis nustatytų lėtinių EE atvejų gali iš tikrųjų būti poencefalitinio sindromo sukelti liekamieji reiškiniai, o dalis ne visai pasveikusių EE pacientų visgi gali sirgti lėtine EE forma net ir Europoje [156].

Kadangi vis daugiau žmonių skiepijasi nuo EE, tačiau dažnai ne iki galo ar praleidžia sustiprinančiąsias dozes, didėjanti problema yra EE po vakcinacijos ir galima buvusio skiepijimo įtaka ligos sunkumui. Kadangi jau ilgą laiką žinomas nuo antikūnų priklausomo sustiprinimo fenomenas (angl. *antibody dependent enhancement, ADE*) Dengės viruso sukeltamų infekcijų metu, spekuliuojama, jog kitų flavivirusinių infekcijų, tokių kaip EE, eiga gali būti sunkesnė skiepytiems pacientams. Literatūroje yra skelbta tokių klinikinių atvejų, tačiau nors dauguma jų – pavieniai atvejai, 2017 metais Stanka Lotric-Furlan ir kitų publikuotoje apžvalgoje surinkti ir įvertinti net 126 atvejai, kai EE diagnozuotas praeityje skiepytiems pacientams. Šio tyrimo metu nustatyta, jog praeityje skiepyti pacientai sirgo sunkiau, tačiau ši pacientų grupė buvo gerokai vyresnio amžiaus, tai savo ruožtu yra sunkesnės ligos eigos rizikos veiksnys [157]. 2020 metais publikuotas tyrimas, kurio metu didžiajai daliai praeityje skiepytų pacientų, susirgusių EE, nustatyti pakitimai galvos smegenų MRT tyrimų metu, tačiau reikšmingų skirtumų tarp ligos eigos sunkumo nenustatyta, o didelių imčių tyrimų iki šiol nėra atlikta ir nuo antikūnų priklausomo sustiprinimo fenomenas sergantiesiems EE išlieka neįrodytas [158,159].

Yra žinoma, kad flavivirusinės infekcijos gali turėti teratogenišką poveikį (Zika) bei padidinti persileidimo riziką (Dengės karštinė, Japoniškasis encefalitas), tačiau klinikinių atvejų, kai EE sirgo nėščiosios, analizės metu duomenų apie viruso perdavimą vaisiui, apsunkintą nėštumo eigą ar sulėtėjusį kūdikio vystymąsi po gimimo nenustatyta [160].

### 3.6. Diagnostiniai EE aspektai

#### 3.6.1. Etiologinė EE diagnostika

EE etiologija patvirtinama nustačius specifinius IgM ir IgG antikūnus kraujyje arba smegenų skystyje, taip pat išskyrus viruso RNR iš biologinių mėginių [161]. Antrosios EE bangos pradžioje didžiajai daliai pacientų jau nustatomi abiejų (IgM ir IgG) klasių antikūnai, rečiau – tik IgM. Pagal ECDC rekomendacijas, tokiems pacientams reikalingas pakartotinis serologinis tyrimas praėjus 1–2 savaitėms [161]. Diagnostinių rinkinių sudėtyje esantys virusų antigenai gali kryžmiškai reaguoti su antikūnais, susiformavusiais prieš



kitus flavivirusus dėl panašios struktūrinių baltymų sudėties, todėl tokiais atvejais reikalingas patvirtinamasis tyrimas atliekant neutralizacijos reakcijas (Lietuvoje šis tyrimas neatliekamas) [162].

Anksčiau skiepytų pacientų serologiniai tyrimai taip pat gali būti klaidinčiai teigiami – IgM antikūnai po vakcinacijos kraujyje gali išlikti kelis mėnesius [163]. Tokioje situacijoje EE diagnozei patvirtinti reikalingas intratekalinės IgM ir IgG antikūnų sintezės nustatymas smegenų skystyje. Užsikrėtus nepaisant buvusios vakcinacijos, serumo antikūnų produkcijos dinamika skiriasi nuo įprastos ligos eigos: būdingas atidėtas IgM klasės antikūnų padidėjimas ir greitas žymus IgG klasės antikūnų kiekio augimas [164].

Pastaraisiais metais vis daugiau tyrimų atliekama siekiant įvertinti antikūnų prieš NS1 baltymą svarbą EE diagnostikoje. Šis metodas daug žadantis, nes nestruktūriniai baltymai neįeina į vakcinų sudėtį ir organizme gali susiformuoti tik natūralios infekcijos atveju [55,56].

PGR tyrimo metu smegenų skystyje EEV RNR nustatymo tikimybė itin maža ir klinikinėje praktikoje šis tyrimas nenaudojamas [165]. Pailgėjusi viremija ir ilgalaikis EEV išskyrimas galimas esant giliai imunosupresijai, o daugiau vilčių diagnostiniais tikslais ateityje teikia EEV išskyrimas iš šlapimo mėginių [166–168].

Po natūralios infekcijos IgM klasės antikūnai kraujyje išlieka ilgą laiką – net 10 ar daugiau mėnesių, tuo tarpu IgG klasės antikūnai – visą gyvenimą ir suteikia ilgalaikę apsaugą nuo pakartotinės infekcijos [163,165].

### **3.6.2. Smegenų skysčio tyrimas EE metu**

Beveik visiems pacientams EE metu nustatoma limfocitinė pleocitozė smegenų skystyje [169]. Smegenų skystyje įprastai vyrauja limfocitai, tačiau ankstyvuojų ligos periodu gali būti nustatytas ir neutrofilų dominavimas [104]. Įprastai nustatomas normalus gliukozės ir laktatų kiekis bei saikiai padidėjęs bendrojo baltymo kiekis. Ankstesnių tyrimų duomenimis, baltymo kiekis likvoro yra susijęs su ligos sunkumu [6].

### **3.6.3. Vaizdiniai CNS tyrimai EE metu**

Vaizdinių galvos smegenų tyrimų metu pakitimai EE pacientams nustatomi retai (10–20 proc. atvejų) [170–173], nepaisant MRT tyrimo jautrumo, tačiau pastaraisiais metais šis procentas didėja, galimai dėl didėjančios MRT tyrimų skiriamosios gebos [158]. Pažeidimai dažniausiai lokalizuojasi gumburo, smegenėlių, smegenų kamieno bei uodeguotojo branduolio srityse, tačiau, nepaisant to, vaizdiniuose tyrimuose nustatyti pakitimai nėra specifiški EE bei negali prognozuoti ligos eigos sunkumo [6,11,170,174]. EE pasireiškus mielitine forma, dažniausiai nustatomi pakitimai priekiniuose nugaros

smegenų raguose, o tokiais atvejais MRT jautrumas gali siekti net 58 proc. [11]. Neturint patvirtintos ligos etiologijos, šių pažeidimų aptikimas kartu su kitose anksčiau išvardintose srityse leidžia įtarti, jog pakitimų kilmė galėtų būti EE [173,175].

### 3.7. EE gydymas

Specifinio etiotropinio EE gydymo nėra. Taikomas simptominis gydymas – dehidracijos ir elektrolitų disbalanso korekcija, antipiretikai, analgetikai, antiemetikai. Įvykus traukuliams skiriami antiepileptiniai preparatai. Literatūroje aprašomi priešvirusinio gydymo metodai [176], tačiau, trūkstant veiksmingumo įrodymų, tarptautinėse klinikinėse gairėse jie nėra rekomenduojami [177]. Kai kuriose šalyse EE sergantiems pacientams vis dar skiriamas gydymas gliukokortikoidais, tačiau ankstesni Lietuvoje atlikti tyrimai nerado ryšio tarp deksametazono skyrimo ir geresnių ligos išeičių, be to, šių medikamentų skyrimas turėjo ryšį su ilgesne hospitalizacija [5]. Osmodiuretikų, tokių, kaip manitolis, skyrimas taip pat diskutuotinas, nes klinikinių tyrimų šioje srityje atlikta nėra, o vaisto skyrimas visada yra empirinis [178]. 2017 metais publikuotas tyrimas su pelėmis, kurio metu tirtas intraveninio imunoglobulino (IVIG) poveikis. Šio tyrimo metu nustatyta, kad IVIG skyrimo efektyvumas priklauso nuo specifinių anti-EEV antikūnų kiekio tirpale, o šis kiekis reikšmingai skiriasi net tarp to paties gamintojo IVIG produktų [179]. Nepaisant to, aukštą neutralizuojančių antikūnų titrą turintys IVIG produktai sukūrė apsaugantį poveikį infekuotoms pelėms net 90 proc. atvejų. Tyrimo autoriai svarsto, kad tokio IVIG skyrimas galėtų būti taikomas tiek kaip efektyvus gydymo metodas, tiek kaip poekspozicinė profilaktika.

Pacientams, kuriems liga pasireiškia paralyžiais ir kitais biosocialinių funkcijų sutrikimais, būtinas kuo ankstyvesnis reabilitacinis gydymas.

### 3.8. Ilgalaikiai liekamieji reiškiniai

Retrospektyvinių tyrimų duomenys apie ilgalaikius liekamuosius reiškinius po EE gana sunkiai tarpusavyje palyginami dėl skirtingų tyrimų metodikų [8], taip pat atlikta nemažai prospektyvių tyrimų, kurių pranašumas vertinant šiuos aspektus akivaizdus, nepaisant to, kad dalis jų atlikti gana seniai [4–6]. 1999 metais Vokietijoje atlikto tyrimo duomenimis, ilgalaikiai liekamieji reiškiniai (vėliau nei 3 mėnesiai po ūmios ligos) nustatyti 27 proc. pacientų, tačiau tyrimo metu pagrindinis dėmesys atkreiptas į objektyvius simptomus, tokius kaip išliekančios galūnių parėzės [6]. Tuo tarpu prieš daugiau nei 20 metų Kaune atlikto tyrimo duomenimis, nevisiškas pasveikimas praėjus 1 metams po EE stebėtas net 46 proc. pacientų. Iš jų apie du trečdaliai

tiriamųjų skundėsi tik subjektyviais simptomais, kitiems buvo registruojami objektyvūs neurologiniai liekamieji reiškiniai. Šiame tyrime pacientai dažniausiai skundėsi asmenybės pokyčiais ir galvos skausmais [5].

Šiuo metu ilgalaikiams liekamiesiems reiškiniams apibūdinti naudojamas labai platus terminas – poencefalitinis sindromas (PES). 2018 metais publikuotame Slovėnijoje atliktame tyrime PES buvo apibūdintas kaip  $\geq 2$  naujai atsiradę ar progresuojantys subjektyvūs simptomai ir/arba  $\geq 1$  objektyvus neurologinis simptomas, tačiau šio termino vartojimas ir paplitimo nustatymas neatskleidžia subtilių problemų, su kuriomis susiduria EE sirgę pacientai [180]. Per paskutiniuosius 30 metų atliktų prospektyvinių ilgalaikių EE liekamųjų reiškinių tyrimų palyginimas pateiktas 3.8.1 lentelėje.

### 3.8.1 lentelė. Prospektyviniai ilgalaikių liekamųjų reiškinų po EE tyrimai

Tyrimo informacija	Tomazic ir kt., 1996	Gunther ir kt., 1997	Kaiser, 1999	Mickienė ir kt., 2002	Bogovic ir kt., 2018	Nygren ir kt., 2023
Pacientų skaičius	492	85	656	133	714	558
Įtraukimo laikotarpis	1994 m.	1991–1993 m.	1994–1998 m.	1998–1999 m.	2007–2012 m.	2018–2020 m.
Stebėjimo trukmė	6 mėn.	12 mėn.	1–60 mėn. (mediana – 12 mėn.)	12 mėn.	12 mėn. (+2–7 metai)	18 mėn.
Neatvykusių stebėjimui pacientų skaičius	6 (1,2 proc.)	2 (2,3 proc.)	426 (64,9 proc.)	16 (1,2 proc.)	339 (41,2 proc.)	35 (6,3 proc.)
<b>Ligos išieitys</b>						
Mirštamumas	0,2 proc.	0 proc.	1,2 proc.	0,8 proc.	0,66 proc.	0 proc.
Nevisiškas pasveikimas	26,1 proc.	39,8 proc.	27 proc.	46,2 proc.	47 proc.	36,2 proc.
<b>Objektyvūs neurologiniai liekamieji reiškiniai</b>						
Nugarinių nervų pažeida	2,2 proc.	6 proc.	20 proc.	6 proc.	5,8 proc.	4 proc.
Tremoras ir/ar ataksija	10,2 proc.	9,6 proc.	-	12,5 proc.	3,9 proc.	13 proc.
Jutimo sutrikimai	-	2,4 proc.	-	-	-	8 proc.
Klausos sutrikimai	-	2,4 proc.	-	-	0,5 proc.	6 proc.
<b>Subjektyvūs simptomai</b>						
Emocinis nestabilumas	-	-	-	18,8 proc.	8,7 proc.	-
Dėmesio/koncentracijos stoka	15,2 proc.	8,4 proc.	-	15,4 proc.	-	-
Atminties sutrikimai	1,4 proc.	10,8 proc.	-	19,7 proc.	16,9 proc.	11 proc.
Miego sutrikimai	-	-	-	-	2,9 proc.	11 proc.
Nuovargis	21,7 proc.	-	-	-	15,9 proc.	17 proc.
Galvos skausmai	22,6 proc.	10,8 proc.	-	20,5 proc.	35,7 proc.	10 proc.

Neseniai publikuoti ir keli retrospektyviniai didelių apimčių liekamųjų reiškinių po EE tyrimai Lenkijoje ir Lietuvoje. Czupryna ir kt. duomenimis, tik 20,6 proc. pacientų turėjo liekamųjų reiškinių praėjus 1 mėnesiui po ūmios ligos, tačiau šiame tyrime simptomai, nedarantys žymios įtakos pacientų gyvenimo kokybei, nebuvo registruojami [9]. Ankstesniame tų pačių tyrėjų tyrime buvo nustatyta, jog net 43,8 proc. pacientų (n = 272) po EE prireikė psichiatrinio gydymo [181]. Tuo tarpu Lietuvos tyrėjų duomenimis, net 81 proc. pacientų nustatyti liekamieji reiškiniai išrašant iš stacionaro, tačiau ilgalaikis stebėjimas nebuvo atliktas [10].

Objektyvios skirtingose medicinos disciplinose naudojamos ligos išeičių skalės naudojamos jau daugelį metų, tačiau neuroinfekcijų srityje pradėtos naudoti gana neseniai. Dauguma jų adaptuotos iš kitų medicinos sričių ir nėra validuotos įvairios kilmės encefalitų pasekmių tyrimuose [182]. Taip pat dauguma jų apima tik vienos srities, pavyzdžiui fizinės negalios arba kognityvinių funkcijų, įvertinimą. Nepaisant to, jog per pastaruosius kelerius metus sukurtos bent kelios naujos skalės, tokios kaip Liverpulio išeičių skalė (angl. *Liverpool Outcome Score, LOS*) [183], atliktos sisteminės apžvalgos autoriai išvelgia akivaizdų efektyvių įrankių trūkumą vertinant ligos pasekmes, remiantis tik pacientų pranešimais (angl. *patient-reported outcome measures, PROMs*) [184], o ir jau minėta Liverpulio išeičių skalė vis dar nėra plačiai naudojama [182]. Kita naujai sukurta CASE (angl. *Clinical Assessment Scale in Autoimmune Encephalitis*) skalė kol kas naudojama tik vertinant autoimuninių encefalitų pasekmes ir galima jos nauda infekcinės kilmės encefalitų tyrimuose nėra aiški [185]. Ilgalaikių pasekmių įvertinimas po EE ir kitų CNS infekcijų nėra standartizuotas, o tai apsunkina įvairių atliekamų studijų lyginimą tarpusavyje.

### **3.9. Neuroinfekcijų sąlygoti neurokognityvinių funkcijų pažeidimai**

Kognityvinės funkcijos gali būti skirstomos į keturias pagrindines klases: informacijos priėmimo, atminties ir mokymosi, mąstymo bei ekspresijos, tačiau nepaisant šio skirstymo dažniausiai visos šios sritys integruojamos į bendrus sudėtingus procesus [186]. Kiekviena iš pažintinių funkcijų sričių gali būti skirstoma į dar smulkesnes grupes ar net itin siauras specifines funkcijas. Dėmesio išlaikymo funkcijos nėra priskiriamos nė vienai iš anksčiau išvardintų grupių, nes yra manoma, kad būtent jos atsakingos už kitų pažintinių funkcijų vykdymą [186]. Vienas iš to pavyzdžių yra informacijos priėmimo klasė, kuri tiesiogiai priklauso nuo penkių tradicinių jutimų (regos, klausos, lytėjimo, skonio ir kvapo), tačiau tam tikrų iš šių sričių informacijos priėmimas reikšmingai priklauso nuo dėmesio išlaikymo šio proceso metu [187,188]. Atminties klasė gali būti skirstoma į trumpalaikę bei ilgalaikę at-

mintį. Trumpalaikės atminties funkcionavimą atspindi darbinės atminties sritis, o ilgalaikės atminties funkcija dar gali būti vadinama mokymusi – gebėjimu naujai įsimintą informaciją apdoroti ir panaudoti praėjus ilgesniam laikui. Ilgalaikės atminties procesai nėra galutinai išsiaiškinti, tačiau yra priklausomi nuo pakitimų tiek pačiuose neuronuose, tiek jų sinapsėse bei pačių sinapsių kiekio [189–191]. Ekspresijos klasė gali būti sutrikdyta ir tiesioginės motorinės neurologinės pažaidos, tačiau kalbant apie pažintines funkcijas dažniau vertinama kaip negebėjimas vykdyti įvairių funkcijų, esant normaliai efektorinių raumenų veiklai bei inervacijai [186]. Mąstymas apima labai platų spektrą funkcijų, tokių kaip skaičiavimas, samprotavimas, sprendimų priėmimas, abstrahavimas ar generalizavimas. Dalis funkcijų, tokių kaip organizavimas, planavimas, problemų sprendimas, persidengia mąstymo ir vykdymo klasėse [186]. Nepaisant to, kad seniau visos pažintinės funkcijos būdavo jungiamos į vieną visumą, o vėliau pradėtas naudoti ir bendras terminas „intelektas“, dabartinės teorijos teigia, jog siekiant įvertinti kognityvinį funkcionavimą ar „intelektą“ reikia kartu įvertinti daugelį funkcijų. Buvo pastebėta, kad skirtingos pažintinės funkcijos gali būti pažeidžiamos skirtingu greičiu net ir tos pačios ligos atveju, pavyzdžiui, palaiptiui vykstant neurodegeneracijai dėl Alzheimerio ligos. Skirtingos pažintinės funkcijos taip pat skirtingu greičiu kinta bėgant laikui ir žmogui senstant [192,193]. Socialinis pažinimas ar socialinė kognicija yra atskira sritis, kuri apima kompleksinius problemų sprendimus, planavimą bei socialinį elgesį bei emocinį stabilumą. Praeityje atlikuose tyrimuose nustatyta, kad pažeidus tam tikras smegenų sritis socialinio pažinimo funkcijos žymiai pablogėja be jokio sumažėjimo įprastai tirtose kitose pažintinių funkcijų srityse [194,195]. Taip pat yra žinoma, kad kai kurių infekcinių procesų, tokių kaip *HSV-1* sukeltas encefalitas, metu dažnai pažeidžiamas pogumburis bei migdolinis kūnas, o tai gali lemti elgesio sutrikimus, impulsų kontrolės sumažėjimą ir dėl to – socialinio pažinimo pažeidimus [196]. Neuropsichologinių testų parinkimas yra gana individualus, tačiau vertinant tam tikras, ilgą laiką tyrinėjamas ligas, pavyzdžiui išsėtinę sklerozę ar Alzheimerio ligą, jau yra nusistovėjusios rekomendacijos dėl minimalių reikalavimų testų apimtims [197,198]. Individualizuotas požiūris dažnai neįgyvendinamas klinikinių tyrimų metu, kai tyrėjai turi laikytis griežto tyrimo protokolo, taip pat daugelio CNS pažeidžiančių ligų atvejais bendras sutarimas dėl neuropsichologinio ištyrimo nėra pasiektas, todėl daugelyje neuroinfekcijų srityje atliktų tyrimų taikyta metodika žymiai skiriasi.

Pažintinių funkcijų tyrimo linkme po EE pirmieji tyrimai atlikti vaikų populiacijoje. Tai lėmė vaikų negebėjimas tiksliai nurodyti subjektyvių nusiskundimų ir išreikšti problemų kasdienėje veikloje. Dar 2005 metais Schmolck ir kt. atliktas platus neurokognityvinis ištyrimas, apimantis žodinių mokymąsi ir atmintį, darbinę atmintį bei psichomotorinį greitį. Tyrimo metu

nustatyti dėmesio bei psichomotorinio greičio sutrikimai EE sirgusiųjų grupėje [94]. 2013 metais Fowler ir kt. nustatė tik darbinės atminties sutrikimus vaikams, persirgusiems EE, tuo tarpu kitose ištirtose srityse nuokrypių nuo normų nenustatyta [199]. 2015 metais Čekijoje atliktame tyrime pažintinių funkcijų sutrikimai nustatyti 11 proc. tirtų vaikų, dažniausiai – trumpalaikės atminties pablogėjimas ir pasiekimų mokykloje sumažėjimas [200]. Suaugusiųjų tarpe dauguma iki šiol atliktų neuropsichologinių liekamųjų reiškinių tyrimų po EE buvo atlikti naudojant savęs vertinimo pranešimus arba klausimynus [5,7,201,202], nors kai kurių iš jų, pavyzdžiui Veje ir kt., atlikto tyrimo metu naudoti platūs encefalito liekamųjų reiškinių vertinimui pritaikyti klausimynai (angl. *Encephalitis support group questionnaire, ESGQ*), vertinantys skirtingas sritis, tokias kaip atmintis/mokymasis, vykdomosios funkcijos, budrumas, emociniai simptomai, fizinė negalia, jutimų sutrikimai, kalba bei dirglumo simptomai [7]. Pastarajame tyrime EE sirgę pacientai statistiškai reikšmingai dažniau nurodė išliekančius sutrikimus atminties/mokymosi, vykdomųjų funkcijų, budrumo bei fizinės negalios srityse nei sveikų žmonių kontrolinė grupė. Tuo tarpu objektyvus neuropsichologinis įvertinimas atliktas tik Gustaw-Rothenberg ir kt. 2008 metais, kai ištirti 40 sunkiu EE sirgę pacientai [42]. Šio tyrimo metu pre-demencijos lygmenį siekiantis kognityvinis sutrikimas nustatytas 55 proc. atvejų, o atminties/kalbos sunkumai – 35 proc. tiriamųjų. Įdomus tyrimo radinys buvo tai, jog pakartojus tyrimą po 6 mėnesių rezultatai nepasikeitė, tačiau nebuvo nurodytas tikslus laikas, praėjęs po ūmios ligos fazės [42]. Norvegijoje atliktoje prospektyvinėje studijoje tirti įvairios etiologijos encefalitais sirgę pacientai, o jų pažintinės funkcijos vertintos naudojant itin platų neurokognityvinių testų rinkinį. Tyrimo metu nustatyti reikšmingai sumažėję psichomotorinio greičio, žodinio mokymosi, atminties ir vaizdinio mokymosi rezultatai, lyginant su meningitu sirgusiais pacientais praėjus net dvylikai mėnesių po ligos, tačiau EE atvejų šiame tyrime nebuvo įtraukta [203].

Geros kokybės kognityviniai testai buvo pritaikyti tiriant ir kitomis erkių platinamomis ligomis persirgusiuosius. 2012 metais publikuotame tyrime tirtos Laimo neuroborelioze sirgusiųjų pacientų pažintinės funkcijos praėjus net 30 mėnesių po ūmios ligos fazės. Tyrimas analizavo dėmesio, apdorojimo greičio, atminties bei žodinio mokymosi sritis, o reikšmingi skirtumai tarp tiriamųjų ir kontrolinės grupės nustatyti vaizdinės bei žodinės atminties ir apdorojimo greičio srityse [204]. Norvegijoje 2022 metais atlikto tyrimo metu pažintinės funkcijos ištirtos praėjus šešiams mėnesiams po neuroboreliozės gydymo. Priešingai ankstesniems rezultatams, reikšmingų skirtumų tarp tiriamosios ir kontrolinės grupių nenustatyta [205].

2020 metais Weinmayr ir kt. aprašė EE atvejį nėštumo metu, po kurio praėjus aštuoniems mėnesiams motinai buvo atliktas kelių kognityvinių sričių

(žodinio mokymosi, atminties, dėmesio išlaikymo, apdorojimo greičio) ištyrimas, tačiau sutrikimų nenustatyta [206]. Tuo tarpu Ripamonti ir kt. aprašytas EE atvejis, kurio metu nustatyti dėmesio išlaikymo bei atminties deficitai ir taikyta trijų mėnesių trukmės kognityvinė rehabilitacija, tačiau nei ištyrimo, nei rehabilitacijos metodai nebuvo detaliam nurodyti [207]. Faktas, jog beveik visuose atliktuose tyrimuose naudoti skirtingi testų rinkiniai, rodo, kad vis dar nėra žinoma, kokie instrumentai yra tinkamiausi kognityvinių funkcijų ištyrimui po EE, taip pat nėra aišku, kada yra tinkamiausias metas atlikti šį įvertinimą.

### **3.10. Autoimuninio uždegimo ryšys su infekcijomis ir jų įtaka kognityvinėms funkcijoms**

Limbinės smegenų sistemos svarba atminties, emocijų ir elgesio procesams žinoma jau seniai [208]. Ši sistema dažnai pažeidžiama autoimuninės kilmės CNS uždegimo metu, o terminai „autoimuninės kilmės encefalitas“ ir „limbinis encefalitas“ dažnai vartojami kaip sinonimai [209]. Dauguma autoimuninių encefalitų pasireiškia nuotaikos, atminties bei įvairaus lygio sąmonės sutrikimais, kartu su arba be papildomų labiau specifinių simptomų [210]. Kartais autoimuniniai encefalitai pasireiškia ūmiai, tačiau daug būdingesnė poūmė eiga, kai simptomai progresuoja kelių savaičių ar mėnesių laikotarpiu. 2018 metais publikuoto Austrijoje atlikto palyginamojo tyrimo tarp infekcinės bei autoimuninės kilmės encefalitų rezultatai parodė, kad remiantis vien klinikiniu pasireiškimu šių dviejų grupių kartais atskirti neįmanoma, o didžiausius diferencinius iššūkius nustatė lyginant anti-LGI-1 bei anti-CASPR-2 ir EE [211]. Pastaraisiais metais atrandama vis daugiau specifinių šių encefalitų potipių, dauguma jų susiję su neuronų paviršiniaisiais arba sinapsiniais antigenais, o bendras sergamumas visame pasaulyje siekia 0,8 atvejo 100 000 gyventojų per metus [212]. Nuo 2005 metų per metus atrandami 1–2 nauji autoimuninių encefalitų tipai [210]. Didelė dalis šių encefalitų turi nustatytą ryšį su onkologinėmis ligomis bei kartais pasireiškia netgi anksčiau nei šios ligos. Dalis atvejų gali pasireikšti ir nesant onkologinės ligos, taip pat jau kurį laiką tiriama ir infekcijų įtaka šių encefalitų išsivystymui.

Daugiausia mokslo žinių sukaupta apie anti-NMDAR autoimuninį encefalitą, ir nors jis dažniausiai traktuojamas kaip idiopatinės kilmės, *HSV-1* sukeltoto virusinio encefalito svarba jo išsivystymui jau neabejotina ir yra aprašyta ne viena dešimtis tokių atvejų [30,31]. Šio encefalito patogenezė nėra iki galo aiški ir vyrauja bent kelios teorijos – molekulinės mimikrijos, NMDAR epitopų prieinamumo padidėjimas dėl neuronų destruktijos bei nespecifinė B ląstelių aktyvacija [39,213]. Be *HSV-1*, publikuoti atvejai susieti su japoniško encefalito virusu, žmogaus imunodeficito virusu, *Angiostrongylus cantone-*



sis, tuberkuliozės mikobakterijomis, *EBV*, *HHV-6*, *HHV-7*, bei *VZV* [33,39]. Dauguma atvejų nustatyti vaikų populiacijoje. Anti-NMDAR encefalito prodromui kaip ir EE būdingi nespecifiniai į gripą panašūs simptomai, po kurių gali sekti karščiavimas, sąmonės sutrikimas, traukuliai, psichiatriniai simptomai, kalbos bei judesių sutrikimai bei autonominė disfunkcija [214]. EE metu produkuojama kinureninė rūgštis yra NMDA receptorių antagonistas ir dėl šio mechanizmo galimai prisideda prie neuropsichiatrinų liekamųjų reiškinių, tačiau literatūroje iki šiol aprašyti tik du anti-NMDAR encefalito atvejai po persirgto erkinio encefalito [39]. Nepaisant to, kad šio susirgimo metu antikūnai gali būti nustatomi ir serume, neabejotinam diagnozės patvirtinimui naudojamas antikūnų nustatymas smegenų skystyje [209].

Kitas, dažniausiai su limbinės sistemos pažeidimu siejamas anti-LGI-1 encefalitas dažniausiai pasireiškia trumpalaikės atminties sutrikimais, dezorientacija bei traukuliais [215,216]. Daugiau nei pusei pacientų nustatoma hiponatremija, o vis daugiau tyrimų nustato miego sutrikimus [217,218]. Anti-CASPR-2 encefalitas siejamas su Morvano sindromu, kurio metu vyrauja encefalitui būdingi simptomai (amnezija, dezorientacija, haliucinacijos, miego ir autonominė disfunkcija) bei gali pasireikšti padidėjęs periferinių nervų jaudrumas ar neuromiotonija [210]. Morvano sindromo pasireiškimas turi stiprų ryšį su gretutine timomos diagnoze [219]. Griffith ir kt. 2020 metais publikuotame straipsnyje apžvelgti anti-LGI-1 sąlygoti tokių kognityvinių funkcijų kaip apdorojimo greitis, atmintis, socialinis pažinimas bei vaizdinis mokymasis sutrikimai, tačiau aprašomi tik pavieniai atvejai [220]. 2023 metais publikuoti studijos, tyrusios galimą SARS-CoV-2 viruso įtaką autoimuninių encefalitų išsivystymui, rezultatai. Jos metu keliems pacientams nustatyti anti-NMDAR, anti-LGI-1 ir anti-CASPR-2 antikūnai serume, tačiau likvoro šių antikūnų nerasta ir nė vienas pacientas neatitiko autoimuninių encefalitų diagnostikos kriterijų [221]. 2021 metais publikuoto tyrimo metu pacientų, kuriems buvo diagnozuotas anti-LGI-1 encefalitas, likvoro nustatyti antikūnai prieš *EBV*, *HSV*, *CMV* bei raudonukės virusą, tačiau pacientams nebuvo nustatytas aiškus su infekcine liga siejamas prodrominis laikotarpis ir, tyrėjų nuomone, šie radiniai labiau sietini su polikloniniu imuniniu atsaku [222]. Daugiau duomenų apie anti-LGI-1 autoimuninio encefalito ryšį su infekciniais procesais nėra, tuo tarpu anti-CASPR-2 pasireiškimas pavieniuose klinikiniuose atvejuose yra siejamas su *HSV-1* sukeltu encefalitu, neurosifiliu bei virusiniu hepatitu B [223–227].

Anti-GABAR autoimuninis encefalitas išskiriamas į dvi atskiras grupes – anti-GABAaR bei anti-GABAβR, pastarieji savo ruožtu skirstomi į anti-GABAβR1 bei anti-GABAβR2 grupes. Anti-GABAaR encefalitas dažnai pasireiškia *status epilepticus* arba refrakteriniais traukuliais, kurių valdymui kartais prireikia net medikamentinės komos indukcijos, taip pat an-

tikūnai prieš GABAaR yra siejami su sustingusio žmogaus sindromu (angl. *stiff person syndrome*) [228,229]. Publikuotas vienas klinikinis atvejis apie sustingusio žmogaus sindromą, sąlygotą EE [230]. Yra aprašytas atvejis, kai šie antikūnai likvoro nustatyti vaikui, persirgusiam *HSV-1* sukeltu encefalitu, tačiau kartu buvo nustatyti ir anti-NMDAR antikūnai, todėl aiški asociacija nėra žinoma [231]. Taip pat aprašytas pavienis atvejis, kurio metu anti-GABAaR encefalitas siejamas su parvovirusu B19 [232]. Anti-GABA<sub>b</sub>R encefalitimai dažniausiai pasireiškia limbinio encefalito klinika, tačiau kartais taip pat gali sąlygoti traukulius ir net *status epilepticus* [233,234]. Retais atvejais anti-GABA<sub>b</sub>R encefalitas gali sąlygoti ataksiją, kuri dažnai nustatoma ir EE pacientams [235]. Literatūroje nurodomi šio tipo encefalito atvejai po persirgto enterovirusinės kilmės encefalito, japoniškojo encefalito ir COVID-19 infekcijos, tačiau apie 50 proc. atvejų siejami su smulkių ląstelių plaučių karcinoma [34,236–238]. Šių pacientų tarpe plaučių infekcija siejama su blogesnėmis anti-GABA<sub>b</sub>R encefalito išėjimais [239].

Anti-AMPA encefalitas taip pat dažniausiai pažeidžia limbinę sistemą ir sukelia psichiatrinius simptomus. Kaip ir jau anksčiau aprašytas anti-GABA<sub>a</sub>R encefalitas, pastarasis taip pat turi stiprų ryšį su onkologiniais susirgimais, dažniausiai – plaučių, krūties ar čiobrialiaukės [240]. Šio tipo encefalitimui itin būdingi atminties sutrikimai su konfabuliacijomis, o dėl galimų ligos atkryčių ilgainiui nustatomi vis gilėjantys atminties deficitai [210]. Yra paskelbti keli klinikiniai atvejai, kada anti-AMPA encefalitas pasireiškė po *HHV-7* ir *HSV-1* sukeltų neuroinfekcijų, tačiau vienu atveju tuo pačiu metu pacientui buvo nustatyti ir anti-NMDAR antikūnai, o kitu - anti-IgLON5 antikūnai [241,242].

Priešingai jau aprašytiems atvejams, anti-DPPX encefalitas neapsiriboja vien CNS pažeidimo simptomais. Jo eigai būdingi gastrointestinės sistemos simptomai bei svorio kritimas, kurie dažniausiai pasireiškia anksčiau nei kognityvinių funkcijų sutrikimai. CNS pažeidimo simptomai gali pasireikšti ažitacija, haliucinacijomis, tremoru bei hiperekpleksija [243,244]. Ilgą laiką nebuvo nustatyta sąsajų tarp infekcijų ir anti-DPPX encefalito, tačiau 2024 metais publikuotas klinikinis atvejis, kai likvoro nustatyti tiek jau minėti autoimuniniai antikūnai, tiek *Leptospira interrogans* DNR [245]. Minėtame atvejuje likvoro leukocitų skaičius buvo normos ribose, o *Leptospira interrogans* DNR nustatyta tik naujosios kartos metagenominio sekvenavimo metodu, todėl tiek neuroleptospirozės diagnozė, tiek jos įtaka anti-DPPX encefalito išsivystymui abejotina.

Išskyrus aprašytus du anti-NMDAR encefalito atvejus, daugiau duomenų apie kitos kilmės autoimuninius procesus po EE nėra. Kadangi dauguma autoimuninės kilmės encefalitimų, kurie nėra asocijuoti su onkologiniais susirgimais, efektyviai gydomi imunomoduliaciniais medikamentais (gliuko-

kortikoidais, monokloniniais antikūnais), IVIG bei plazmaferezėmis, tokio patogenezės kelio nustatymas po persirgto EE atvertų kelių platesnėms terapinėms galimybėms siekiant kontroliuoti išliekančius ar progresuojančius simptomus [41].

### 3.11. Smegenų pažaidos biožymenys

EE virusas gali pažeisti įvairias CNS sritis, tačiau dažniausiai pažeidžiamos pailgosios smegenys, dantytasis branduolys, pamato branduoliai, nugaros smegenų priekiniai ragai bei smegenėlės [107]. Kiek ši pažaida nulemta tiesioginio viruso poveikio, o kiek uždegiminio atsako, dar nėra iki galo aišku [246]. Skirtingų ląstelių pažaidos metu įvairūs biožymenys patenka į kraują bei smegenų skystį, o jų nustatymas leidžia įtarti skirtingų ląstelių pažeidimus. Jau kurį laiką mokslininkai tyrinėja smegenų pažaidos biožymenų prognostinę vertę įvairių CNS pažeidimų metu. Tam tikri žymenys gali būti nustatomi tik esant glijos pažaidai (S-100B baltymas, glijos fibrilinis rūgštinis baltymas (GFAP)), kiti – esant neuronų pažaidai (neurofilamentas – aksonų pažaidos metu), o kai kurie, pavyzdžiui, Tau baltymas, randami visose nervų sistemos ląstelėse.

Neurofilamento lengvoji grandinė (NFL) serume ir smegenų skystyje yra gerai žinomas ir naudojamas žymuo, atspindintis aksoninį neuronų pažeidimą ūmių neurologinių susirgimų, tokių kaip galvos smegenų trauma ar insultas, metu. NFL koncentracija serume gali būti naudojama prognozuojant neurologinio pažeidimo apimtį ir prognozę po išeminio insulto [15,247]. Danijoje atlikto tyrimo metu NFL kiekiai tirti autoimuniniais encefalitais (anti-NMDAR ir anti-LGI-1) sergančiųjų likvoro. Tyrimo metu nustatyti daug didesni NFL kiekiai anti-LGI-1 encefalito grupėje, tačiau abiejose grupėse reikšmingai koreliavo su prastesnėmis funkcinėmis išėjimais naudojant MRS skalę [248].

Glijos fibrilinis rūgštinis baltymas (angl. *Glial fibrillary acidic protein*, GFAP) yra astrocitų citoskeleto baltymas ir atspindi astrocitų funkciją. Žinoma, kad GFAP koncentracija didėja tiek serume, tiek smegenų skystyje ankstyvioju periodu po insulto [249]. YKL-40 (į chitinazę panašus baltymas) yra glikoproteininis astroglijos aktyvacijos bei neurodegeneracijos žymuo, produkuojamas kelių skirtingų rūšių CNS ląstelių (aktyvuotų neutrofilų ir makrofagų) uždegiminio atsako metu [250]. YKL-40 žymens kiekio padidėjimas nustatytas įvairių neurodegeneracinių procesų, tokių kaip Alzheimerio liga bei Hantingtono liga, metu [20–22]. Kadangi astroцитai yra itin imlūs infekcijai, tačiau gana atsparūs viruso sukeltai ląstelės žūčiai, yra galvojama, kad būtent jie yra atsakingi už viruso diseminaciją smegenyse [251]. Eksperimentinio modelio tyrime, kurio metu astroцитai buvo infekuoti EEV, nustatyta sėkminga viruso replikacija šiose ląstelėse, taip pat buvo nustatytas

padidėjęs autofagocitozės dažnis [251]. S-100B yra intraląstelinis baltymas, kurio sekrecija aktyvuojama ląstelių streso metu ir šis baltymas taip pat naudojamas kaip prognostinis žymuo trauminio galvos smegenų pažeidimo metu [14,18,19].

Tau baltymo bei neuronams specifinės enolazės (NSE) prognostinė vertė ir ryšys su tolimesniu nervų sistemos vystymusi įrodyti tyrinėjant išeminę galvos smegenų pažeidimą naujagimiams [17], taip pat Tau baltymo ryšys su neurodegeneraciniais procesais Alzheimerio ligos metu žinomas jau daugelį metų.

Neurograninas atspindi neuronų sinapsių degeneraciją [252]. Šis biožymuo atrastas dar 1990 metais, tačiau jo reikšmė vis dar nėra iki galo aiški. Daugiausia tyrimų atlikta Alzheimerio ligos srityje, tačiau pastaraisiais metais pradėta tyrinėti šio žymens nauda ir kitų patologijų kontekste, tokių kaip Creutzfeldo-Jakobo liga, trauminė smegenų pažeidima bei išeminis insultas [253–255]. 2018 metais taip pat publikuoti duomenys apie neigiamą neurogranino reguliaciją ŽIV-1 infekcijos sąlygotos sinapsinės pažeidimos metu [256].

Neuroinfekcijų srityje smegenų pažeidimos biožymenys daugiausia tyrinėti herpes virusų (*HSV-1*, *VZV*) sukeltų encefalitų metu [23,24]. 2000 metais Švedijoje atliktame tyrime nustatyta, kad erkinio encefalito metu likvoro nustatomas žymiai mažesnis biožymenų (S-100B, GFAP, NFL) kiekis nei *HSV-1* sukkelto encefalito metu, tačiau tyrimo imtys tuo metu buvo gana mažos [257]. *Herpes simplex-1* encefalito metu didesni NFL kiekiai smegenų skystyje koreliavo su ilgalaikėmis pasekmėmis [16]. Yra aprašytas Vakarų Nilo viruso (flavivirusas, gimingas EEV) infekcijos klinikinis atvejis, kurio metu nustatyti padidėję tiek neurofilamento, tiek astrocitų žymenų GFAP bei S-100B kiekiai [258]. Iki šiol atlikta gana mažai EE tyrimų šia kryptimi. Neseniai publikuotame pranešime Čekijos autoriai nurodo padidėjusį kiekį fosforilinto neurofilamento sunkiojo subvieneto kiekį EE sergančių pacientų smegenų skystyje, lyginant su sveikais kraujo donorais [28], tuo tarpu lenkų tyrėjų grupė 2018 metais nustatė didesnes Tau baltymo bei neuronams specifinės enolazės koncentracijas, lyginant su kontroline grupe, o tai leidžia įtarti ligos metu vykstančius neurodegeneracinius procesus [25,26]. Seniau atliktas tyrimas Švedijoje taip pat nustatė didesnes GFAP koncentracijas EE pacientams lyginant su kontroline grupe, tačiau ženkliai mažesnes nei *Herpes simplex-1* encefalito metu [257]. Czupryna ir kitų atlikto tyrimo metu Lenkijoje nustatyta, jog erkinio encefalito metu YKL-40 koncentracija smegenų skystyje ženkliau padidėja meningitine forma sergantiesiems, lyginant su sergančiais meningoencefalitu [29]. Tokie rezultatai vertinti dviprasmiškai, nes įprastai meningitine forma pacientai serga lengviau, o tyrimo imtis taip pat buvo ganėtinai maža, ištirti tik 32 EE sirgę pacientai.

Tolimesni biožymenų tyrimai reikalingi ligos eigos prognozės įvertinimui bei gali būti reikalingi ateityje efektyvumo stebėsenai EE gydymo tyrimuose.

### 3.12. EE Profilaktika

Preekspozicinė aktyvi imunoprofilaktika yra pats efektyviausias EE prevencijos būdas. PSO rekomenduoja skiepyti visų amžiaus grupių žmones teritorijose, kuriose EE paplitimas  $\geq 5/100\ 000$  per metus. CDC taip pat pataria vakcinuoti keliaujančius į tokias vietas balandžio – lapkričio mėnesiais ir planuojant poilsinę arba darbinę veiklą gamtoje ar miškingose vietovėse [259]. Europoje naudojamos dviejų rūšių vakcinos, sukurtos naudojant skirtingas inaktyvuotas EEV-EU padermes, tačiau vakcinacija suteikia ir kryžminę apsaugą nuo EEV-FE bei EEV-Sib sukeltų infekcijų [79]. Įprastinė pradinės vakcinacijos schema – trys dozės (pirma ir antra su vieno–trijų mėnesių intervalu, trečia – po penkių–dvylikos mėnesių). Pirmą revakcinacija atliekama po trejų metų ir tęsiama kas penkerius metus, o vyresniems nei 50 metų arba 60 metų žmonėms – kas trejus metus (priklausomai nuo naudojamos vakcinos) [260]. Kai kurių valstybių rekomendacijos gali šiek tiek skirtis – pavyzdžiui, Švedijoje naudojama keturių dozių pradinė vakcinacija žmonėms, vyresniems nei 60 metų dėl imunosenescencijos, o Šveicarijoje revakcinacija atliekama kas dešimt metų, nes vis daugėja duomenų apie ilgiau trunkančią apsaugą, nei manyta anksčiau [261,262]. Poekspozicinė imunoprofilaktika vakcinomis nėra taikoma, nes viena vakcinos dozė po erkės įsisiurbimo neprodukuoja pakankamo kiekio neutralizuojančių antikūnų ligai sustabdyti [46]. Nepaisant didžiausio sergamumo Europoje, Lietuvoje EE vakcina ilgą laiką nebuvo finansuojama valstybės lėšomis, tačiau dabar jau yra pirmą kartą įtraukta į 2024–2028 metų nacionalinę imunoprofilaktikos programą. Nuo 2024 metų rugsėjo mėnesio 1 dienos bus vakcinuojami 50–55 metų amžiaus žmonės kompensuojant pradinę trijų dozių vakcinacijos schemą ir sustiprinamąsias dozes šioje amžiaus grupėje [263].

Poekspozicinė pasyvi imunoprofilaktika specifiniu anti-EEV imunoglobulinu buvo taikoma praeityje, tačiau jau kurį laiką Europos Sąjungos šalyse nebėra naudojama dėl pranešimų apie galimai sunkesnę ligos eigą po šio preparato skyrimo bei nepatikimo efektyvumo [264–266].

## 4. TYRIMO METODIKA

### 4.1. Tyrimo etiniai aspektai

Tyrimui atlikti gautas Kauno regioninio bioetikos komiteto leidimas (protokolo numeris BE–2–45). Visi tyrimai atlikti vadovaujantis Pasaulio medicinos asociacijos etikos kodeksu eksperimentams su žmonėmis (Helsinkio deklaracija) [267]. Tiriamieji gavo asmens informavimo formą ir su ja susipažinę davė raštišką sutikimą naudoti jų duomenis moksliniais tikslais (1 priedas). Pakartotinai atvykusiems pacientams pasiūlyta finansinė kompensacija kelionės išlaidoms padengti.

### 4.2. Tiriamoji imtis

Į tyrimą įtraukti visi suaugę ( $\geq 18$  metų) pacientai, dėl EE stacionarizuoti į VšĮ Kauno klinikinės ligoninės suaugusiųjų infekcinių ligų bei reanimacijos ir intensyviosios terapijos skyrius nuo 2018 06 01 iki 2019 05 31.

Įtraukimo į tyrimą kriterijai:

- nervų sistemos pažeidimo klinikiniai požymiai,
- uždegiminiai smegenų skysčio pokyčiai (citozė  $\geq 5 \times 10^6/l$ ),
- EEV IgM ir IgG klasės antikūnai kraujyje.

Neįtraukimo į tyrimą kriterijai:

- kontraindikacijos juosmeninės punkcijos atlikimui,
- paciento atsisakymas dalyvauti tyrime,
- nepakankamas likvoro kiekis tyrimui.

### 4.3. Pacientų ištyrimas ūmios fazės metu

Anketinio klausimyno forma buvo surinkti šie pacientų duomenys:

- demografiniai duomenys (amžius, lytis, išsilavinimas, darbo padėtis),
- gyvenimo anamnezė (lėtinės somatinės ir psichinės ligos, vartojami vaistai, duomenys apie galimą imunosupresiją),
- epidemiologiniai duomenys (rizikos veiksniai užsikrėtimui EE),
- vakcinacijos nuo EE statusas,
- subjektyvūs nusiskundimai ir objektyvūs neurologiniai simptomai (2 priedas),
- skirtas gydymas gliukokortikoidais, antiepilepsiniais medikamentais.

Stacionarinio gydymo laikotarpiu pacientų būklė periodiškai vertinta trijų tyrėjų (VG, JP, AM). EE sunkumo forma nustatyta pagal iš anksto apibrėžtus

kriterijus (4.3.1 lentelė). Ligos sunkumo klasifikavimas atliktas pacientui pasiekus maksimalaus sunkumo būklę EE metu.

#### 4.3.1 lentelė. Skirtingų EE sunkumo formų apibrėžimai [4,5,7]

Lengva forma	Nustatomi tik meninginiai simptomai (karščiavimas, galvos skausmas, sprando rigidiškumas, pykinimas, vėmimas)
Vidutinio sunkumo forma	Nustatomi monofokaliniai encefalito simptomai (ataksija, disfazija, tremoras, izoliuotas galvinių nervų pažeidimas ar vidutinio laipsnio difuzinis smegenų funkcijos sutrikimas (GKS 10-14 balų))
Sunki forma	Nustatomi multifokaliniai encefalito simptomai ir/arba sunkūs difuzinio smegenų parenchimos pažeidimo požymiai (GKS $\leq 9$ b.)

Parezės dėl mielito/radikuloneurito vertintos atskirai, nepriklausomai nuo EE sunkumo formos.

### 4.4. Ligos išeičių vertinimo metodika

#### 4.4.1. Artimųjų išeičių vertinimas

EE išeitys stacionarinio gydymo pabaigoje buvo vertinamos naudojant Glazgo išeičių skalę (angl. *Glasgow Outcome Scale*, GOS) ir Rankino skalę (RS) (4.4.1.1 ir 4.4.1.2 lentelės). Kartu su šiomis skalėmis tiriamiesiems įvertinti išliekantys subjektyvūs simptomai bei objektyvūs liekamieji neurologiniai požymiai.

##### 4.4.1.1 lentelė. Glazgo išeičių skalė

1	Mirtis
2	Neurovegetacinė būklė
3	Sunkūs liekamieji reiškiniai
4	Vidutinio sunkumo liekamieji reiškiniai
5	Pasveikimas arba liekamieji reiškiniai be įtakos kasdienei veiklai

##### 4.4.1.2 lentelė. Rankino skalė

1	Nėra negalios (pacientas gali vykdyti visas įprastas veiklas)
2	Nežymi negalia (pacientas gali apsitarnauti, tačiau negali tęsti visų anksčiau vykdytų veiklų)
3	Vidutinė negalia (pacientui reikia pagalbos, tačiau gali eiti savarankiškai)
4	Vidutinė-sunki negalia (pacientas negali eiti bei apsitarnauti be pagalbos)
5	Mirtis

#### 4.4.2. Tolimųjų išeičių vertinimas

Praėjus 6 mėnesiams ir 18 mėnesių po ūmios ligos fazės, pacientų būklė pakartotinai įvertinta tų pačių tyrėjų.

Ilgalaikiai liekamieji reiškiniai buvo klasifikuojami naudojant Modifikuotą Rankino skalę (MRS) (4.4.2.1 lentelė). Taip pat buvo registruojami objektyvūs neurologiniai reiškiniai bei subjektyvūs simptomai (3 priedas).

##### 4.4.2.1 lentelė. Modifikuota Rankino skalė

0	Nėra jokių simptomų
1	Nėra negalios, nepaisant nežymių simptomų (pacientas gali vykdyti visas įprastas veiklas)
2	Nežymi negalia (pacientas gali apsitarnauti, tačiau negali tęsti visų anksčiau vykdytų veiklų)
3	Vidutinė negalia (pacientui reikia pagalbos, tačiau gali eiti savarankiškai)
4	Vidutinė-sunki negalia (pacientas negali eiti bei apsitarnauti be pagalbos)
5	Sunki negalia (prikaustytas prie lovos, reikalaujantis nuolatinės priežiūros)
6	Mirtis

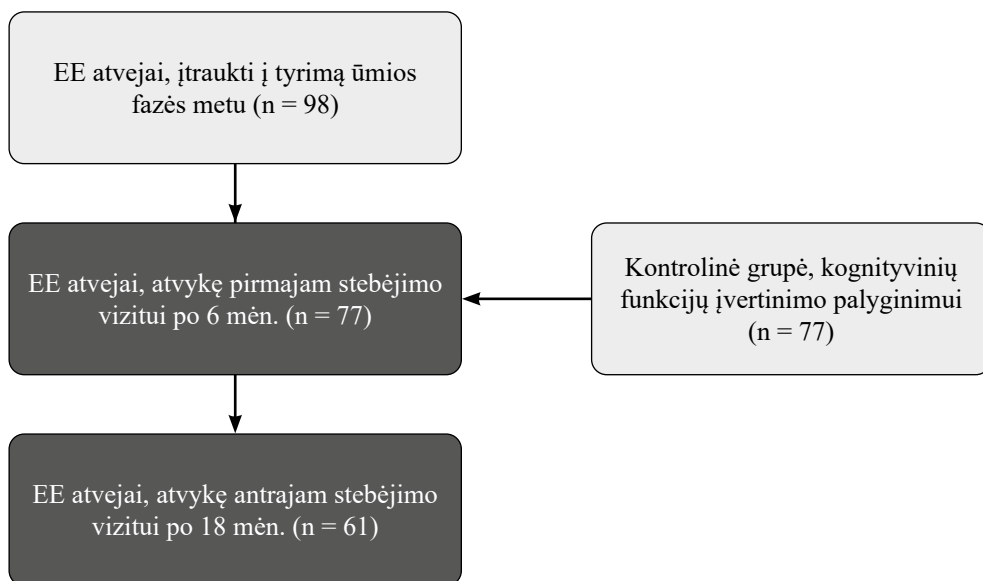
#### 4.5. EE pacientų demografinis grupavimas neurokognityvinių pasekmių įvertinimui

Siekiant išsiaiškinti, kokia reprezentatyvi kontrolinė grupė yra reikalinga, stebėjimo vizitams atvykę pacientai sugrupuoti pagal amžių, lytį bei išsilavinimą. Suformuotos septynios amžiaus grupės (18–30 metų, 31–40 metų ir t. t.) bei trys grupės pagal išsilavinimą – pacientai, turintys vidurinį arba žemesnį išsilavinimą, pacientai, įgiję spec. vidurinį/profesinį/aukštesnį išsilavinimą, bei aukštąjį išsilavinimą turintys pacientai.

#### 4.6. Kontrolinė grupė

Kiekvienai EE pacientų grupei buvo surinktos atitinkamos sveikų žmonių kontrolinės grupės, (universiteto ir ligoninės techniniai ir medicinos darbuotojai) santykiu 1:1. Šioms grupėms atlikti pažintinių funkcijų įvertinimai. Kontrolinės grupės įtraukimas tyrimo metu pavaizduotas 4.6.1 paveiksle.





**4.6.1 pav.** Ilgalaikio stebėjimo schema ir kontrolinės grupės įtraukimas tyrimo metu

#### 4.7. Pažintinių funkcijų vertinimas ilgalaikio stebėjimo vizitų metu

Pažintinės funkcijos stebėjimo vizitų metu įvertintos naudojant *Matrics Consensus Cognitive Battery (MCCB)* testų rinkinį, kuris išgytas gavus raštišką leidimą jį naudoti [268,269]. Šis testų rinkinys vertina septynias pažintinių funkcijų sritis: informacijos apdorojimo greitį, dėmesio išlaikymą/budrumą, darbinę atmintį, žodinių mokymąsi, vaizdinių mokymąsi, samprotavimą/problemų sprendimą bei socialinį pažinimą.

MCCB testų rinkinį sudaro dešimt neuropsichologinių testų (angl. *Trail Making Test, Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, The Hopkins Verbal Learning Test-Revised, Wechsler Memory Scale-III: Spatial Span, Letter-Number Span, Neuropsychological Assessment Battery®: Mazes, Brief Visuospatial Memory Test-Revised, Category Fluency: Animal Naming, Mayers-Salovey-Caruso Emotional Intelligence Test: Managing Emotions* ir *Continuous Performance Test – Identical Pairs*).

Vertinimo metu apdorojimo greičio, dėmesio išlaikymo/budrumo, darbinės atminties, žodinio mokymosi, vaizdinio mokymosi ir samprotavimo/problemų sprendimo sričių rezultatai taip pat vertinti kaip bendras neurokognityvinis balas, o kartu su socialinio pažinimo sritimi – kaip bendras kognityvinis balas.

MCCB rinkinio testai nekoreliuoja tarpusavyje bei yra tinkami pažintinių funkcijų pokyčių dinamikos vertinimui.

Kadangi testų apimtis itin didelė, o laikotarpis tarp dviejų ištyrimų pakankamai ilgas (intervalo mediana – 389 dienos), išmokimo tikimybė pakartotinio vertinimo metu nėra tikėtina.

Visų tiriamųjų kognityvinį vertinimą atliko vienas iš dviejų licencijuotų psichologų (AP, DG).

Vieno paciento vertinimas vidutiniškai truko nuo vienos iki pusantros valandos.

## **4.8. Biologinių mėginių paėmimas, saugojimas ir tyrimas**

### **4.8.1. Smegenų skysčio mėginiai**

Smegenų skysčio mėginiai buvo paimti rutiniškai atliekamos juosmeninės punkcijos metu stacionarinio gydymo laikotarpio pradžioje (0–3 diena nuo atvykimo). Tyrimams paimti 2 ml likvoro.

Visiems pacientams atlikti įprastiniai smegenų skysčio tyrimai VšĮ Kauno klinikinės ligoninės laboratorijoje: vertinta citozė bei ląstelių diferenciacija, bendro baltymo bei gliukozės kiekis, esant poreikiui gydančio gydytojo sprendimu – laktatas.

Užkoduoti mėginiai buvo užšaldyti ir laikomi nuolat monitoruojamoje –75 °C temperatūroje.

### **4.8.2. Kraujo mėginiai**

Kraujo mėginiai buvo paimti atliekant rutininį ištyrimą gydymo laikotarpio pradžioje (0–3 diena nuo atvykimo) bei išrašymo iš ligoninės metu (7–10 diena) ir abiejų stebėjimo vizitų metu (6 mėnesiai ir 18 mėnesių po ūmios ligos fazės). Paimta po 4 ml kraujo visuose tyrimo etapuose. Stacionarinio gydymo metu visiems tiriamiesiems atliktas bendrasis kraujo tyrimas ir nustatytas C reaktyvaus baltymo kiekis.

Užkoduoti mėginiai buvo centrifuguoti, o serumas užšaldytas ir laikomas nuolat monitoruojamoje –75 °C temperatūroje.

### **4.8.3. Mikrobiologinė diagnostika**

EE diagnozė buvo nustatyta radus IgM ir IgG antikūnų prieš EEV nekonkurencijos („sumuštinio“) tipo imunofermentiniu (ELISA) metodu (VIROTECH FSME/TBE, Virotech Diagnostics GmbH, Vokietija).

Praeityje nuo EE vakcinuotiems pacientams, kuriems serume nustatyti EEV IgG antikūnai, buvo atliktas intratekalinių (likvoro) EEV IgM antikūnų tyrimas. EE patvirtintas radus intratekaliai produkuotus EEV IgM.

Pacientams, kuriems pagal klinikinius požymius įtarta koinfekcija su Laimo boreliozė, papildomai atlikti Laimo boreliozės IgM ir IgG antikūnų tyrimai serume (Vidas LYM, bioMérieux, Prancūzija) ir likvoro (IDEIA Lyme Neuroborreliosis, Oxoid Ltd., Airija).

#### 4.8.4. NS pažeidimo biožymenų nustatymas

Smegenų pažeidimo biožymenų tyrimai atlikti Geteborgo Universiteto (Švedija) Infekcinių ligų klinikos laboratorijoje. Tiriama medžiaga ir tyrimo metodai nurodyti 4.8.4.1 lentelėje. Visi tyrimai atlikti kvalifikuotų laborantų vienu kartu naudojant tos pačios partijos reagentus.

##### 4.8.4.1 lentelė. Smegenų pažeidimo biožymenų nustatymo skirtingoje tiriamojoje medžiagoje metodai

Biožymenys	Tiriama medžiaga	Tyrimo metodas
<b>Neuronų pažeidimo žymenys</b>		
<i>Neurofilamentas (NFL)</i>	Smegenų skystis	Geteborgo Universiteto Infekcinių ligų klinikos laboratorijos „in-house“ ELISA metodas.
	Serumas	Vienos molekulės rinkinio ( <i>Single molecule array</i> – SiMoA) platforma bei skaitmeninė ELISA technologija (Quanterix, Billerica, Masačiusetas, JAV).
<i>Neurograninas</i>	Smegenų skystis	Geteborgo Universiteto Infekcinių ligų klinikos laboratorijos „in-house“ ELISA metodas.
<b>Neuroglijos pažeidimo žymenys</b>		
<i>Glijos fibrilinis rūgštinis baltymas (GFAP)</i>	Smegenų skystis	Geteborgo Universiteto Infekcinių ligų klinikos laboratorijos „in-house“ ELISA metodas.
	Serumas	GFAP „Discovery Kit for Simoa“ (Quanterix).
<i>S-100B</i>	Smegenų skystis	S-100B reagentų rinkinys (Roche Diagnostics, Bazelis, Šveicarija).
	Serumas	S-100B reagentų rinkinys (Roche Diagnostics, Bazelis, Šveicarija).
<i>YKL-40</i>	Smegenų skystis	ELISA metodas (R&D Systems, Mineapolis, JAV).
<b>Neurodegeneracijos žymuo (nustatomas tiek neuronuose, tiek neuroglijoje)</b>		
<i>TAU baltymas</i>	Smegenų skystis	INNOTEST ELISA (Fujirebio, Gentas, Belgija)

#### 4.8.5. Autoimuninių encefalitų antikūnų nustatymas

Atliktas šešių autoimuninių encefalitų antikūnų nustatymas: anti-NMDAR, anti-CASPR-2 (angl. *contactin-associated protein-like 2*), anti-AMPA 1/2 (*alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*), anti-LGI-1 (angl. *leucine-rich glioma inactivated-1*), anti-DPPX (angl. *dipeptidyl-peptidase-like protein 6*) bei anti-GABAR B1/B2 (angl. *gamma-aminobutyric acid*).

Tyrimai atlikti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno Klinikų Imunologijos klinikos laboratorijoje.

Antikūnai kraujo serume buvo nustatomi netiesioginės imunofluorescencijos metodu (Euroimmun, Vokietija).

Ištirti serumo mėginiai, kurie buvo paimti išrašymo iš stacionaro metu bei pirmojo stebėjimo vizito metu (praėjus 6 mėnesiams po ūmios EE fazės).

Pacientų imtis šiai tyrimo daliai sudaryta selektyviai.

Atrankos kriterijai:

- didelis kiekis ( $> 4$ ) progresuojančių arba naujai atsiradusių simptomų nuo išrašymo laikotarpio ( $n = 12$ ),
- blogi MCCB testų rinkinio įverčiai, kai bent vienos tirtos kognityvinės srities  $T \leq 30$  ( $n = 10$ ).

#### 4.9. Statistiniai metodai

Statistiniams skaičiavimams buvo naudoti IBM SPSS Statistics 22 ir R paketai. Rezultatai laikomi statistiškai reikšmingais, kai  $p < 0,05$ .

Kintamųjų pasiskirstymo pagal normalųjį skirstinį įvertinimui naudotas Shapiro-Wilk kriterijus. Normalųjį skirstinį atitinkantys kintamieji aprašyti naudojant vidurkio ir standartinio nuokrypio reikšmes, o nenormaliai pasiskirstę kintamieji – nurodant medianą bei interkvartilinį plotį arba minimalias ir maksimalias vertes.

Palyginimai tarp grupių buvo atliekami naudojant Stjudento t-testą ir ANOVA normaliai pasiskirsčiusiems kintamiesiems ir neparimetrinius Mano-Vitnio U bei Kruskalio-Voliso testus ne normaliojo skirstinio kintamiesiems. Kokybinių kintamųjų priklausomumo požymiams įvertinti naudotas  $\chi^2$  kriterijus. Kintamųjų pokyčiai laike įvertinti naudojant priklausomų imčių t-testą. Priklausomų kintamųjų efekto dydžiui įvertinti naudotas Coheno d kriterijus. Daugkartinių porinių palyginimų p reikšmės korekcijai taikyti Tukey ir Bonferroni kriterijai.

Daugybinių kintamųjų įtaka ligos sunkumo formai įvertinta taikant ranginės logistinės regresijos metodą.

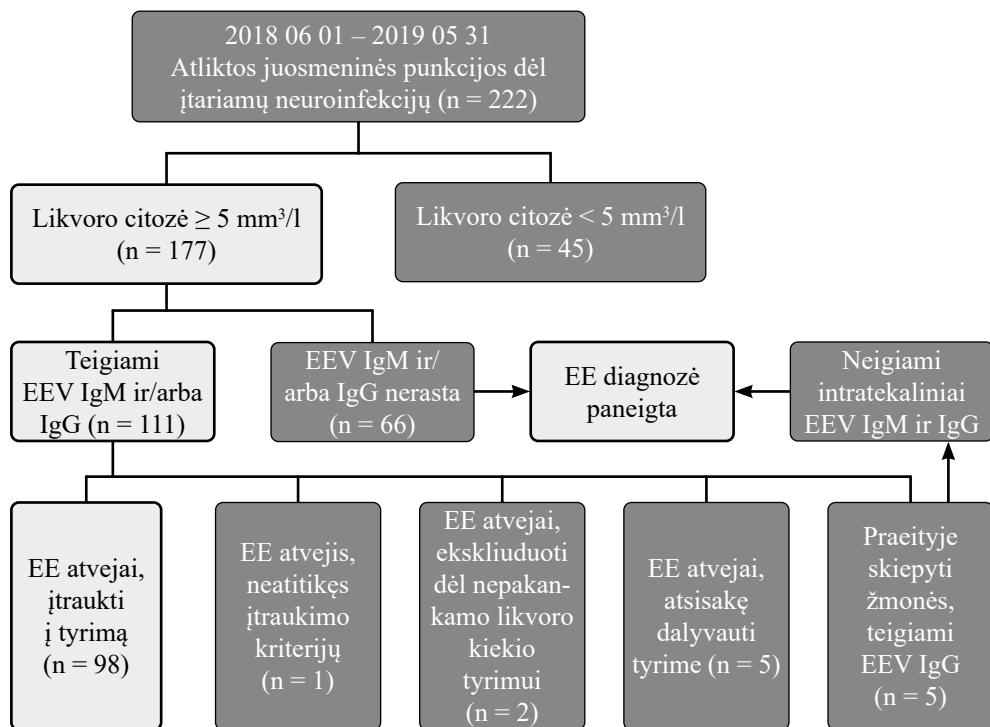
Koreliacijos įvertintos naudojant Pirsono ir Spirmeno kriterijus bei dalinės koreliacijos metodą.

Biožymenų prognostinės reikšmės skirtingo sunkumo ligos formoms bei ligos eigai prognozuoti apskaičiuotos taikant ROC (angl. *Receiver Operator Characteristic*) kreivės analizės metodą.

## 5. TYRIMO REZULTATAI

### 5.1. Tiriamųjų atranka ir įtraukimas į tyrimą

Įtraukimo į tyrimą laikotarpiu dėl įtariamų neuroinfekcijų 222 pacientams buvo atlikta juosmeninė punkcija, 177 iš jų nustatyti uždegiminiai pakitimai smegenų skystyje, todėl atliktas EEV IgM/IgG tyrimas kraujyje (5.1.1 pav.). EE diagnozuotas 106 pacientams. Aštuoni pacientai neįtraukti į tyrimą dėl įvairių priežasčių: atsisakymas dalyvauti tyrime (n = 5); nepakankamas likvoro kiekis ištyrimui (n = 2); įtraukimo kriterijų neatitikimas (n = 1). Penki pacientai buvo anksčiau vakcinuoti nuo EE ir turėjo EEV IgG klasės antikūnus, todėl šiems pacientams papildomai atliktas intratekalinių EEV IgM antikūnų tyrimas ir EE diagnozė paneigta, nenustačius šių antikūnų. Į tyrimą įtraukti 98 pacientai (5.1.1 pav.).



5.1.1 pav. Tiriamųjų atrankos ir įtraukimo eiga

### 5.2. Demografiniai ir epidemiologiniai duomenys

Pacientų demografiniai ir epidemiologiniai duomenys pateikti 5.2.1 lentelėje.

**5.2.1 lentelė. Tiriamosios imties demografiniai ir epidemiologiniai duomenys**  
(n = 98)

<b>Demografiniai duomenys</b>	<b>n (proc.)</b>
Lytis: Vyrų Moterų	59 (60,2) 39 (39,8)
Amžius (vidurkis, SN)	52,12 (SN 16,62, min. 18, maks. 86)
Darbinė veikla: Dirbantis (-i) Nedirbantis (-i), tačiau darbingo amžiaus Studentas (-ė) Pensininkas (-ė) Nežinoma	45 (45,9) 15 (15,3) 3 (3,1) 31 (31,6) 4 (4,1)
Išsilavinimas: Vidurinis arba žemesnis Spec. vidurinis/profesinis/aukštesnysis Aukštasis Nežinomas	38 (38,8) 41 (41,8) 16 (16,3) 3 (3,1)
Gretutinės ligos: Širdies ir kraujagyslių ligos Kvėpavimo sistemos ligos Inkstų ligos Cukrinis diabetas Onkologinės ligos anamnezėje Sisteminės jungiamojo audinio ligos Medikamentinė imunosupresija Lėtinių nervų sistemos ligos: <i>Parkinsono liga</i> <i>Lėtinė išeminė smegenų liga</i> <i>Radikulopatija</i> Psichiatriniai sutrikimai: <i>Depresija</i> <i>Psichozės epizodai</i> <i>Panikos sutrikimas</i> <i>Alkoholizmas</i>	42 (42,9) 4 (4,1) 2 (2) 4 (4,1) 4 (4,1) 3 (3,1) 2 (2) 4 (4,1) <i>1 (1)</i> <i>2 (2)</i> <i>1 (1)</i> 8 (8,2) <i>5 (5,1)</i> <i>1 (1)</i> <i>1 (1)</i> <i>1 (1)</i>
<b>Epidemiologiniai duomenys</b>	<b>n (proc.)</b>
Nustatyti rizikos veiksniai užsikrėsti EE Erkės įsisiurbimas Erkės įsisiurbimas + nepasterizuoto pieno produktų vartojimas Tik nepasterizuoto pieno produktų vartojimas Tik lankymasis gamtoje, miškingose vietovėse	45 (45,9) 7 (7,1) 12 (12,2) 41 (41,8)

45 pacientai (45,9 proc.) anamnezėje nurodė bent vieną lėtinę somatinę ligą, o aštuoni (8,2 proc.) – psichiatrinius sutrikimus (5.2.1 lentelė). 32 (32,7 proc.) pacientai sirgo viena lėtine liga, 11 (11,2 proc.) tiriamųjų nurodė dvi lėtines ligas, dar du (2 proc.) – tris arba daugiau lėtinių susirgimų. Visi tiriamieji buvo visiškai savarankiški iki ligos.

### 5.3. Klinikinis EE pasireiškimas ūmios fazės metu

Tiriamosios imties pasiskirstymas pagal EE eigą nurodytas 5.3.1 lentelėje.

#### 5.3.1 lentelė. Tiriamosios imties EE eigos ypatumai ( $n = 98$ )

Ligos eigos ypatumai	n (proc.)
EE eiga:	
Vienbangė	25 (25,5)
Dvibangė	71 (72,5)
Nežinoma	2 (2)
Ligos eigos laiko intervalai (mediana, min.-maks.):	
Pastebėtas erkės įsisiurbimas – pirmieji simptomai (inkubacinis periodas)	7 dienos (1–60 dienų)
Pirmasis karščiavimo laikotarpis	5 dienos (1–10 dienų)
Besimptomis periodas	7 dienos (2–30 dienų)
Erkės įsisiurbimas – neurologinių simptomų pradžia	21 diena (7–91 diena)
Sunkumo formos	
Lengva	52 (53,1)
<i>Nugaros nervų pažeidimas</i>	3 (5,8)
Vidutinio sunkumo	38 (38,8)
<i>Nugaros nervų pažeidimas</i>	5 (13,2)
Sunki	8 (8,2)
<i>Nugaros nervų pažeidimas</i>	4 (50)
Gydymas intensyvios terapijos skyriuje (ITS)	8 (8,2)
Dirbtinės plaučių ventiliacijos poreikis	3 (3,1)
Gydymo ITS trukmė (mediana, min.-maks.):	3 dienos (1–50 dienų)

Iki EE diagnozės nustatymo keturiems pacientams (4,1 proc.) buvo skirtas empirinis priešvirusinis gydymas acikloviru. Gydymas gliukokortikoidais dėl įvairių priežasčių skirtas penkiems pacientams (5,1 proc.).

Pacientai, kuriems pasireiškė vienbangė ligos eiga, dažniau sirgo vidutinio sunkumo ir sunkia EE forma ( $\chi^2 = 12,5$ , IIs = 4,  $p = 0,014$ ). Taip pat nustatytas ryšys tarp ligos sunkumo formos ir amžiaus – vyresni pacientai dažniau sirgo sunkia ligos forma (vienfaktorinė dispersinė analizė (ANOVA),  $p = 0,013$ ). Lėtinių ligų turinčių ir jų neturinčių pacientų grupėse sunkių EE formų dažnis nesiskyrė ( $\chi^2 = 4,14$ , IIs = 2,  $p = 0,126$ ). Atlikus ranginės logistinės regresijos analizę, joks demografinis ir gyvenimo anamnezės rodiklis, išskyrus amžių, neturėjo ryšio su ligos sunkumo forma (duomenų lentelė nepateikiama).

Visų objektyvių ir subjektyvių EE simptomų dažniai tarp tiriamųjų nurodyti 5.3.2 ir 5.3.3 lentelėse.



**5.3.2 lentelė.** *Objektyvūs neurologiniai simptomai tarp tiriamųjų ūmios fazės ir išrašymo iš stacionaro metu (n = 98)*

Objektyvūs neurologiniai simptomai	Ūmi fazė	Išrašymas iš stacionaro
	n (proc.)	n (proc.)
Bent vienas objektyvus simptomas	87 (88,8)	45 (45,9)
Karščiavimas	98 (100,0)	0 (0,0)
Pykinimas/vėmimas	60 (61,2)	0 (0,0)
Sprando rigidiškumas	32 (32,7)	0 (0,0)
Sąmonės sutrikimas	15 (15,3)	0 (0,0)
Tremoras	38 (38,8)	22 (22,4)
Ataksija	50 (51,0)	22 (22,4)
Jutimo sutrikimai	7 (7,1)	1 (1,0)
Nugarinių nervų pažeida	12 (12,2)	12 (12,2)
<i>Monoparezė</i>	8 (8,2)	8 (8,2)
<i>Paraparezė</i>	2 (2,0)	2 (2,0)
<i>Tetraparezė</i>	1 (1,0)	1 (1,0)
<i>Erektilinė disfunkcija</i>	1 (1,0)	1 (1,0)
Galvinių nervų pažeida	12 (12,2)	8 (8,2)
<i>N. oculomotorius</i>	5 (5,1)	2 (2,0)
<i>N. vestibulocochlearis</i>	4 (4,1)	4 (4,1)
<i>N. facialis</i>	2 (2,0)	1 (1,0)
<i>N. hypoglossus</i>	1 (1,0)	1 (1,0)
Smegenėlių pažeidimo sindromas	24 (24,5)	5 (5,1)
Disfazija	7 (7,1)	4 (4,1)
Centrinio tipo parėzė	0 (0,0)	0 (0,0)
Bulbarinis sindromas	1 (1,0)	1 (1,0)
Šlapimo pūslės disfunkcija	2 (2,0)	2 (2,0)

Galvinių bei nugarinių nervų pažeida nuo ligos eigos (vienbangė/dvibangė) nepriklausė ( $p = 0,631$  ir  $p = 0,187$  atitinkamai). Bulbarinė simptomatika nustatyta vienam imunosupresyviam tiriamajam (gydytam rituksimabu). Nė vienam pacientui iš aštuonių tirtų nenustatyta koinfekcija su neuroborelioze.

**5.3.3 lentelė.** *Subjektyvūs simptomai tarp tiriamųjų ūmios fazės ir išrašymo iš stacionaro metu (n = 98)*

Subjektyvūs simptomai	Ūmi fazė	Išrašymas iš stacionaro
	n (proc.)	n (proc.)
Bent vienas subjektyvus simptomas	98 (100,0)	60 (61,2)
Disgezekutyvinis sindromas	16 (16,3)	3 (3,1)
Atminties sutrikimai	12 (12,2)	6 (6,1)
Galvos skausmai	93 (94,9)	26 (26,5)
Sumažėjusi dėmesio koncentracija	29 (29,6)	14 (14,3)
Elgesio sutrikimai	7 (7,1)	2 (2,0)

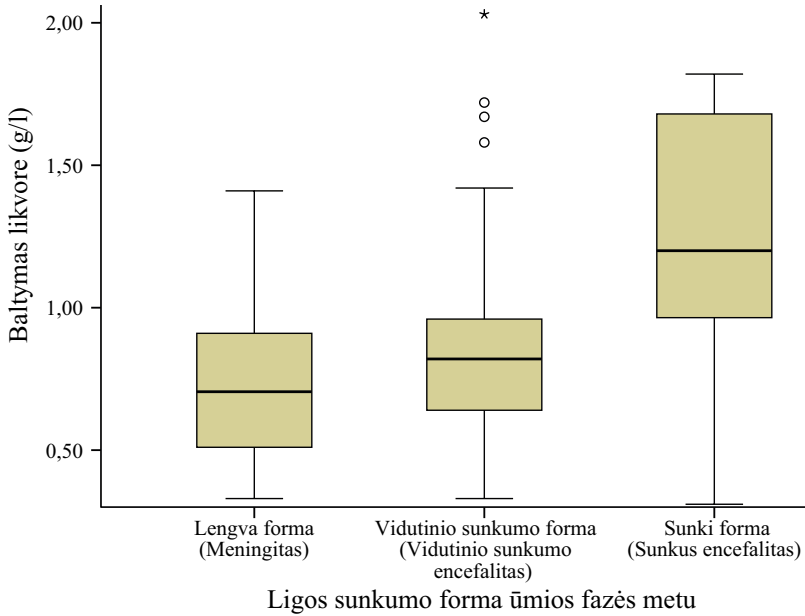
## 5.4. Likvoro tyrimai

Įprastai atliekamų smegenų skysčio tyrimų rezultatai ir pasiskirstymas tarp skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupių nurodytas 5.4.1 lentelėje.

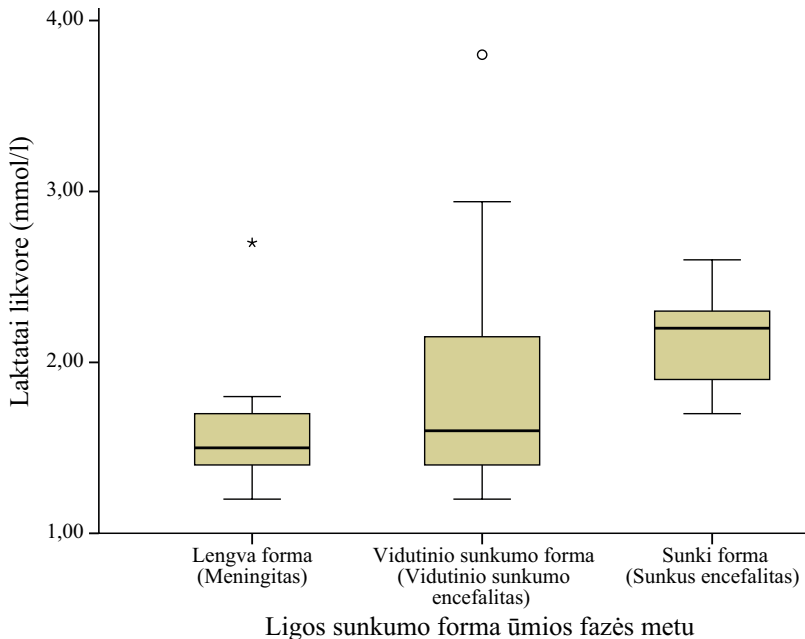
**5.4.1 lentelė.** *Rutininių likvoro tyrimų rezultatų skirstinys tarp skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų*

Analitė	Visa imtis (n = 98)	Lengva forma (n = 52)	Vidutinio sunkumo forma (n = 38)	Sunki forma (n = 8)	p reikšmė
Likvoro citozė	67×10 <sup>6</sup> /l (IQR 33– 125,75)	57×10 <sup>6</sup> /l (IQR 29,25– 109,25)	80×10 <sup>6</sup> /l (IQR 37– 151,1)	56×10 <sup>6</sup> /l (IQR 28,75– 86,75)	0,174
Neutrofilai likvore	18 proc. (IQR 8– 33,3)	18 proc. (IQR 11– 33,3)	21 proc. (IQR 5,35– 33)	18 proc. (IQR 12– 62)	0,624
Limfocitai likvore	82 proc. (IQR 66–92)	82 proc. (IQR 64–89)	78 proc. (IQR 67–94,65)	82 proc. (IQR 38–88)	0,554
Bendras baltymas likvore	0,77 g/l (IQR 0,548– 0,963)	0,705 g/l (IQR 0,505– 0,915)	0,82 g/l (IQR 0,638–0,978)	1,2 g/l (IQR 0,963– 1,735)	<b>0,006</b>
Laktatas likvore (n = 50)	1,6 mmol/l (IQR 1,4– 1,83)	1,5 mmol/l (IQR 1,4– 1,75)	1,6 mmol/l (IQR 1,4– 2,2)	2,2 mmol/l (IQR 1,85– 2,375)	<b>0,011</b>

Nustatytas ryšys tarp bendrojo baltymo kiekio bei laktato kiekio likvore ir ligos sunkumo formos (5.4.1 ir 5.4.2 pav.)



**5.4.1 pav.** Likvoro bendrojo baltymo pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,006$ ).



**5.4.2 pav.** Likvoro laktato pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $n = 50$ ,  $p = 0,011$ ).

## 5.5. Kraujo tyrimai

Įprastai atliekamų kraujo tyrimų rezultatai ir pasiskirstymas tarp skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupių nurodytas 5.5.1 lentelėje.

### 5.5.1 lentelė. Rutininių kraujo tyrimų rezultatų skirstinys tarp skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų

Analitė	Visa imtis (n = 98)	Lengva forma (n = 52)	Vidutinio sunkumo forma (n = 38)	Sunki forma (n = 8)	p reikšmė
CRB	5,65 mg/l (IQR 0,58– 15,7)	5,8 mg/l (IQR 0,1– 14,3)	4,8 mg/l (IQR 1,0– 19,15)	15,3 mg/l (IQR 1,128– 36,725)	0,476
Leukocitai kraujyje	10,4×10 <sup>9</sup> /l (IQR 8,1– 11,9)	10,4×10 <sup>9</sup> /l (IQR 8,123– 11,9)	10,6×10 <sup>9</sup> /l (IQR 8,4– 13,2)	9,5×10 <sup>9</sup> /l (IQR 7,8– 11,275)	0,468
Neutrofilai kraujyje	7,77×10 <sup>9</sup> /l (IQR 5,98– 9,57)	7,56×10 <sup>9</sup> /l (IQR 5,99– 9,4)	8,23×10 <sup>9</sup> /l (IQR 5,94– 10,07)	7,24×10 <sup>9</sup> /l (IQR 6,16– 8,65)	0,551
Limfocitai kraujyje	1,67×10 <sup>9</sup> /l (IQR 1,14–2,14)	1,77×10 <sup>9</sup> /l (IQR 1,21–2,18)	1,6×10 <sup>9</sup> /l (IQR 1,08–2,22)	1,17×10 <sup>9</sup> /l (IQR 0,9–1,67)	0,077

Reikšmingų sąsajų tarp tiriamųjų kraujo tyrimų ir ligos sunkumo formų nenustatyta.

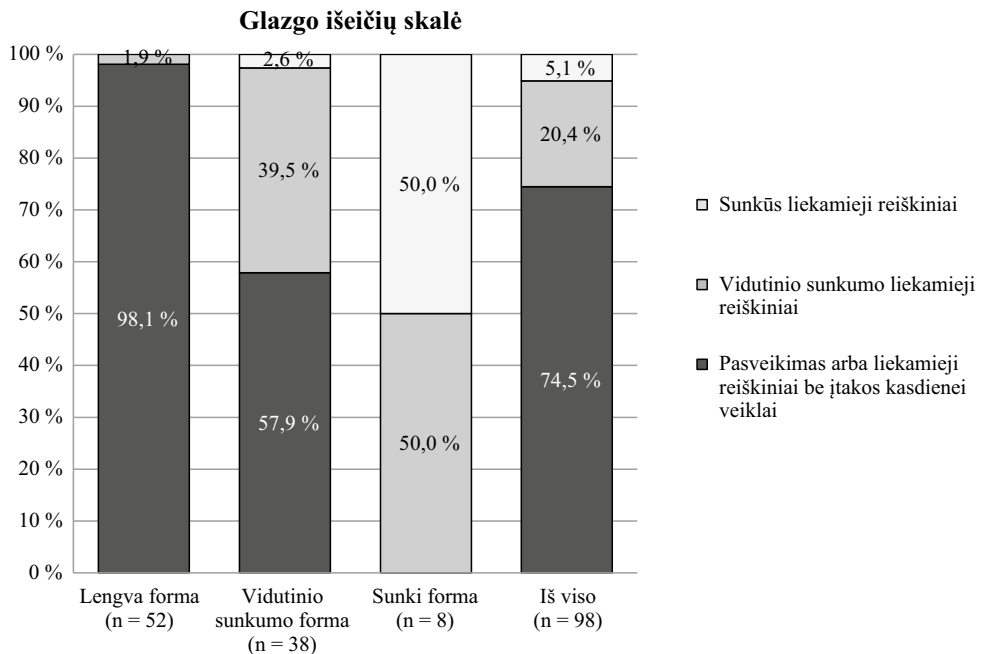
## 5.6. Tiriamųjų būklė išrašant iš stacionaro

Stacionarinio gydymo trukmės mediana buvo 9 dienos (min. 3 dienos, maks. 69 dienos). Nė vienas pacientas nemirė ūmios ligos fazės metu.

56,1 proc. pacientų (n = 55) iš ligoninės išrašyti namo, tuo tarpu 40,8 proc. atvejų (n = 40) reikėjo ambulatorinės (n = 11) arba stacionarinės (n = 29) reabilitacijos.

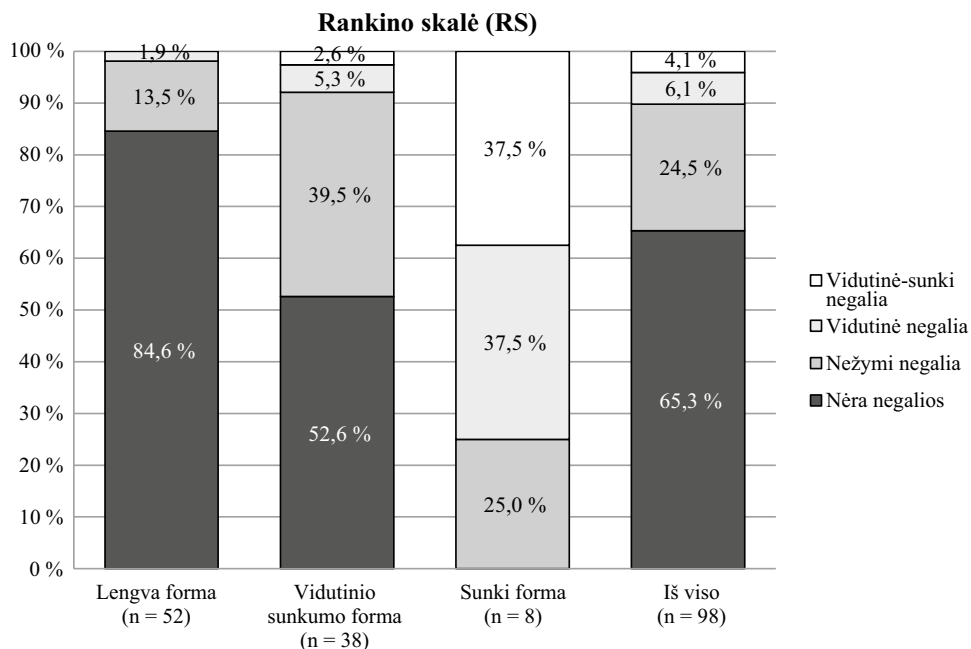
Vertinimas ir sprendimas dėl reabilitacijos poreikio atliktas fizinės medicinos ir reabilitacijos gydytojų pagal įprastus gydymo įstaigos standartus.

Išrašymo metu 5,1 proc. pacientų (n = 5) įvertinti kaip turintys sunkių liekamųjų reiškinių pagal Glazgo išėičių skalę (angl. *Glasgow Outcome Scale, GOS*), 20,4 proc. (n = 20) išliko su vidutinio sunkumo liekamaisiais reiškiniais. Kiti įvertinti kaip visiškai pasveikę arba su liekamaisiais reiškiniais, nedarančiais įtakos kasdinei veiklai. Glazgo išėičių skalės rezultatai vidutiniškai stipriai koreliavo su ligos sunkumo forma (Spirmeno  $r = 0,522$ ,  $p < 0,001$ ; 5.6.1 pav.).



**5.6.1 pav.** Glazgo išeičių skalės įverčiai skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse

Rankino skalėje (angl. *Rankin Scale, RS*) 4,1 proc. tiriamųjų ( $n = 4$ ) klasifikuoti kaip turintys vidutinę-sunkią negalią, 6,1 proc. ( $n = 6$ ) – vidutinę negalią, o 24,5 proc. ( $n = 24$ ) – nežymią negalią. Rankino skalės rezultatai vidutiniškai stipriai koreliavo su ligos sunkumo forma (Spirmeno  $r = -0,651$ ,  $p < 0,001$ ; 5.6.2 pav.).



**5.6.2 pav. Rankino skalės įverčiai skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse**

Išrašymo iš ligoninės metu 45,9 proc. pacientų (n = 45) nustatyti įvairūs objektyvūs neurologiniai simptomai, dažniausi iš jų – ataksija (22,4 proc., n = 22) ir tremoras (22,4 proc., n = 22). Visiems pacientams, kuriems nustatyta nugarinių nervų pažeida (12,2 proc., n = 12), funkcijos sutrikimas išliko išrašymo metu (5.3.2 lentelė). Galvinių nervų pažeida išrašant išliko aštuoniems pacientams (8,2 proc.). 77,8 proc. pacientų su objektyviais neurologiniais liekamaisiais reiškiniais (n = 35) taip pat nurodė turintys įvairių subjektyvių nusiskundimų.

25,5 proc. (n = 25) tiriamųjų išrašymo metu nurodė tik subjektyvius simptomus. Be nespecifinių nusiskundimų, tokių kaip bendras silpnumas ir astenizacija, tiriamieji dažniausiai nurodė išliekantį galvos skausmą (26,5 proc., n = 26) bei dėmesio/koncentracijos sumažėjimą (14,3 proc., n = 14) (5.3.3 lentelė). Nenustatyta sąsajų tarp ligos eigos (vienbangė/dvibangė) ir objektyvių bei subjektyvių simptomų išrašymo iš ligoninės metu (p = 0,253 ir p = 0,348 atitinkamai).

**5.7. Ilgalaikiai liekamieji reiškiniai**

77 pacientai (78,6 proc.) atvyko pirmojo stebėjimo vizito 154 dienos (mediana, min. 87, maks. 299 dienos) po išrašymo iš stacionaro.

61 pacientas (62,2 proc.) sugrįžo antrojo stebėjimo vizito po 541 dienos (mediana, min. 453, maks. 765 dienos) po išrašymo.

Visi pacientai, kuriems nustatytas sunkus EE, sugrįžo pakartotinių vizitų, tačiau reikšmingo skirtumo tarp sugrįžusių ir nesugrįžusių pacientų grupių nebuvo nei vertinant EE sunkumą ūmioje fazėje ( $\chi^2 = 2,72$ , IIs = 2,  $p = 0,256$ , 5.7.1 lentelė), nei išliekančius neurologinius simptomus išrašymo metu ( $\chi^2 = 0,66$ , IIs = 1,  $p = 0,417$ ), subjektyvius simptomus ( $\chi^2 = 0,88$ , IIs = 1,  $p = 0,348$ ), Glazgo išeičių skalės įverčius ( $\chi^2 = 0,191$ , IIs = 2,  $p = 0,909$ ) ar Rankino skalės rezultatus ( $\chi^2 = 0,124$ , IIs = 3,  $p = 0,989$ ). Pakartotinai atvykusių tiriamųjų amžius taip pat nesiskyrė nuo tų, kurie neatvyko (nepriklausomų imčių t-testas,  $p = 0,664$ ), tačiau pacientų išsilavinimas turėjo ryšį su sprendimu atvykti pakartotinai ( $\chi^2 = 6,64$ , IIs = 2,  $p = 0,036$ ).

### 5.7.1 lentelė. Pacientų pasiskirstymas pagal ligos formas ūmios fazės bei pakartotinių vizitų metu

Ligos sunkumo forma	EE pacientai (Pilna imtis) n = 98	EE pacientai (Pirmas stebėjimo vizitas) n = 77	EE pacientai (Antras stebėjimo vizitas) n = 61
Lengva	52 (53,0 proc.)	41 (53,2 proc.)	31 (50,8 proc.)
Vidutinė	38 (38,8 proc.)	28 (36,4 proc.)	22 (36,1 proc.)
Sunki	8 (8,2 proc.)	8 (10,4 proc.)	8 (13,1 proc.)

## 5.7.1. Liekamieji reiškiniai po 6 mėnesių

### 5.7.1.1. Objektyvūs neurologiniai liekamieji reiškiniai

36,4 proc. pacientų ( $n = 28$ ) nustatyti išliekantys objektyvūs neurologiniai liekamieji reiškiniai, dažniausiai – tremoras (23,4 proc.,  $n = 18$ ) ir galūnių ataksija (11,7 proc.,  $n = 9$ ). Tremoras išliko 47,4 proc., o ataksija – 18 proc. visų tiriamųjų su šiais simptomais ūmioje fazėje. Aštuoniems pacientams (10,4 proc.) išliko nugarinių nervų pažeidimo požymiai, o tai sudarė 66,7 proc. visų buvusių ūmios fazės metu. Galvinių nervų pažeidimo požymiai išliko penkiems pacientams (6,5 proc. atvykusių pirmojo pakartotinio vizito, 41,7 proc. visų nustatytų atvejų ūmios fazės metu). 10,4 proc. tiriamųjų ( $n = 8$ ) konstatuoti įvairūs jutimo sutrikimai (parestezijos, hiperalgezija). Dviem pacientams nustatyti centrinės kilmės paralizės požymiai, kurių nebuvo nustatyta ūmios ligos fazės metu. Papildomai atlikti vaizdiniai galvos smegenų tyrimai nustatė buvusio intrakranijinio kraujavimo požymių arba hemosiderino depozitų, tačiau EE įtaka šiems radiniams nėra aiški, nors abu pacientai sirgo sunkia EE forma. Šių ir kitų objektyvių liekamųjų reiškinų dažniai nurodyti 5.7.1.1.1 lentelėje. Visi objektyvius požymius turėję pacientai taip pat skundėsi ir subjektyviais simptomais.

Sunkia ir vidutinio sunkumo EE forma sirgę pacientai statistiškai reikšmingai dažniau turėjo išliekančių objektyvių neurologinių simptomų ( $\chi^2 = 20,99$ , IIs = 2,  $p < 0,001$ ). Specifiškai šį ryšį turėjo išliekanti ataksija ( $\chi^2 = 7,19$ , IIs = 2,  $p = 0,027$ ), smegenėlių pažeidimo sindromas ( $\chi^2 = 7,38$ , IIs = 2,  $p = 0,025$ ) bei jutimo sutrikimai ( $\chi^2 = 7,05$ , IIs = 2,  $p = 0,029$ ).

**5.7.1.1.1 lentelė.** Išliekantys objektyvūs neurologiniai simptomai stebėjimo vizitų metu. Palyginimui su ūmia ligos faze ir išrašymo laikotarpiu žr. 5.3.2 lentelę

Objektyvūs neurologiniai simptomai	Pirmasis stebėjimo vizitas (n = 77)	Antrasis stebėjimo vizitas (n = 61)
	n (proc.)	n (proc.)
Bent vienas objektyvus simptomas	28 (36,4)	24 (39,3)
Karščiavimas	0 (0,0)	0 (0,0)
Pykinimas/vėmimas	0 (0,0)	0 (0,0)
Sprando rigidiškumas	0 (0,0)	0 (0,0)
Sąmonės sutrikimas	0 (0,0)	0 (0,0)
Tremoras	18 (23,4)	18 (29,5)
Ataksija	9 (11,7)	6 (9,8)
Jutimo sutrikimai	8 (10,4)	6 (9,8)
Nugarinių nervų pažeida	8 (10,4)	7 (11,5)
Galvinių nervų pažeida	5 (6,5)	4 (6,6)
<i>N. oculomotorius</i>	1 (1,3)	0 (0,0)
<i>N. vestibulocochlearis</i>	4 (5,2)	4 (6,6)
<i>N. facialis</i>	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>N. hypoglossus</i>	0 (0,0)	0 (0,0)
Smegenėlių pažeidimo sindromas	4 (5,2)	3 (4,9)
Disfazija	2 (2,6)	1 (1,6)
Centrinio tipo parėzė	2 (2,6)	2 (3,3)
Bulbarinis sindromas	1 (1,3)	1 (1,6)
Šlapimo pūslės disfunkcija	1 (1,3)	2 (3,3)
Lytinė disfunkcija	3 (3,9)	3 (4,9)

### 5.7.1.2. Subjektyvūs simptomai

36,4 proc. (n = 28) tiriamųjų nurodė tik subjektyvius simptomus, dažniausiai suprastėjusią atmintį (42,9 proc., n = 33), padidėjusį dirglumą (36,4 proc., n = 28), galvos skausmus (36,4 proc., n = 28: 60,7 proc. protarpinius (n = 17), 32,1 proc. (n = 9) dažniau nei 15 dienų per mėnesį, o 7,1 proc. (n = 2) – nuolatinius) bei miego sutrikimus (32,5 proc., n = 25). Ligos sunkumo forma ūmios fazės metu taip pat turėjo ryšį su išliekančiais bet kokiais subjektyviais simptomais ( $\chi^2 = 7,11$ , IIs = 2,  $p = 0,029$ ), specifiškai – su atminties sutrikimais ( $\chi^2 = 10,19$ , IIs = 2,  $p = 0,006$ ). Visų subjektyvių simptomų dažniai nurodyti 5.7.1.2.1 lentelėje.

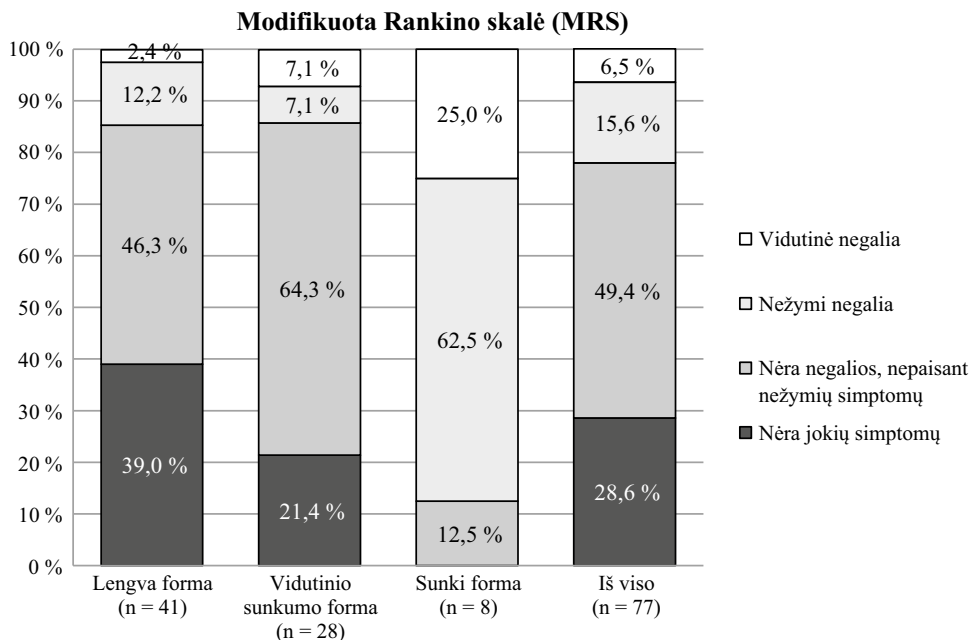


**5.7.1.2.1 lentelė.** Išliekantys subjektyvūs simptomai stebėjimo vizitų metu. Palyginimui su ūmia ligos faze ir išrašymo laikotarpiu žr. 5.3.3 lentelę

Subjektyvūs simptomai	Pirmasis stebėjimo vizitas (n = 77)	Antrasis stebėjimo vizitas (n = 61)
	n (proc.)	n (proc.)
Bent vienas subjektyvus simptomas	56 (72,7)	41 (67,2)
Disegzekutyvinis sindromas	0 (0,0)	0 (0,0)
Atminties sutrikimai	33 (42,9)	26 (42,6)
Padidėjęs irzlumas	28 (36,4)	18 (29,5)
Galvos skausmai	28 (36,4)	18 (29,5)
Miego sutrikimai	25 (32,5)	24 (39,3)
Sumažėjusi koncentracija	23 (29,9)	15 (24,6)
Sumažėjęs streso toleravimas	19 (24,7)	11 (18,0)
Emocinis nestabilumas	15 (19,5)	7 (11,5)
Elgesio sutrikimai	1 (1,3)	0 (0,0)

**5.7.1.3. Negalios vertinimas naudojant MRS skalę**

Vertinant pagal Modifikuotą Rankino skalę (MRS), 6,5 proc. (n = 5) pacientų nustatyta vidutinio sunkumo negalia, o 15,6 proc. (n = 12) – nežymi negalia. MRS skalės rezultatai statistiškai reikšmingai vidutiniškai stipriai koreliavo su ligos sunkumo forma ūmios fazės metu (Spirmeno  $r = 0,362$ ,  $p < 0,001$ ) (5.7.1.3.1 pav.).



**5.7.1.3.1 pav.** Modifikuotos Rankino skalės įverčiai po 6 mėn. skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse

## 5.7.2. Liekamieji reiškiniai po 18 mėnesių

### 5.7.2.1. Objektyvūs neurologiniai liekamieji reiškiniai

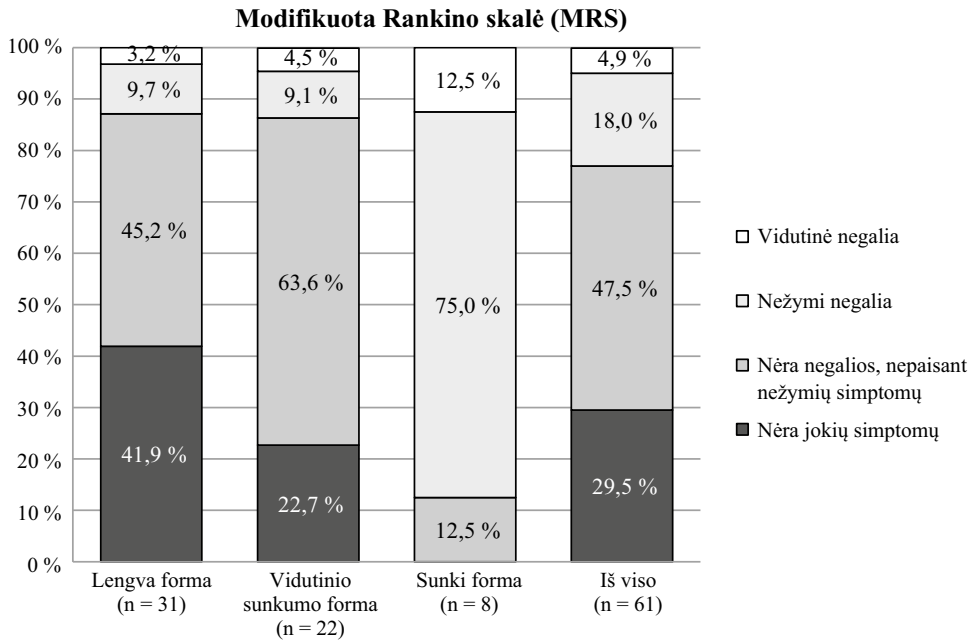
Po 18 mėnesių 39,3 proc. (n = 24) pacientų buvo stebimi objektyvūs neurologiniai simptomai, dažniausiai – tremoras (29,5 proc., n = 18) ir nugarinių nervų pažeidimas (11,5 proc., n = 7). Tremoras išliko 47,4 proc., o nugarinių nervų pažeidimas – 58,3 proc. visų tiriamųjų su šiais simptomais ūmioje fazėje. Įvairūs jutimo sutrikimai bei ataksija nustatyti šešiams pacientams (9,8 proc.). Ataksija išliko 12 proc. pacientų, kuriems ji buvo nustatyta ligos pradžioje. Galvinių nervų pažeidimo požymiai persistavo keturiems pacientams (6,6 proc. atvykusių antrajam pakartotiniam vizitui, 33,3 proc. visų nustatytų atvejų ūmios fazės metu); visiems šiems pacientams išliko *n. vestibulocochlearis* pažeidimas. Šių ir kitų objektyvių liekamųjų reiškinų dažniai nurodyti 5.7.1.1.1 lentelėje. Išlikusių objektyvių neurologinių simptomų dažnis turėjo reikšmingą ryšį su ligos sunkumo forma ūmios EE fazės metu ( $\chi^2 = 17,89$ , lls = 2, p < 0,001). Vertinant skirtingus simptomus atskirai – šis ryšys nustatytas tik su išliekančia ataksija ( $\chi^2 = 7,99$ , lls = 2, p = 0,018).

### 5.7.2.2. Subjektyvūs simptomai

67,2 proc. (n = 41) tiriamųjų nurodė subjektyvius simptomus, dažniausiai – atminties problemas (42,6 proc., n = 26), miego sutrikimus (39,3 proc., n = 24), padidėjusį irzlumą (29,5 proc., n = 18) ir galvos skausmus (29,5 proc., n = 18). 5,6 proc. išliko galvos skausmai, varginantys dažniau nei 15 dienų per mėnesį (n = 1), dar 5,6 proc. – nuolatiniai skausmai (n = 1). Išliekantys subjektyvūs simptomai turėjo reikšmingą ryšį su EE sunkumo forma ūmios fazės metu ( $\chi^2 = 6,36$ , lls = 2, p = 0,042). Tariant šiuos simptomus atskirai, nustatytas ryšys su išliekančiais atminies sutrikimais ( $\chi^2 = 6,26$ , lls = 2, p = 0,044). Visų subjektyvių simptomų dažniai nurodyti 5.7.1.2.1 lentelėje.

### 5.7.2.3. Negalios vertinimas naudojant MRS skalę

Vertinant ilgalaikes pasekmes MRS, 4,9 proc. (n = 3) pacientų nustatyta vidutinio sunkumo negalia, 18 proc. (n = 11) – nežymi negalia. MRS rezultatai vidutiniškai stipriai koreliavo su EE sunkumo forma ūmios fazės metu (Spirmeno r = 0,415, p < 0,001) (5.7.2.3.1 pav.).



**5.7.2.3.1 pav.** Modifikuotos Rankino skalės įverčiai po 18 mėn. skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse

## 5.8. Neurokognityvinių funkcijų įvertinimas naudojant MCCB testų rinkinį

Išsamus pažintinių funkcijų vertinimas naudojant MCCB testų bateriją atliktas 77 pacientams, kurie atvyko pirmojo stebėjimo vizito. Pirmojo vizito metu visi pacientai iki galo įvykdė užduotis, skirtas įvertinti apdorojimo greičio, darbinės atminties, vaizdinio mokymosi ir samprotavimo/problemų sprendimo sritis. 2 pacientai (2,6 proc.) iki galo neužbaigė žodinio mokymosi užduočių, 9 (11,7 proc.) – socialinio pažinimo užduočių, o 12 (15,6 proc.) – testų, susijusių su budrumu/dėmesio išlaikymu. Dėl šios priežasties bendras neurokognityvinis balas galėjo būti apskaičiuotas tik 63 tiriamiesiems, o bendras kognityvinis balas – 59 tiriamiesiems.

Pakartotinis vertinimas atliktas 61 iš jų, kurie atvyko antrojo stebėjimo vizito. Antrojo vizito metu visi pacientai visiškai įvykdė apdorojimo greičio testus, 1 tiriamasis (1,6 proc.) neužbaigė kelių sričių užduočių – darbinės atminties, vaizdinio mokymosi, žodinio mokymosi ir samprotavimo/problemų sprendimo. 5 pacientai (8,2 proc.) neužbaigė socialinio pažinimo testų, o 10 (16,4 proc.) – budrumo/dėmesio išlaikymo užduočių. Bendras neurokognityvinis balas apskaičiuotas 50 tiriamųjų, o bendras kognityvinis balas – 48 tiriamiesiems.

Pažintinių funkcijų įverčių rezultatai buvo pasiskirstę pagal normalųjį (Gauso) skirstinį.

Stebėjimo vizitų atvykusių pacientų pasiskirstymas pagal amžiaus grupes, lytį ir išsilavinimą nurodytas 5.8.1 lentelėje.

Tyrimų rezultatai buvo palyginti su santykiu 1:1 sudaryta kontroline grupe. Ją sudarė sveiki savanoriai, nesergantys lėtinėmis neurologinėmis, psichiatrinėmis ligomis, praeityje nesirgę neuroinfekcijomis, ši grupė suskirstyta pagal amžiaus grupes ir išsilavinimą (5.8.1 lentelė).

**5.8.1 lentelė.** *Tiriamųjų ir kontrolinės grupės pasiskirstymas pagal demografinius duomenis*

<b>Demografiniai duomenys</b>	<b>EE pacientai (Pilna imtis) n = 98</b>	<b>EE pacientai (Pirmas stebėjimo vizitas) n = 77</b>	<b>EE pacientai (Antras stebėjimo vizitas) n = 61</b>	<b>Kontrolinė grupė n = 77</b>
Amžius (vidurkis (SN), metai)	52,12 (16,62)	52,51 (15,62)	54,28 (15,55)	51,53 (15,56)
Pasiskirstymas pagal amžių (n, proc.)				
18–30 metų	12 (12,2 proc.)	7 (9,1 proc.)	4 (6,6 proc.)	7 (9,1 proc.)
31–40 metų	12 (12,2 proc.)	11 (14,3 proc.)	8 (13,1 proc.)	11 (14,3 proc.)
41–50 metų	18 (18,4 proc.)	13 (16,9 proc.)	10 (16,4 proc.)	13 (16,9 proc.)
51–60 metų	25 (25,5 proc.)	22 (28,6 proc.)	17 (27,9 proc.)	22 (28,6 proc.)
61–70 metų	18 (18,4 proc.)	14 (18,2 proc.)	12 (19,7 proc.)	14 (18,2 proc.)
71–80 metų	11 (11,2 proc.)	9 (11,7 proc.)	9 (14,8 proc.)	9 (11,7 proc.)
81–90 metų	2 (2,0 proc.)	1 (1,3 proc.)	1 (1,6 proc.)	1 (1,3 proc.)
Pasiskirstymas pagal lytį (n, proc.)				
Vyrai	59 (60,2 proc.)	46 (59,7 proc.)	36 (59,0 proc.)	46 (59,7 proc.)
Moterys	39 (39,8 proc.)	31 (40,3 proc.)	25 (41,0 proc.)	31 (40,3 proc.)
Pasiskirstymas pagal išsilavinimą (n, proc.)				
Vidurinis arba žemesnis	38 (38,8 proc.)	26 (33,8 proc.)	20 (32,8 proc.)	26 (33,8 proc.)
Spec. vidurinis/profesinis/aukštesnysis	41 (41,8 proc.)	37 (48,0 proc.)	28 (45,9 proc.)	37 (48,0 proc.)
Aukštasis	16 (16,3 proc.)	14 (18,2 proc.)	13 (21,3 proc.)	14 (18,2 proc.)
Nežinomas	3 (3,1 proc.)	-	-	-

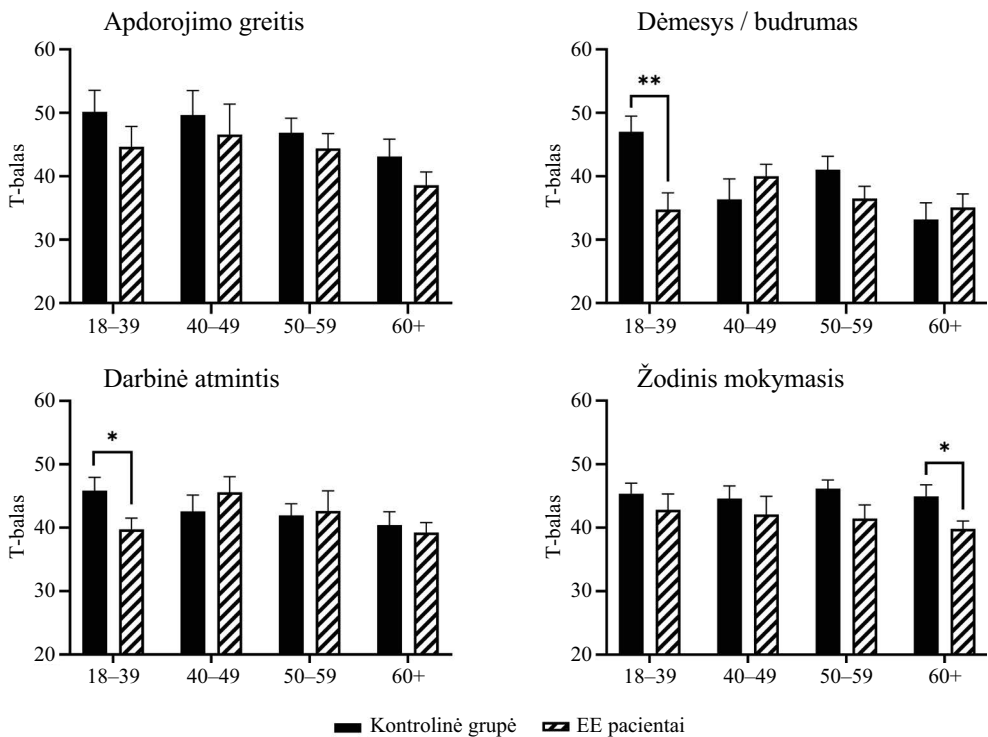
Pirmojo stebėjimo vizito metu EE sirgę tiriamieji statistiškai reikšmingai prasčiau atliko užduotis, susijusias su apdorojimo greičiu, žodiniu mokymusi ir vaizdiniu mokymusi. Panaši tendencija stebėta ir budrumo/dėmesio išlaikymo srityje, tačiau skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas (5.8.2 lentelė). Nebuvo nustatyta reikšmingų skirtumų tarp skirtingų lyčių.

**5.8.2 lentelė. Pažintinių funkcijų tyrimų rezultatų palyginimas tarp EE pacientų ir sveikų žmonių kontrolinės grupės 6 mėn. ir 18 mėn. po ūmios ligos fazės. Stjudento t-testo rezultatai**

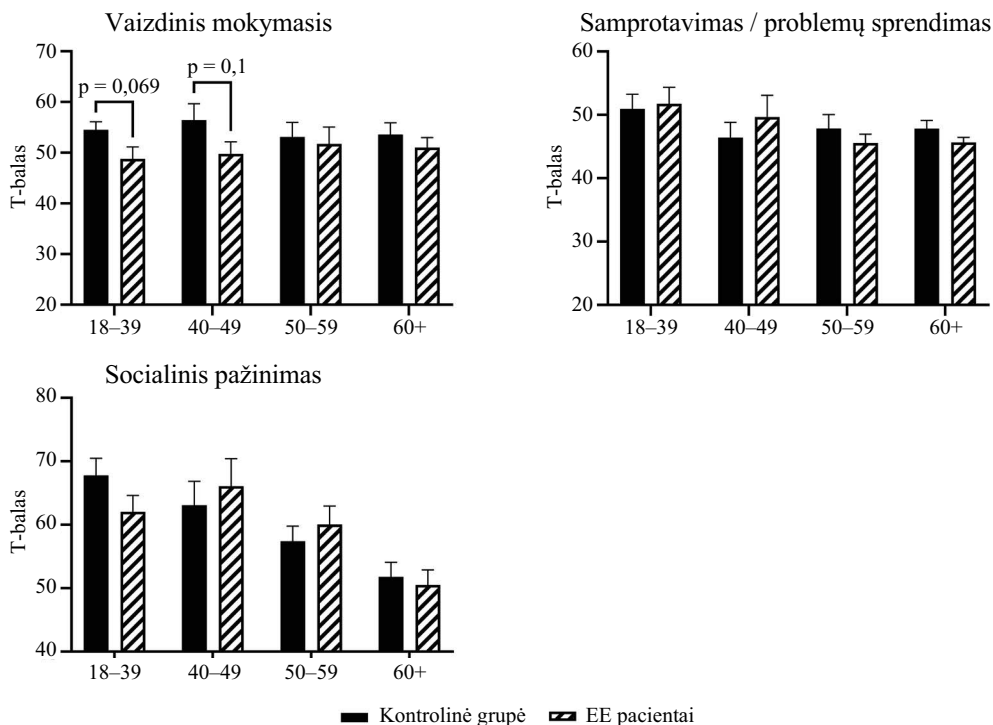
Pažintinių funkcijų sritis	M				Statistika				
	M	SN	M	SN	t	Ils	p	Coheno d	
	Pirmasis pakartotinis vizitas (6 mėn. po ūmios fazės)								
<b>a)</b>	<b>EE pacientai (n = 77)</b>				<b>Kontrolinė grupė (n = 77)</b>				
	Apdorojimo greitis	42,52	12,65	46,81	13,21	-2,06	152	<b>0,041</b>	-0,33
	Budrumas/dėmesys	36,23	9,09	39,45	12,06	-1,80	137	0,074	-0,30
	Darbinė atmintis	41,14	9,76	42,44	9,49	-0,84	152	0,404	-0,14
	Žodinis mokymasis	41,23	8,47	45,30	7,59	-3,12	150	<b>0,002</b>	-0,51
	Vaizdinis mokymasis	50,49	10,97	54,12	10,97	-2,05	152	<b>0,042</b>	-0,33
	Samprotavimas / problemų sprendimas	47,61	8,10	48,34	8,68	-0,54	152	0,592	-0,09
	Socialinis pažinimas	57,76	13,01	58,82	13,02	-0,49	143	0,627	-0,08
	Neurokognityvinis balas	39,86	11,15	43,61	11,43	-1,95	138	0,053	-0,33
	Bendras kognityvinis balas	43,25	11,64	46,00	11,87	-1,35	134	0,180	-0,23
<b>b)</b>	<b>Antrasis pakartotinis vizitas (18 mėn. po ūmios fazės)</b>								
	<b>EE pacientai (n = 61)</b>				<b>Kontrolinė grupė (n = 77)</b>				
	Apdorojimo greitis	45,82	12,64	46,81	13,21	-0,44	136	0,658	-0,08
	Budrumas/dėmesys	40,12	10,53	39,45	12,06	0,32	125	0,747	0,06
	Darbinė atmintis	45,30	9,70	42,44	9,49	1,73	135	0,085	0,30
	Žodinis mokymasis	45,80	8,82	45,30	7,59	0,36	135	0,721	0,06
	Vaizdinis mokymasis	57,85	9,42	54,12	10,97	2,10	135	<b>0,038</b>	0,36
	Samprotavimas / problemų sprendimas	49,97	8,12	48,34	8,68	1,12	135	0,264	0,19
	Socialinis pažinimas	57,18	13,63	58,82	13,02	-0,70	131	0,483	-0,12
	Neurokognityvinis balas	46,46	11,40	43,61	11,43	1,37	125	0,172	0,29
Bendras kognityvinis balas	49,40	11,55	46,00	11,87	1,57	123	0,119	0,29	

### 5.8.1. Kognityvinių funkcijų palyginimas skirtingose amžiaus grupėse

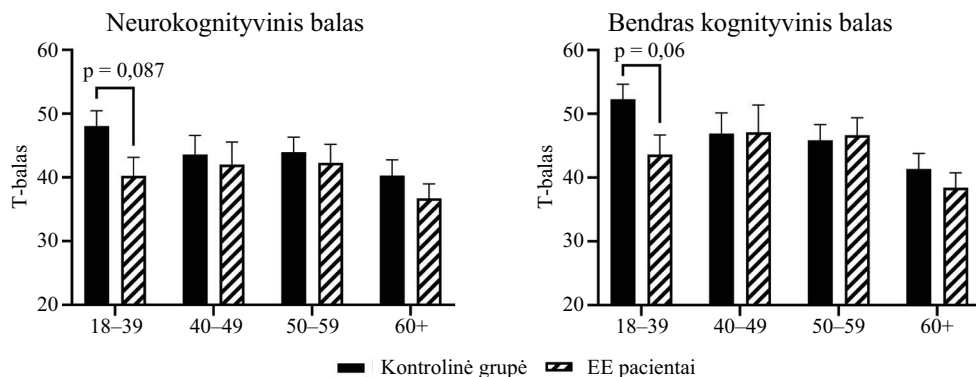
Atlikta papildoma analizė tarp skirtingų amžiaus grupių atskleidė, jog EE sirgę tiriamieji jauniausiose amžiaus grupėse (18–39 metai) gavo prastesnius įverčius už kontrolinę grupę 6 iš 7 pažintinių funkcijų sričių (5.8.1.1, 5.8.1.2 pav.). Šis skirtumas buvo statistiškai reikšmingas dėmesio/budrumo ( $p = 0,004$ ) bei darbinės atminties srityse ( $p = 0,03$ ). Vyriausios amžiaus grupės pacientai (60 metų ir vyresni) gavo blogesnius įvertinimus žodinio mokymosi srityje ( $p = 0,03$ ). Panaši tendencija buvo stebėta ir suminio neurokognityvinio bei bendro kognityvinio balo įverčiuose, tačiau skirtumai nebuvo statistiškai reikšmingi (5.8.1.3 pav.).



5.8.1.1 pav. Skirtingų pažintinių funkcijų palyginimas tarp EE pacientų ir kontrolinės grupės skirtingose amžiaus grupėse 6 mėn. po persirgto EE (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ )



**5.8.1.2 pav.** Skirtingų pažintinių funkcijų palyginimas tarp EE pacientų ir kontrolinės grupės skirtingose amžiaus grupėse 6 mėn. po persirgto EE (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ )



**5.8.1.3 pav.** Bendrų kognityvinių ir neurokognityvinių balų palyginimas tarp EE pacientų ir kontrolinės grupės skirtingose amžiaus grupėse, 6 mėn po persirgto EE (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ )

## 5.8.2. Kognityvinių funkcijų palyginimas tarp skirtingų EE sunkumo formų

Ligos sunkumo formos įtakos pažintinių funkcijų pažeidimo įvertinimui, kontroliuojant pacientų amžiaus įtaką, tiriamieji suskirstyti į dvi amžiaus grupes pagal imties amžiaus medianą (iki 53 metų ir virš 53 metų). Kadangi pacientų, sirgusių sunkia ligos forma, buvo palyginti nedaug, šiai analizei vidutinio sunkumo ir sunkiu encefalitu sirgusiųjų pacientų grupės sujungtos į vieną ir atliktas trijų grupių palyginimas tarp sveikų žmonių grupės bei meningitine EE forma sirgusiųjų grupės. Žodinio mokymosi ir vaizdinio mokymosi tyrimų rezultatai reikšmingai skyrėsi tarp skirtingų EE sunkumo formų ūmioje ligos fazėje ir kontrolinių tiriamųjų (5.8.2.1 lentelė). Tokia pati tendencija stebėta ir apdorojimo greičio bei darbinės atminties srityse, tačiau skirtumai nebuvo statistiškai reišmingi ( $p = 0,06$  ir  $p = 0,079$  atitinkamai). Žodinio mokymosi ir vaizdinio mokymosi srityse *post-hoc* testai (Tukey korekcija) neparodė reikšmingų skirtumų tarp skirtingų EE sunkumo formų ( $p = 0,274$  ir  $p = 0,188$  atitinkamai), tačiau lengva, o ne sunkia EE forma sirgusių pacientų rezultatai buvo prastesni nei kontrolinės grupės ( $p = 0,002$  ir  $p = 0,022$  atitinkamai). Apdorojimo greičio tyrimų rezultatai buvo blogesni sunkia bei vidutinio sunkumo EE forma sirgusiųjų grupėje ir reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinės grupės ( $p = 0,027$ ), bet ne nuo lengva EE forma sirgusiųjų ( $p = 0,272$ ). Darbinės atminties srityje *post-hoc* testai statistiškai reikšmingų skirtumų neparodė. Neurokognityvinio balo ir bendro kognityvinio balo įverčiai reikšmingai nesiskyrė (5.8.2.1 lentelė).

**5.8.2.1 lentelė.** Pažintinių funkcijų tyrimų rezultatų palyginimas tarp skirtingo sunkumo ligos forma sirgusių EE pacientų grupių pirmo pakartotinio vizito metu, kontroliuojant amžiaus įtaką. ANOVA analizės rezultatai

Pažintinių funkcijų sritis	Kontrolinė grupė		Lengvos formos EE		Vidutinio sunkumo / sunkus EE		Statistika		
	M	SP	M	SP	M	SP	F	p	Dalinė $\eta^2$
Apdorojimo greitis	46,62	1,45	43,48	2,02	40,42	2,23	2,87	0,06	0,04
Budrumas / dėmesys	39,10	1,21	35,42	1,80	35,43	2,03	2,06	0,13	0,03
Darbinė atmintis	42,35	1,07	38,83	1,50	43,46	1,65	2,59	0,08	0,03
Žodinis mokymasis	45,38	0,91	39,35	1,30	43,35	1,40	7,22	<b>0,00</b>	0,09
Vaizdinis mokymasis	54,12	1,25	47,99	1,75	52,69	1,94	4,09	<b>0,02</b>	0,05
Samprotavimas / problemų sprendimas	48,38	0,94	47,38	1,32	47,00	1,46	0,39	0,68	0,01
Socialinis pažinimas	58,36	1,37	58,37	2,04	57,96	2,22	0,01	0,99	0,00
Neurokognityvinis balas	43,49	1,28	37,85	2,00	40,58	2,16	2,98	0,05	0,04
Bendras kognityvinis balas	45,78	1,32	41,46	2,13	43,58	2,29	1,57	0,21	0,02



### 5.8.3. Kognityvinių funkcijų pokyčiai per vienerius metus

Neurokognityvinis funkcionavimas žymiai pagerėjo nuo pirmo vizito iki antro, praėjus 18 mėnesių po ūmios erkinio encefalito fazės. Statistiškai reikšmingas teigiamas pokytis stebėtas apdorojimo greičio, budrumo/dėmesio išlaikymo, darbinės atminties, žodinio mokymosi ir vaizdinio mokymosi srityse, vienintelė išimtis buvo socialinio pažinimo sritis (5.8.3.1 lentelė). Tokie patys reikšmingi skirtumai nustatyti ir vertinant suminius neurokognityvinio balo ir bendro kognityvinio balo rezultatus. Antrojo pakartotinio vizito metu EE sirgusiųjų pacientų tyrimų rezultatai nesiskyrė nuo sveikų žmonių kontrolinės grupės nė vienoje pažintinių funkcijų srityje ir netgi statistiškai reikšmingai pralenkė kontrolinę grupę vaizdinio mokymosi užduotyse. Atitinkami rezultatai stebėti ir palyginus skirtingas amžiaus grupes. Ligos sunkumas ūmioje fazėje taip pat nebeturėjo įtakos pažintinių funkcijų rezultatams (5.8.3.1 lentelė).

**5.8.3.1 lentelė.** Pokyčiai EE pacientų pažintinių funkcijų vertinime nuo pirmo iki antro stebėjimo vizito. Porinių imčių *t*-testo rezultatai

Pažintinių funkcijų sritis	n	Pirmasis pakartotinis vizitas		Antrasis pakartotinis vizitas		Statistika			
		M	SN	M	SN	t	lls	p	Coheno d
Apdorojimo greitis	61	42,87	12,41	45,82	12,64	-4,38	60	< 0,001	-0,56
Budrumas / dėmesys	49	37,29	8,60	40,12	10,70	-2,60	48	0,01	-0,37
Darbinė atmintis	60	41,33	9,65	45,30	9,70	-4,27	59	< 0,001	-0,55
Žodinis mokymasis	60	41,25	7,71	45,80	8,82	-5,53	59	< 0,001	-0,71
Vaizdinis mokymasis	60	50,57	10,71	57,85	9,42	-6,72	59	< 0,001	-0,87
Samprotavimas / problemų sprendimas	60	47,87	8,20	49,97	8,12	-2,79	59	0,01	-0,36
Socialinis pažinimas	53	57,15	13,12	56,87	13,93	0,23	52	0,82	0,03
Neurokognityvinis balas	48	40,25	11,33	46,29	11,87	-8,90	47	< 0,001	-1,28
Bendras kognityvinis balas	45	43,38	12,09	49,38	12,11	-8,20	44	< 0,001	-1,22

#### **5.8.4. Kognityvinio funkcionavimo ir subjektyvių simptomų sąsajos**

Tarpusavyje buvo palygintos dvi pacientų grupės: pacientai, kurie turėjo išliekančių subjektyvių nusiskundimų ir tie, kurie tokių nusiskundimų neturėjo. Kadangi yra žinoma, kad vyresnis amžius yra susijęs su didesniu subjektyvių nusiskundimų skaičiumi, analizėje amžiaus veiksnys kontroliuotas. Pacientams, kurie nurodė išliekančius subjektyvius simptomus antrojo stebėjimo vizito metu, nepriklausomai nuo pacientų amžiaus buvo nustatytas statistiškai reikšmingai žemesnis apdorojimo greitis ( $M = 42,93$ ,  $SN = 11,61$  ir  $M = 51,75$ ,  $SN = 12,88$  atitinkamai tarp pacientų su nusiskundimais ir be,  $F(1) = 5,91$ ,  $p < 0,05$ , dalinis  $\eta^2 = 0,09$ ) bei socialinis pažinimas ( $M = 53,95$ ,  $SN = 11,49$  ir  $M = 64,00$ ,  $SN = 15,53$  atitinkamai tarp pacientų su nusiskundimais ir be,  $F(1) = 5,41$ ,  $p < 0,05$ , dalinis  $\eta^2 = 0,09$ ). Atskirai išskirtas subjektyviai nurodytas padidėjęs dirglumas buvo susijęs su žemesniais socialinio pažinimo rezultatais MCCB testų metu (dalinė koreliacija, kontroliuojant amžiaus įtaką  $r = 0,318$ ,  $lls = 42$ ,  $p = 0,036$ ), o subjektyviai nurodyti atminties sutrikimai buvo susiję su žemesniu apdorojimo greičiu (dalinė koreliacija kontroliuojant amžiaus įtaką  $r = 0,331$ ,  $lls = 42$ ,  $p = 0,028$ ). Ryšio tarp kitų subjektyvių simptomų ir pažintinių funkcijų įvertinimo nenustatyta.

#### **5.8.5. Kognityvinio funkcionavimo sąsajos su kitais ūmios ligos fazės faktoriais**

Įvertinti ir kiti galimi faktoriai ūmios fazės metu, galėję nulemti pažintinių funkcijų sutrikimus. Stacionarinio laikotarpio trukmė neturėjo ryšio su kognityvinėmis funkcijomis pakartotinių vizitų metu, tuo tarpu Glazgo išeičių skalės bei Rankino skalės įverčiai išrašymo iš stacionaro metu statistiškai reikšmingai koreliavo su apdorojimo greičiu pirmo vertinimo metu (Spirmeno  $r = 0,26$ ,  $p < 0,05$  ir  $r = -0,31$ ,  $p < 0,01$  atitinkamai), ši tendencija išliko ir antrojo vizito metu, tačiau rezultatai nebuvo statistiškai reikšmingi (Spirmeno  $r = 0,22$  ir  $-0,23$  atitinkamai). Glazgo komos skalės įverčiai ūmioje fazėje taip pat teigiamai koreliavo su darbinės atminties rezultatais antrojo vizito metu (Spirmeno  $r = 0,28$ ,  $p < 0,05$ ).

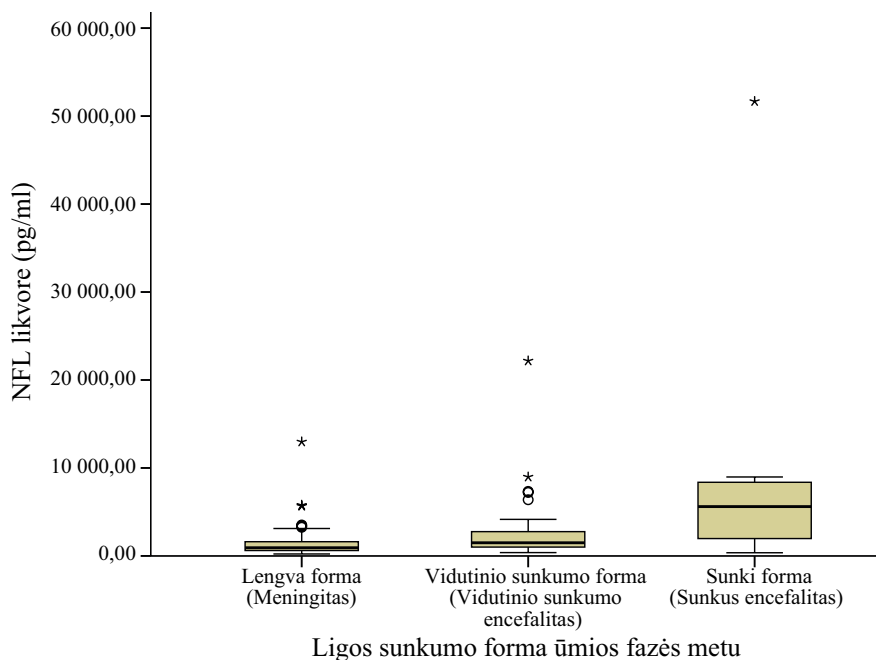
#### **5.9. Smegenų pažaidos biožymenų nustatymo rezultatai**

Visų smegenų pažaidos biožymenų, išskyrus neurograniną, kiekiai likvore ir serume nebuvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį. Pateikiamos rezultatų medianos ir tarpkvartiliniai pločiai.

## 5.9.1. Neuronų pažeidimo žymenys

### 5.9.1.1. NFL smegenų skystyje

NFL mediana likvoro buvo 1257,5 pg/ml (IQR 729,5–2565 pg/ml). NFL kiekis likvoro vidutiniškai stipriai koreliavo su pacientų amžiumi (Spirmeno  $r = 0,362$ ,  $p < 0,001$ ), tačiau nesiskyrė vyrų bei moterų grupėse (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,241$ ). Lyginant skirtingas ligos sunkumo formas, NFL kiekis likvoro buvo didesnis pacientams, sirgusiems sunkia ir vidutinio sunkumo EE forma (5.9.1.1.1 pav., 5.9.4.1 lentelė).

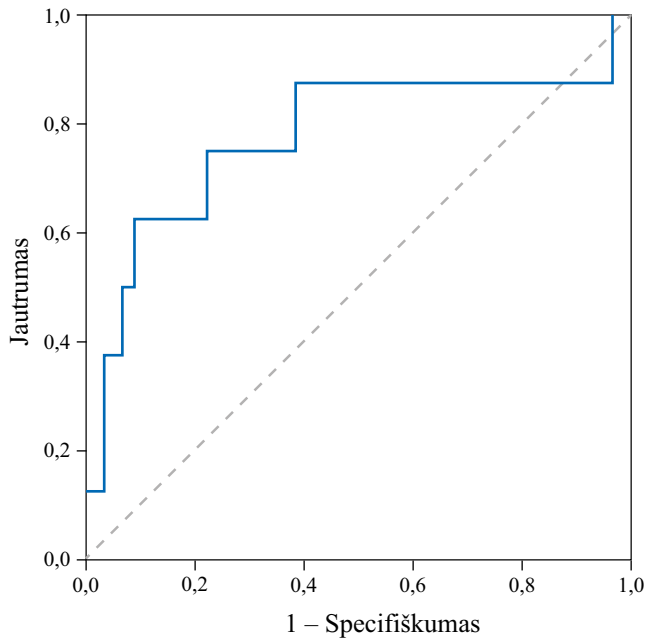


#### 5.9.1.1.1 pav. Likvoro NFL kiekio pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse

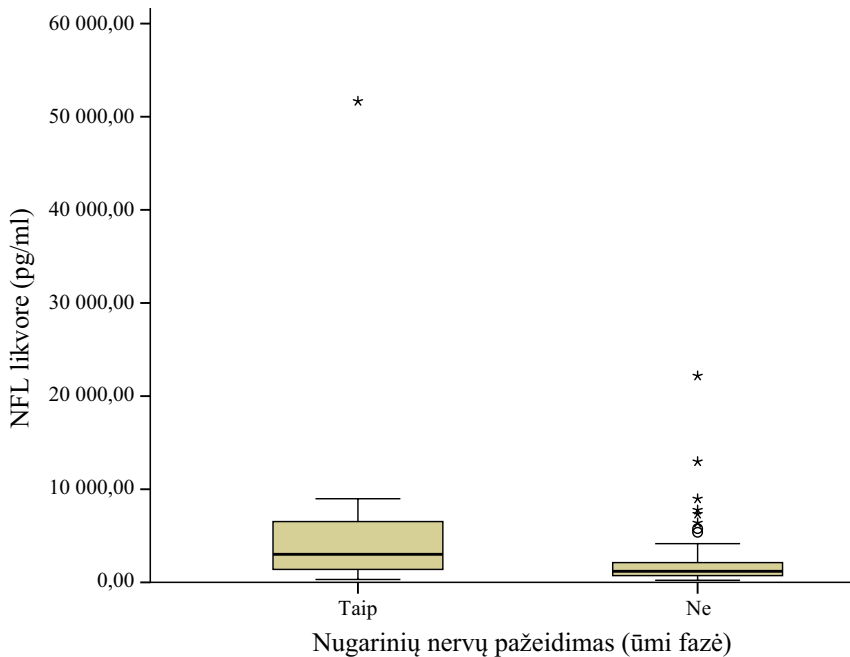
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,001$ ).

Didesnis nei 2314 pg/ml NFL kiekis likvoro galėjo 75 proc. jautrumu ir 77,8 proc. specifiškumu diferencijuoti sunkią ligos formą (plotas po kreive 0,775,  $p = 0,01$ , 95 proc. PI 0,56–0,99) (5.9.1.1.2 pav.).

Likvoro NFL kiekis taip pat buvo didesnis pacientams, kuriems nustatyta nugarinių nervų pažeida, tačiau neturėjo ryšio su galvinių nervų pažeidimu (5.9.1.1.3 pav., 5.9.4.2, 5.9.4.3 lentelės).



**5.9.1.1.2 pav.** ROC kreivė prognostinei smegenų skysčio NFL kiekio vertei nustatyti, prognozuojant sunkią EE formą

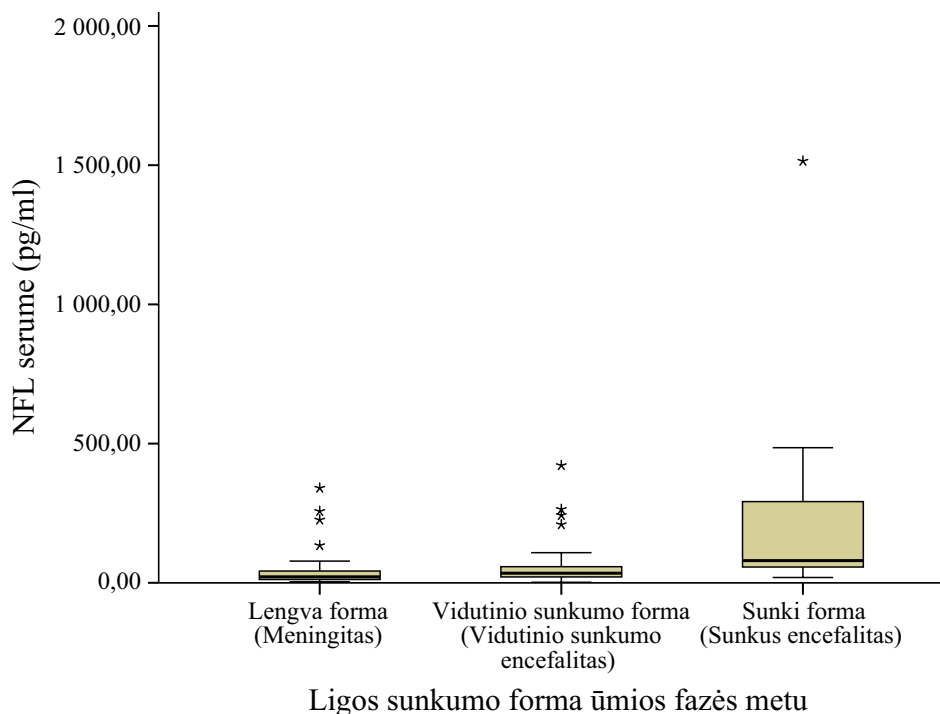


**5.9.1.1.3 pav.** Likvoro NFL kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be nugarinių nervų pažeidimo

Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,028$ ).

### 5.9.1.2. NFL serume

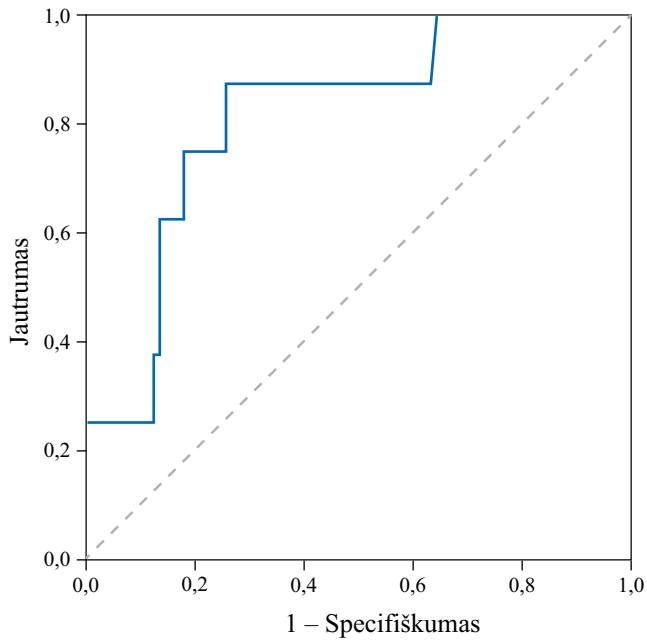
NFL koncentracijos serume mediana buvo 28,6 pg/ml (IQR 16,275–57,9 pg/ml). NFL kiekis serume silpnai koreliavo su pacientų amžiumi (Spirmeno  $r = 0,269$ ,  $p < 0,007$ ), skirtumo tarp lyčių nustatyta (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,569$ ). Nustatyti skirtumai tarp skirtingo EE sunkumo formų, o didžiausia koncentracija išmatuota sunkia forma sirgusiems pacientams (5.9.1.2.1 pav., 5.9.5.1 lentelė).



#### 5.9.1.2.1 pav. Serumo NFL kiekio pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse

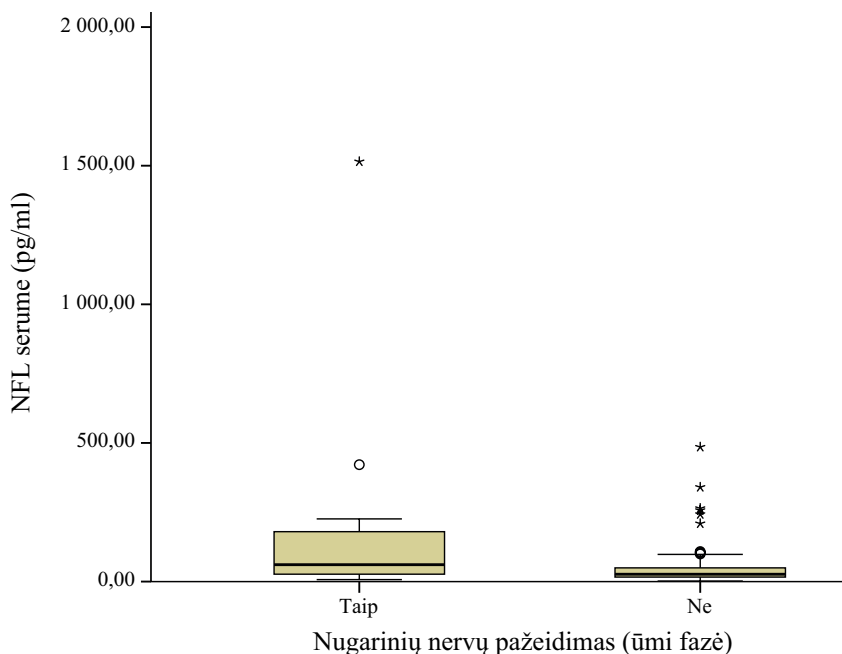
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,001$ ).

Didesnis nei 63,15 pg/ml NFL kiekis serume 75 proc. jautrumu ir 82,2 proc. specifiškumu galėjo diferencijuoti sunkią ligos formą (plotas po kreive 0,817,  $p = 0,003$ , 95 proc. PI 0,68–0,96) (5.9.1.2.2 pav.).



**5.9.1.2.2 pav.** ROC kreivė prognostinei serumo NFL kiekio vertei nustatyti, prognozuojant sunkią EE formą

Serumo NFL kiekis buvo didesnis pacientams, kuriems nustatytas nugarinių nervų pažeidimas, tuo tarpu su galvinių nervų pažeidimu ryšio nerasta (5.9.1.2.3 pav., 5.9.5.2, 5.9.5.3 lentelės).



**5.9.1.2.3 pav.** *Serumo NFL kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be nugarinių nervų pažeidimo*

Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,027$ ).

Likvoro ir serumo NFL reikšmės stipriai koreliavo tarpusavyje (Spirmeno  $r = 0,768$ ,  $p < 0,001$ ).

**5.9.1.3. Neurograninas smegenų skystyje**

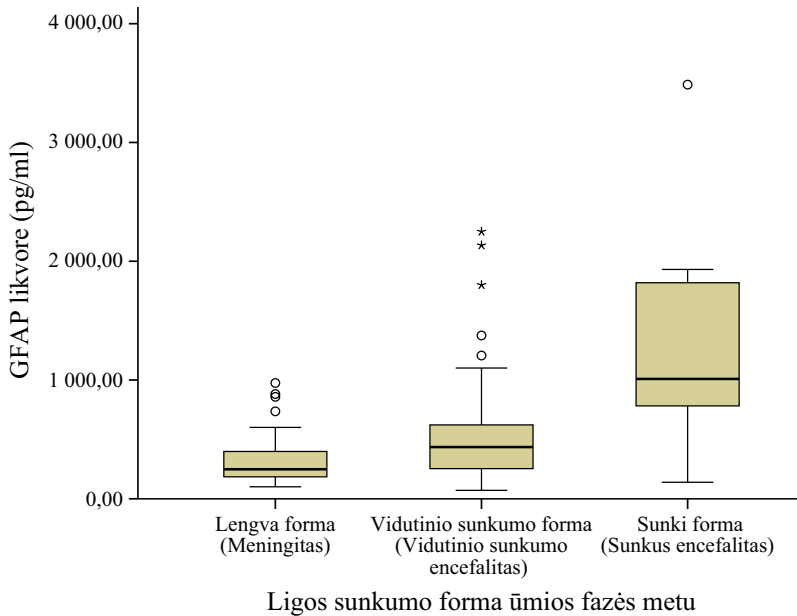
Neuronų sinaptinio žymens neurogranino reikšmės buvo pasiskirsčiusios pagal Gauso skirstinį. Šio žymens vidurkis tiriamojoje imtyje buvo 214,14 pg/ml (SN 82,64). Neurogranino kiekis nekoreliavo su pacientų amžiumi (Pirsono  $r = -0,083$ ,  $p = 0,414$ ) ir nesiskyrė tarp lyčių (nepriklausomų imčių t-testas,  $p = 0,513$ ). Neurogranino kiekis likvore neturėjo ryšio nei su ligos sunkumo forma, nei su galvinių ar nugarinių nervų pažeidimu ar sąmonės sutrikimu (5.9.4.1–5.9.4.4 lentelės).

**5.9.2. Glijos pažeidimo žymenys**

**5.9.2.1. GFAP smegenų skystyje**

GFAP kiekio smegenų skystyje mediana buvo 339 pg/ml (IQR 200,75–574,75 pg/ml). GFAP kiekis likvore vidutiniškai stipriai koreliavo su pacientų amžiumi (Spirmeno  $r = 0,463$ ,  $p < 0,001$ ), tačiau nesiskyrė vyrų bei moterų

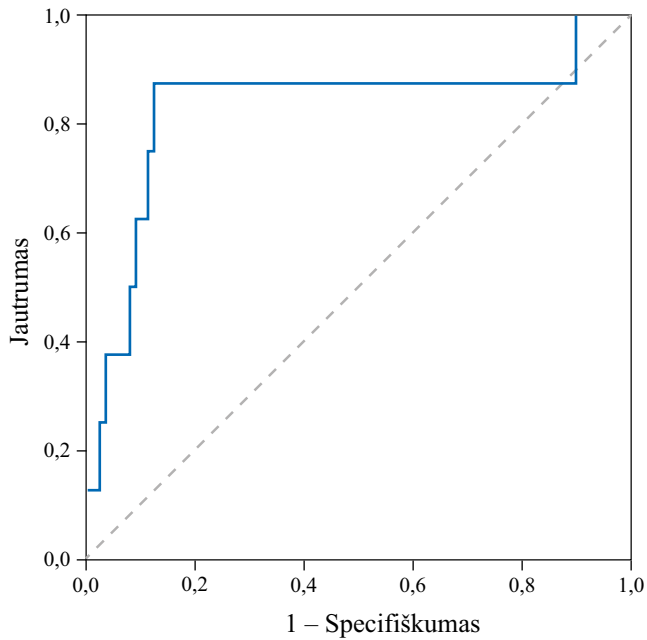
grupėse (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,738$ ). Šio biožymens kiekiai likvoro buvo didesni pacientams, sirgusiems sunkia ir vidutinio sunkumo EE forma (5.9.2.1.1 pav., 5.9.4.1 lentelė).



**5.9.2.1.1 pav.** Likvoro GFAP kiekio pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,001$ ).

GFAP kiekis likvoro, didesnis nei 747,5 pg/ml leido 87,5 proc. jautrumu ir 87,8 proc. specifiškumu diferencijuoti sunkią EE formą (plotas po kreive 0,831,  $p = 0,002$ , 95 proc. PI 0,63–1,0) (5.9.2.1.2 pav.).

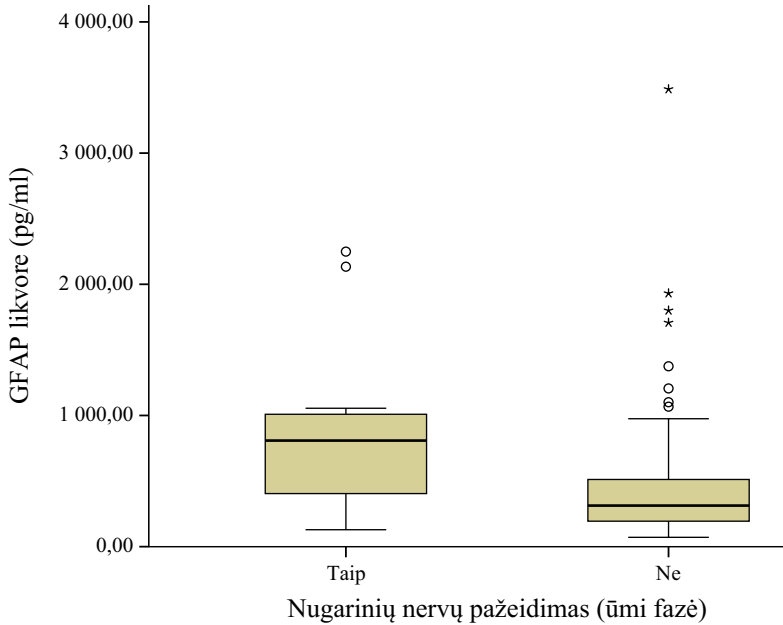




**5.9.2.1.2 pav.** ROC kreivė prognostinei smegenų skysčio GFAP kiekio vertei nustatyti, prognozuojant sunkią EE formą

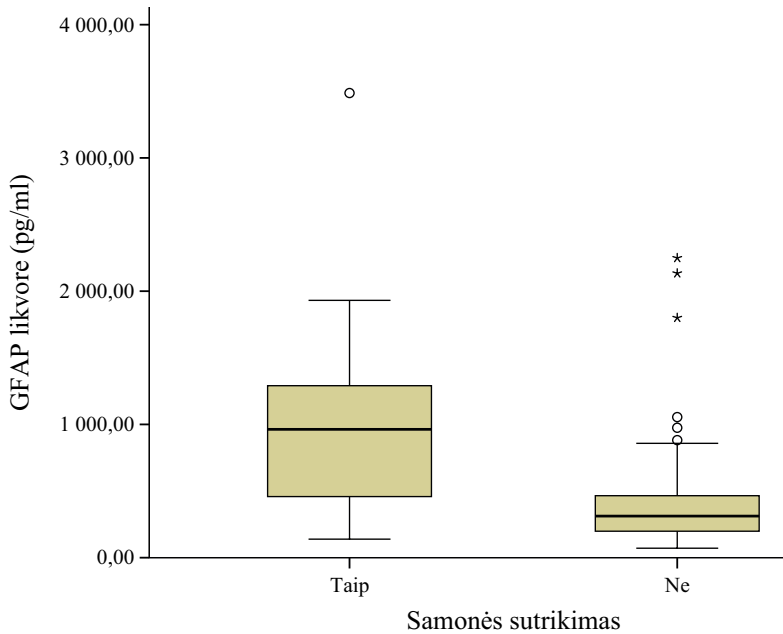
GFAP kiekis likvoro buvo didesnis tiriamiesiems, kuriems nustatyta nugarinių nervų pažeidimas (5.9.2.1.3 pav., 5.9.4.2 lentelė). Su galvinių nervų pažeidimu tokio ryšio nenustatyta (5.9.4.3 lentelė).

Pacientams, kuriems EE pasireiškė sąmonės sutrikimu, nustatyti didesni GFAP kiekiai likvoro (5.9.2.1.4 pav., 5.9.4.4 lentelė).



**5.9.2.1.3 pav.** Likvoro GFAP kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be nugarinių nervų pažeidimo

Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,011$ ).

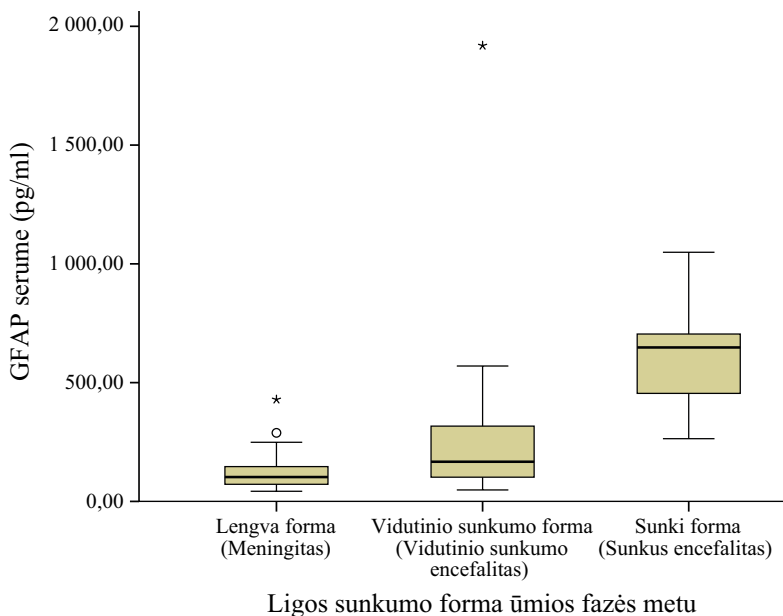


**5.9.2.1.4 pav.** Likvoro GFAP kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be sąmonės sutrikimo

Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,002$ ).

### 5.9.2.2. GFAP serume

GFAP kiekio serume mediana buvo 127,178 pg/ml (IQR 83,225–225,469 pg/ml). GFAP kiekis serume vidutiniškai stipriai koreliavo su pacientų amžiumi (Spirmeno  $r = 0,488$ ,  $p < 0,001$ ), taip pat buvo reikšmingai didesnis moterų tarpe (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,007$ ). Serumo GFAP kiekis buvo didesnis pacientų, kurie sirgo sunkesnėmis EE formomis (5.9.2.2.1 pav., 5.9.5.1 lentelė).

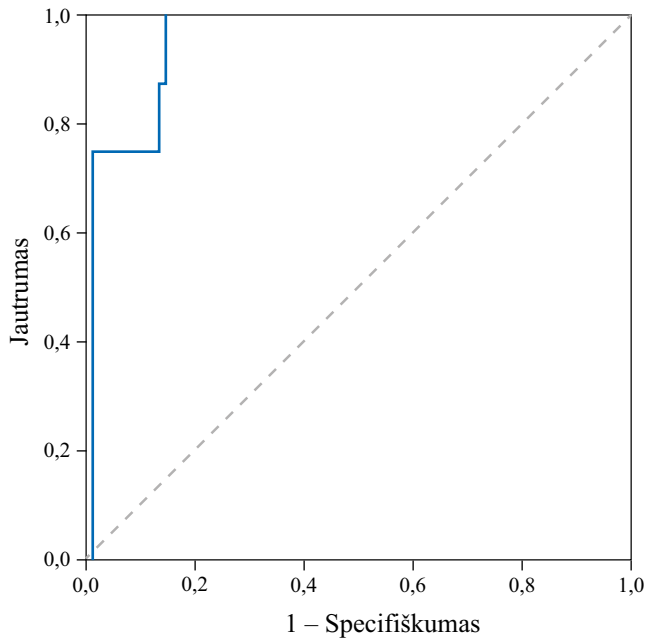


#### 5.9.2.2.1 pav. Serumo GFAP kiekio pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse

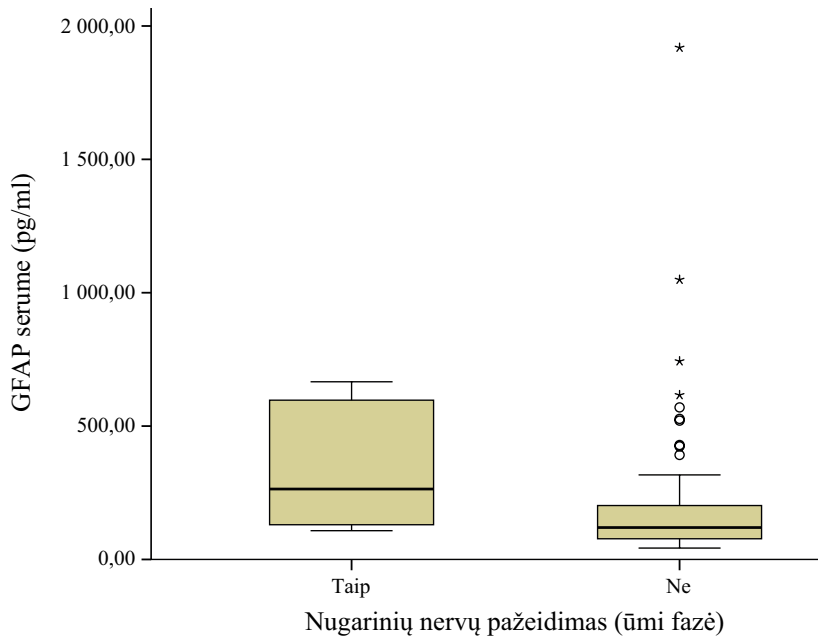
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p < 0,001$ ).

GFAP kiekis serume, didesnis nei 290,8 pg/ml, leido 87,5 proc. jautrumu ir 86,6 proc. specifiškumu diferencijuoti sunkią EE formą (plotas po kreive 0,956,  $p < 0,001$ , 95 proc. PI 0,91–1,0) (5.9.2.2.2 pav.).

GFAP kiekiai serume taip pat buvo didesni pacientams, kuriems nustatytas nugarinių nervų pažeidimas, tuo tarpu su galvinių nervų pažeidimu ryšio nerasta (5.9.2.2.3 pav., 5.9.5.2 ir 5.9.5.3 lentelės).



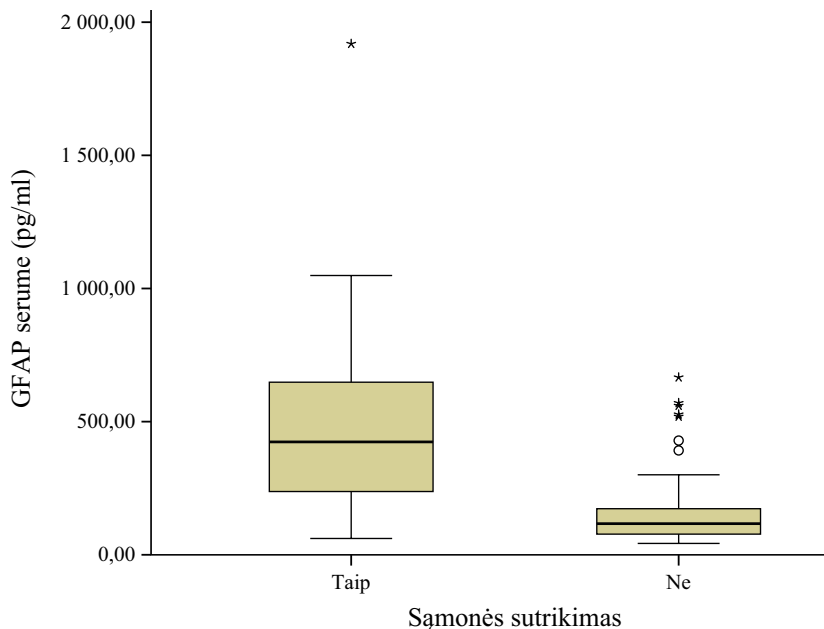
**5.9.2.2.2 pav.** ROC kreivė prognostinei serumo GFAP kieki vertei nustatyti, prognozuojant sunkią EE formą



**5.9.2.2.3 pav.** Serumo GFAP kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be nugarinių nervų pažeidimo

Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,006$ ).

Pacientams, kuriems EE pasireiškė sąmonės sutrikimu, nustatyti didesni GFAP kiekiai serume (5.9.2.2.4 pav., 5.9.5.4 lentelė).



**5.9.2.2.4 pav.** *Serumo GFAP kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be sąmonės sutrikimo*

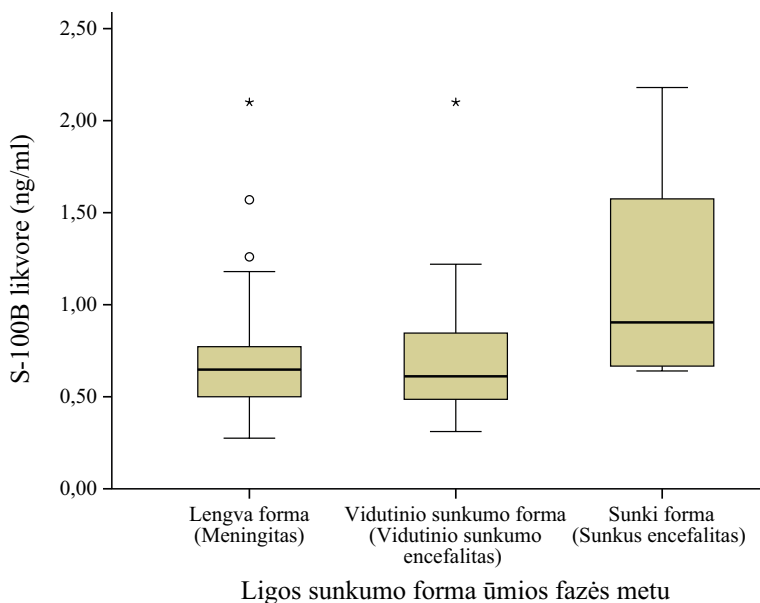
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p < 0,001$ ).

Likvoro ir serumo GFAP reikšmės vidutiniškai koreliavo tarpusavyje (Spirmeno  $r = 0,426$ ,  $p < 0,001$ ).

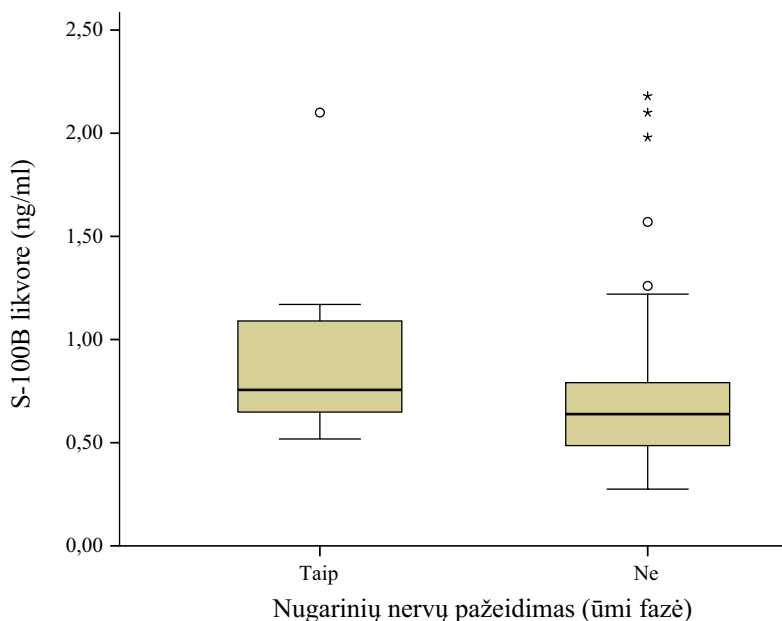
**5.9.2.3. S-100B smegenų skystyje**

S-100B kiekio smegenų skystyje mediana buvo 0,6495 ng/ml (IQR 0,5013–0,8585 ng/ml). Nustatyta silpna koreliacija su pacientų amžiumi (Spirmeno  $r = 0,271$ ,  $p = 0,007$ ), tačiau nesiskyrė tarp lyčių (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,366$ ). Sunkesnėmis EE formomis sirgusių pacientų likvoro išmatuoti didesni S-100B kiekiai (5.9.2.3.1 pav., 5.9.4.1 lentelė).

Nugarinių nervų pažeidimas taip pat turėjo ryšį su S-100B kiekiu likvoro, tuo tarpu toks ryšys tarp pacientų su galvinių nervų pažeidimu nenustatytas (5.9.2.3.2 pav., 5.9.4.2, 5.9.4.3 lentelės).



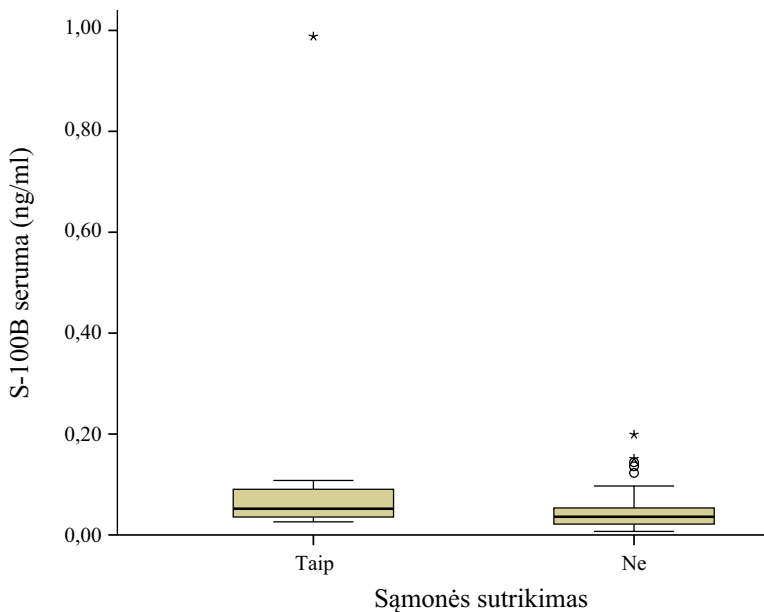
**5.9.2.3.1 pav.** Likvoro S-100B kiekio pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,033$ ).



**5.9.2.3.2 pav.** Likvoro S-100B kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be nugarinių nervų pažeidimo  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,043$ ).

#### 5.9.2.4. S-100B serume

S-100B mediana serume buvo 0,037 ng/ml (IQR 0,024–0,0623 ng/ml). Nenustatyta reikšmingos koreliacijos su pacientų amžiumi, tačiau moterų tarpe dažniau nustatytos didesnės serumo S-100B reikšmės (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,004$ ). Didesnės serumo koncentracijos nustatytos tarp pacientų, kuriems EE pasireiškė sąmonės sutrikimu (5.9.2.4.1 pav., 5.9.5.4 lentelė).



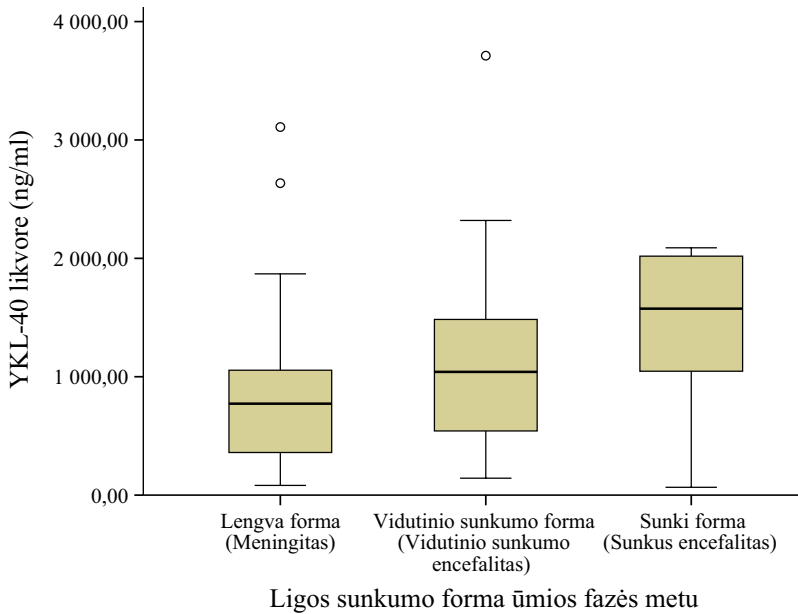
##### 5.9.2.4.1 pav. Serumo S-100B kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be sąmonės sutrikimo

Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,008$ ).

S-100B kiekis serume neturėjo ryšio su skirtingomis ligos sunkumo formomis, galvinių nervų ar nugarinių nervų pažaida (5.9.5.1–5.9.5.3 lentelės). Taip pat S-100B kiekis likvoro nekorreliavo su kiekiu serume.

#### 5.9.2.5. YKL-40 smegenų skystyje

YKL-40 mediana likvoro buvo 920 ng/ml (IQR 494,5–1372 ng/ml). Nustatyta silpna koreliacija su pacientų amžiumi (Spirmeno  $r = 0,285$ ,  $p = 0,004$ ), tačiau nesiskyrė tarp lyčių (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,584$ ). Sunkesnėmis EE formomis sirgusių pacientų likvoro išmatuoti statistiškai reikšmingai didesni YKL-40 kiekiai (5.9.2.5.1 pav., 5.9.4.1 lentelė).

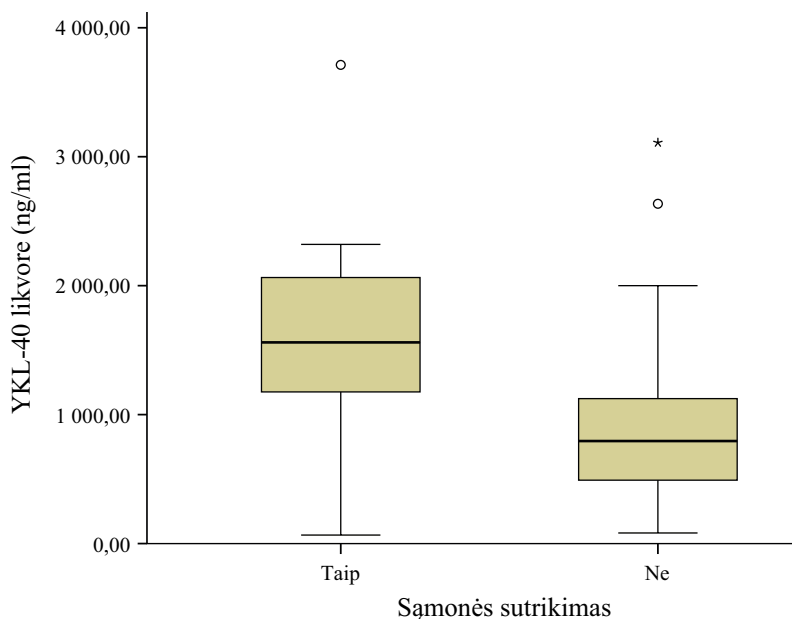


**5.9.2.5.1 pav. Likvoro YKL-40 kiekio pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse**

Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,013$ ).

Tokie patys skirtumai nustatyti ir palyginus pacientus, kuriems buvo nustatytas sąmonės sutrikimas su tais, kurių sąmonės būklė išliko nepakitusi (5.9.2.5.2 pav., 5.9.4.4 lentelė). Galvinių ir nugarinių nervų pažeidimas su šiuo biožymeniu ryšio neturėjo (5.9.4.2 ir 5.9.4.3 lentelės).





**5.9.2.5.2 pav.** Likvoro YKL-40 kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be sąmonės sutrikimo

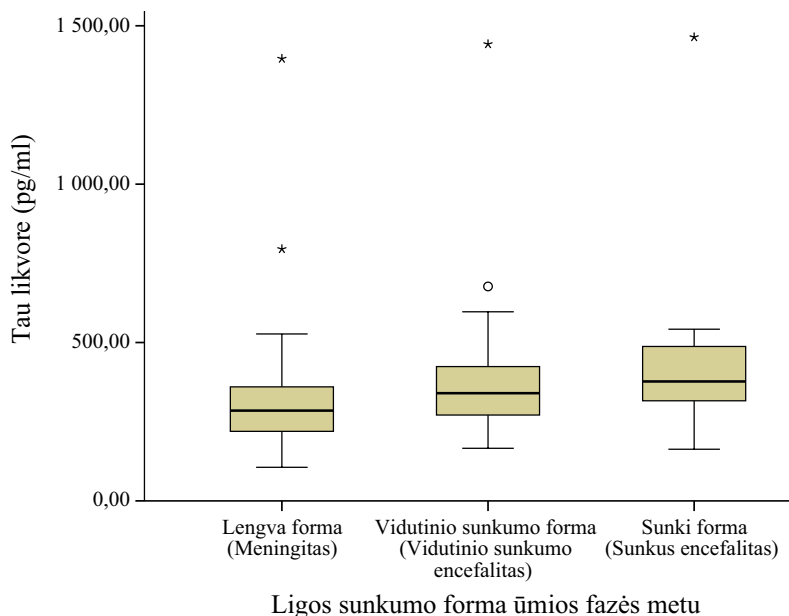
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,001$ ).

### 5.9.3. Neuronų ir glijos pažeidimo žymenys

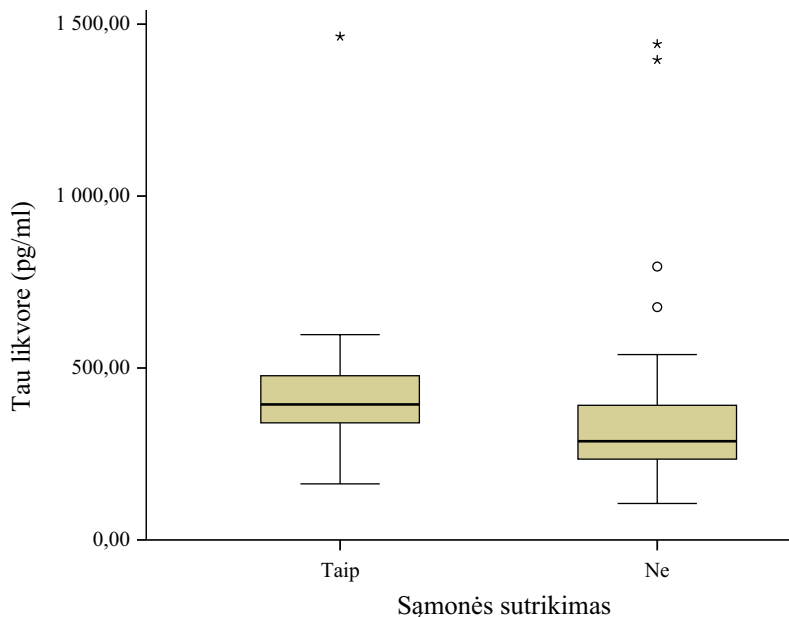
#### 5.9.3.1. TAU baltymas smegenų skystyje

TAU baltymo likvoro mediana buvo 304 pg/ml (IQR 244–409,25 pg/ml). Koncentracija likvoro nekoreliavo su pacientų amžiumi (Spirmeno  $r = 0,184$ ,  $p = 0,069$ ) ir nesiskyrė tarp vyrų ir moterų (Mano-Vitnio U testas,  $p = 0,392$ ). Tau baltymo kiekiai likvoro buvo statistiškai reikšmingai didesni tarp sunkesne EE forma sirgusių pacientų, tačiau nenustatytas ryšys su nugarinių ar galvinių nervų pažeidimu (5.9.3.1.1 pav., 5.9.4.1–5.9.4.3 lentelės).

Taip pat nustatyti statistiškai reikšmingai didesni TAU baltymo kiekiai pas pacientus, kuriems nustatytas sąmonės sutrikimas (5.9.3.1.2 pav., 5.9.4.4 lentelė).



**5.9.3.1.1 pav.** Likvoro TAU kiekio pasiskirstymas skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0.031$ ).



**5.9.3.1.2 pav.** Likvoro TAU kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse su ir be sąmonės sutrikimo  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,015$ ).

### 5.9.4. Likvoro žymenų palyginimas įvairiose pacientų grupėse

Likvoro biožymenų kiekių skirtumai tarp skirtingų pacientų grupių nurodyti 5.9.4.1–5.9.4.4 lentelėse.

#### 5.9.4.1 lentelė. Smegenų skysčio biožymenų vidurkiai ir medianos skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse

Likvoro biožymuo	Lengva forma (n = 52)	Vidutinio sunkumo forma (n = 38)	Sunki forma (n = 8)	p reikšmė
NFL (mediana)	931,5 pg/ml (IQR 608,5–1624)	1497,5 pg/ml (IQR 1002,75–2813,5)	5610 pg/ml (IQR 1750,25–8674,25)	<b>0,001*</b>
GFAP (mediana)	248,5 pg/ml (IQR 184–400,25)	435,5 pg/ml (IQR 252,75–641,75)	1009 pg/ml (IQR 770,5–1875)	<b>0,001*</b>
YKL40 (mediana)	772,5 ng/ml (IQR 358–1058)	1041 ng/ml (IQR 535,5–1488)	1575 ng/ml (IQR 983,75–2027,75)	<b>0,013*</b>
S-100B (mediana)	0,6475 ng/ml (IQR 0,4965–0,7815)	0,611 ng/ml (IQR 0,483–0,86375)	0,904 ng/ml (IQR 0,66625–1,7775)	<b>0,033*</b>
Tau (mediana)	285 pg/ml (IQR 219,25–360,5)	340 pg/ml (IQR 270,5–430,5)	377 pg/ml (IQR 312–514,75)	<b>0,031*</b>
Neurograninas (vidurkis)	201,55 pg/ml (SN 63,83)	226,74 pg/ml (SN 79,46)	236,13 pg/ml (SN 170,28)	0,267**

\*Kruskalis-Voliso neparametrinis testas. \*\*Vienfaktorinė dispersinė analizė (ANOVA).

#### 5.9.4.2 lentelė. Smegenų skysčio biožymenų kiekiai pacientų grupėse su ir be nugarinių nervų pažeidimo

Likvoro biožymuo	Su nugarinių nervų pažeidimu (n = 12)	Be nugarinių nervų pažeidimo (n = 86)	p reikšmė
NFL (mediana)	3012,5 pg/ml (IQR 1328,25–6874)	1190 pg/ml (IQR 725,25–2140,75)	<b>0,028*</b>
GFAP (mediana)	808,5 pg/ml (IQR 378,75–1032)	313 pg/ml (IQR 192,25–512)	<b>0,011*</b>
YKL40 (mediana)	1085,5 ng/ml (IQR 358,25–1409,25)	882,5 ng/ml (IQR 510,75–1358,5)	0,862*
S-100B (mediana)	0,756 ng/ml (IQR 0,64425–1,11)	0,6385 ng/ml (IQR 0,48575–0,7965)	<b>0,043*</b>
Tau (mediana)	341 pg/ml (IQR 253,25–427)	301,5 pg/ml (IQR 236,5–409,25)	0,708*
Neurograninas (vidurkis)	191,48 pg/ml (SN 64,75)	217,30 pg/ml (SN 84,67)	0,313**

\*Mano-Vitnio U testas. \*\*Nepriklausomų imčių t-testas.

**5.9.4.3 lentelė.** *Smegenų skysčio biožymenų vidurkiai ir medianos pacientų grupėse su ir be galvinių nervų pažeidimo*

<b>Likvoro biožymuo</b>	<b>Su galvinių nervų pažeidimu (n = 12)</b>	<b>Be galvinių nervų pažeidimo (n = 86)</b>	<b>p reikšmė</b>
NFL (mediana)	1257,5 pg/ml (IQR 932,25–7244,5)	1284 pg/ml (IQR 698,75–2463)	0,213*
GFAP (mediana)	362 pg/ml (IQR 309,5–1011,75)	317 pg/ml (IQR 181,5–542,75)	0,125*
YKL40 (mediana)	940,5 ng/ml (IQR 563,5–1652)	920 ng/ml (IQR 492,25–1354,5)	0,419*
S-100B (mediana)	0,8 ng/ml (IQR 0,53075–1,08)	0,646 ng/ml (IQR 0,489–0,7965)	0,223*
Tau (mediana)	373,5 pg/ml (IQR 286,5–516,75)	297 pg/ml (IQR 230,5–403)	0,072*
Neurograninas (vidurkis)	231,32 pg/ml (SN 144,41)	211,74 pg/ml (SN 71,05)	0,653**

\*Mano-Vitnio U testas. \*\*Nepriklausomų imčių t-testas.

**5.9.4.4 lentelė.** *Smegenų skysčio biožymenų kiekiai pacientų grupėse su ir be sąmonės sutrikimo*

<b>Likvoro biožymuo</b>	<b>Su sąmonės sutrikimu (n = 15)</b>	<b>Be sąmonės sutrikimo (n = 83)</b>	<b>p reikšmė</b>
NFL (mediana)	1991 pg/ml (IQR 1010–5378)	1192 pg/ml (IQR 720–2188)	0,099*
GFAP (mediana)	963 pg/ml (IQR 325–1375)	312 pg/ml (IQR 194–474)	<b>0,002*</b>
YKL40 (mediana)	1560 ng/ml (IQR 1172–2089)	795 ng/ml (IQR 490–1145)	<b>0,001*</b>
S-100B (mediana)	0,742 ng/ml (IQR 0,581–1,09)	0,639 ng/ml (IQR 0,49–0,791)	0,077*
Tau (mediana)	394 pg/ml (IQR 324–531)	287 pg/ml (IQR 232–393)	<b>0,015*</b>
Neurograninas (vidurkis)	254,6 pg/ml (SN 130,04)	206,53 pg/ml (SN 69,56)	0,185**

\*Mano-Vitnio U testas. \*\*Nepriklausomų imčių t-testas.

**5.9.5. Serumo žymenų palyginimas įvairiose pacientų grupėse**

Serumo biožymenų kiekių skirtumai tarp skirtingų pacientų grupių nurodyti 5.9.5.1–5.9.5.4 lentelėse.

**5.9.5.1 lentelė.** *Serumo biožymenų kiekiai skirtingomis ligos sunkumo formomis sirgusių pacientų grupėse. Kruskalio-Voliso neparametrinis testas*

Serumo biožymuo	Lengva forma (n = 52)	Vidutinio sunkumo forma (n = 38)	Sunki forma (n = 8)	p reikšmė
NFL (mediana)	21,5 pg/ml (IQR 11,6–42,45)	34,45 pg/ml (IQR 20,625–61,025)	79,7 pg/ml (IQR 53,025–388,475)	<b>0,001</b>
S-100B (mediana)	0,0315 ng/ml (IQR 0,0195–0,0545)	0,0445 ng/ml (IQR 0,03175–0,0645)	0,0445 ng/ml (IQR 0,02825–0,106)	0,15
GFAP (mediana)	102,48 pg/ml (IQR 71,36–146,5)	166,95 pg/ml (IQR 101,28–354,35)	648,08 pg/ml (IQR 373,86–723,85)	<b>&lt; 0,001</b>

**5.9.5.2 lentelė.** *Serumo biožymenų kiekiai pacientų grupėse su ir be nugarinių nervų pažeidimo. Mano-Vitnio U testas*

Serumo biožymuo	Su nugarinių nervų pažeidimu (n = 12)	Be nugarinių nervų pažeidimo (n = 86)	p reikšmė
NFL (mediana)	60,9 pg/ml (IQR 22,85–203)	26,4 pg/ml (IQR 16,125–50,15)	<b>0,027</b>
S-100B (mediana)	0,052 ng/ml (IQR 0,0225–0,09225)	0,036 ng/ml (IQR 0,024–0,0575)	0,235
GFAP (mediana)	263,99 pg/ml (IQR 119,61–634,68)	119,66 pg/ml (IQR 76,13–202,43)	<b>0,006</b>

**5.9.5.3 lentelė.** *Serumo biožymenų kiekiai pacientų grupėse su ir be galvinių nervų pažeidimo. Mano-Vitnio U testas*

Serumo biožymuo	Su galvinių nervų pažeidimu (n = 12)	Be galvinių nervų pažeidimo (n = 86)	p reikšmė
NFL (mediana)	37,95 pg/ml (IQR 17,9–190,325)	27,5 pg/ml (IQR 15,875–55,425)	0,267
S-100B (mediana)	0,0315 ng/ml (IQR 0,0205–0,06375)	0,038 ng/ml (IQR 0,024–0,05825)	0,688
GFAP (mediana)	201,89 pg/ml (IQR 116,91–666,1)	119,7 pg/ml (IQR 79,03–220,12)	0,113

**5.9.5.4 lentelė.** *Serumo biožymenų kiekiai pacientų grupėse su ir be sąmonės sutrikimo. Mano-Vitnio U testas*

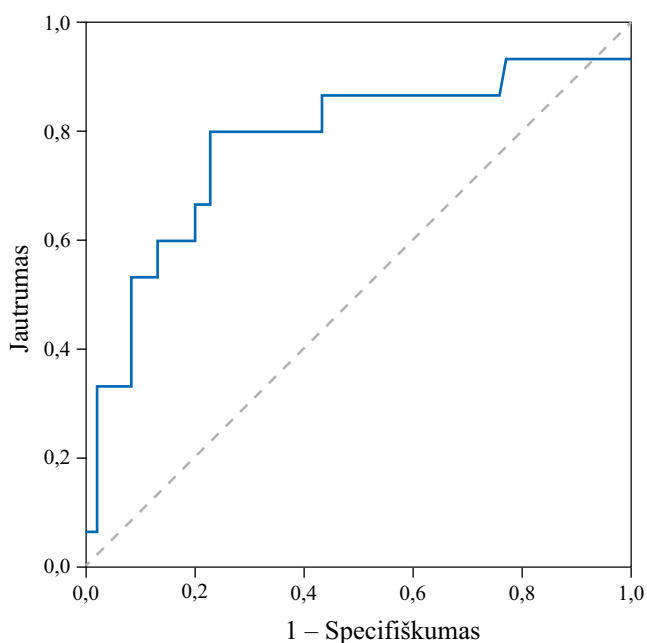
Serumo biožymuo	Su sąmonės sutrikimu (n = 15)	Be sąmonės sutrikimo (n = 83)	P reikšmė
NFL (mediana)	36,4 pg/ml (IQR 25–79,7)	26,5 pg/ml (IQR 15,4–57,2)	0,167
S-100B (mediana)	0,052 ng/ml (IQR 0,032–0,096)	0,036 ng/ml (IQR 0,021–0,054)	<b>0,008</b>
GFAP (mediana)	423,88 pg/ml (IQR 211,2–661,47)	116,91 pg/ml (IQR 76,13–179,06)	<b>&lt; 0,001</b>

## 5.9.6. Prognostinė smegenų pažaidos biožymenų vertė

Įvertinome biožymenų vertę prognozuojant galimą sąmonės sutrikimą bei gydymo ITS poreikį ligos eigoje naudodami ROC kreivių metodiką.

### 5.9.6.1. Likvoro žymenų vertė prognozuojant sąmonės sutrikimus EE metu

Likvoro, paimto 0–3 stacionarinio gydymo dieną, YKL-40 kiekis, didesnis nei 1170,5 pg/ml, leido 80 proc. jautrumu ir 77,1 proc. specifiškumu prognozuoti sąmonės sutrikimo išsivystymą ligos eigoje (plotas po kreive 0,777,  $p = 0,001$ , 95 proc. PI 0,63–0,93) (5.9.6.1.1 pav.).

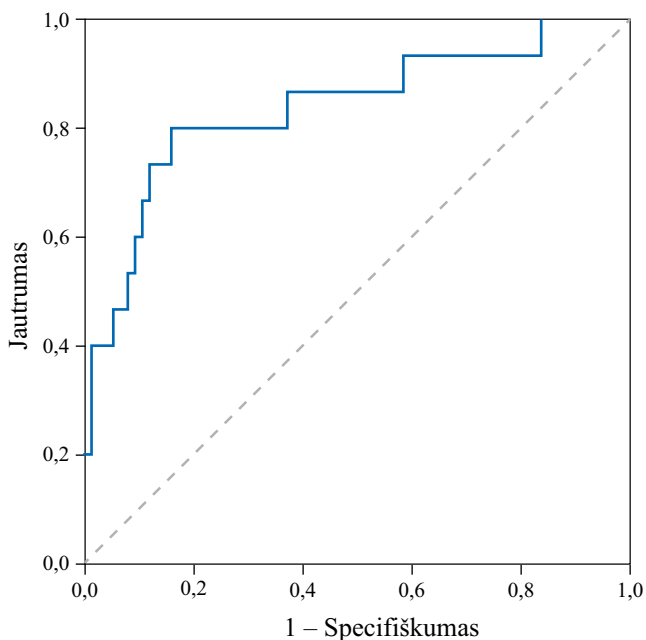


#### 5.9.6.1.1 pav. ROC kreivė prognostinei likvoro YKL-40 kiekio vertei nustatyti, prognozuojant sąmonės sutrikimą EE metu

Likvoro NFL, GFAP, S-100B, Tau ir Neurogranino žymenų kiekiai neturėjo prognostinės reikšmės sąmonės sutrikimui EE metu prognozuoti.

### 5.9.6.2. Serumo žymenų vertė prognozuojant sąmonės sutrikimus EE metu

Serumo, paimto 0–3 stacionarinio gydymo dieną, GFAP kiekis, didesnis nei 210,9 pg/ml, leido 80 proc. jautrumu ir 84 proc. specifiškumu prognozuoti sąmonės sutrikimo išsivystymą ligos eigoje (plotas po kreive 0,836,  $p < 0,001$ , 95 proc. PI 0,71–0,96) (5.9.6.2.1 pav.).

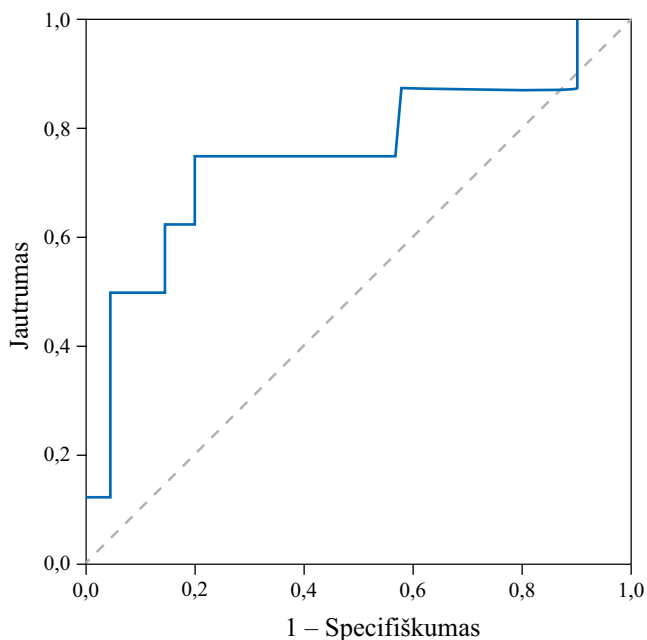


**5.9.6.2.1 pav.** ROC kreivė prognostinei serumo GFAP kiekio vertei nustatyti, prognozuojant sąmonės sutrikimą EE metu

Serumo NFL ir S-100B žymenų kiekis neturėjo prognozinės reikšmės sąmonės sutrikimui prognozuoti.

### 5.9.6.3. Likvoro žymenų vertė prognozuojant gydymo ITS poreikį

Didesnis nei 580,5 mg/ml likvoro, paimto 0–3 stacionarinio gydymo dieną, GFAP kiekis leido 75 proc. jautrumu ir 80 proc. specifiškumu prognozuoti gydymo ITS poreikį ligos eigoje (plotas po kreive 0,756,  $p = 0,017$ , 95 proc. PI 0,54–0,97) (5.9.6.3.1 pav.).



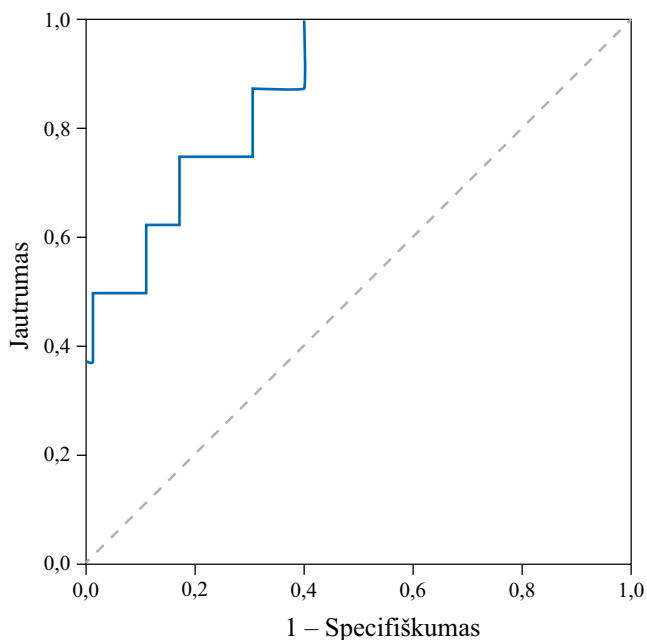
**5.9.6.3.1 pav.** ROC kreivė prognostinei likvoro GFAP kiekio vertei nustatyti, prognozuojant gydymo ITS poreikį

Likvoro NFL, YKL-40, S-100B, Tau ir Neurogranino biožymenų kiekis neturėjo prognostinės reikšmės gydymo ITS poreikiui nustatyti.



#### 5.9.6.4. Serumo žymenų vertė prognozuojant gydymo ITS poreikį

Didesnis nei 256,43 pg/ml serumo, paimto 0–3 stacionarinio gydymo dieną, GFAP kiekis 75 proc. jautrumu ir 82,9 proc. specifiškumu prognozavo pacientų gydymo ITS poreikį ligos eigoje (plotas po kreive 0,875,  $p < 0,001$ , 95 proc. PI 0,77–0,99) (5.9.6.4.1 pav.).



**5.9.6.4.1 pav.** ROC kreivė prognostinei serumo GFAP kiekio vertei nustatyti, prognozuojant gydymo ITS poreikį

Serumo NFL ir S-100B žymenų kiekis neturėjo prognostinės reikšmės gydymo ITS poreikiui nustatyti.

Nė vienas iš likvoro ar kraujo žymenų ūmios fazės metu negalėjo pakankamu jautrumu ir specifiškumu prognozuoti būsimų objektyvių ir/ar subjektyvių simptomų praėjus 6 ir 18 mėnesių po ūmios EE fazės.

## 5.10. Smegenų pažaidos biožymenų ryšys su išliekančia negalia po 18 mėnesių

### 5.10.1. Likvoro žymenys

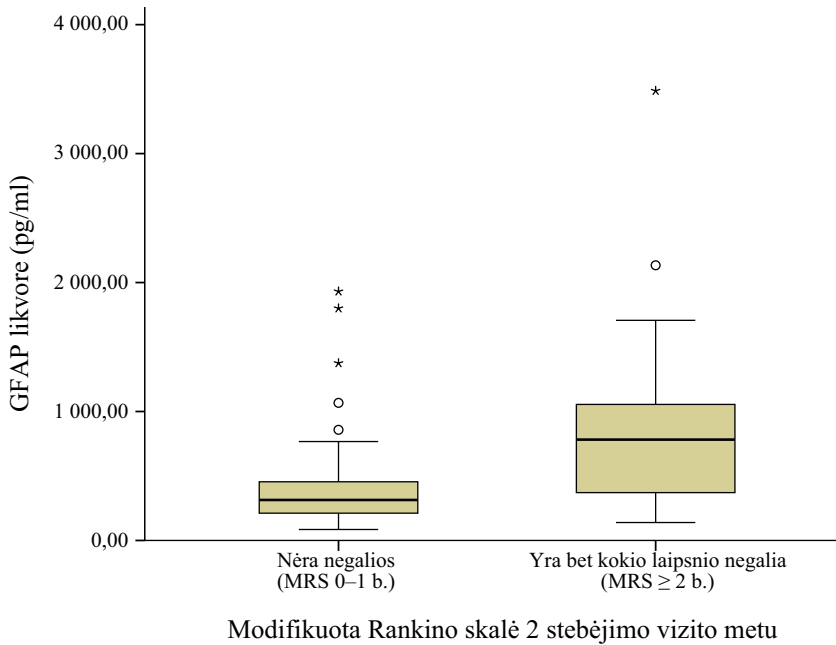
Įvairių smegenų skysčio žymenų pasiskirstymas pacientų grupėse su išliekančia negalia ir be negalios po 18 mėnesių pateikiamas 5.10.1.1 lentelėje.

**5.10.1.1 lentelė.** *Smegenų skysčio biožymenų kiekiai pacientų grupėse su išliekančia negalia ir be jos*

Likvoro biožymuo	Nėra negalios, MRS 0–1 b. (n = 47)	Išliekanti negalia, MRS $\geq$ 2 b. (n = 14)	p reikšmė
NFL (mediana)	1025 pg/ml (IQR 702–2036)	1976,5 pg/ml (IQR 816,25–6186)	0,077*
GFAP (mediana)	314 pg/ml (IQR 209–456)	782 pg/ml (IQR 319,5–1218)	<b>0,014*</b>
YKL40 (mediana)	828 ng/ml (IQR 489–1345)	970 ng/ml (IQR 645–1692,5)	0,401*
S-100B (mediana)	0,651 ng/ml (IQR 0,52–0,748)	0,793 ng/ml (IQR 0,602–1,14)	0,064*
Tau (mediana)	300 pg/ml (IQR 269–410)	316 pg/ml (IQR 252,75–403,75)	1,000*
Neurograninas (vidurkis)	216,78 pg/ml (SN 66,12)	215,56 pg/ml (SN 135,83)	0,963**

\*Mano-Vitnio U testas. \*\*Nepriklausomų imčių t-testas.

Likvoro, paimto 0–3 stacionarinio gydymo dieną, GFAP koncentracija buvo reikšmingai didesnė pacientams, kuriems po 18 mėnesių buvo nustatyta išliekanti negalia ( $\geq$  2 b. MRS skalėje) (5.10.1.1 pav.)



**5.10.1.1 pav.** Likvoro GFAP kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse, kuriose nustatyta arba nenustatyta negalia po 18 mėn. naudojant MRS  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,014$ ).

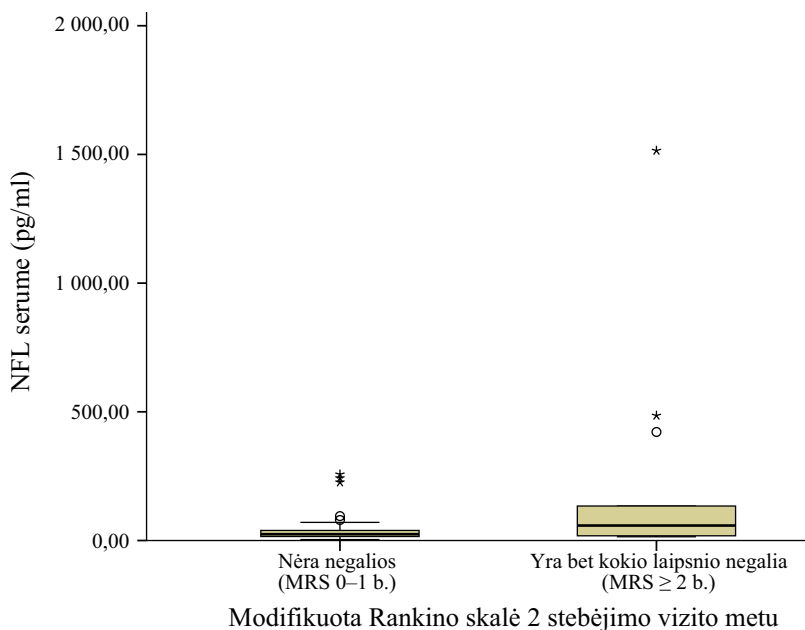
## 5.10.2. Serumo žymenys

Įvairių smegenų skysčio žymenų pasiskirstymas pacientų grupėse su išliekančia negalia ir be negalios po 18 mėnesių pateikiamas 5.10.2.1 lentelėje.

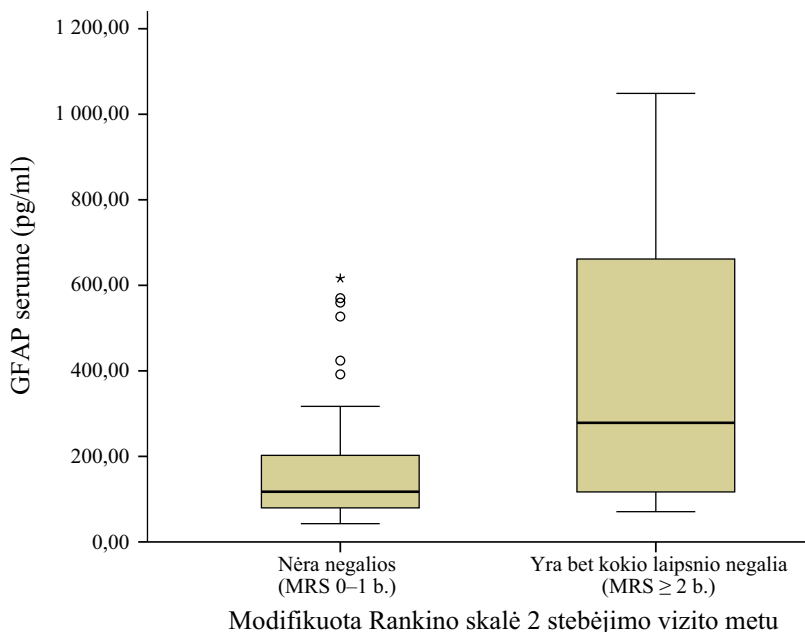
**5.10.2.1 lentelė.** Serumo biožymenų kiekiai pacientų grupėse su išliekančia negalia ir be jos. Mano-Vitnio U testas

Serumo biožymuo	Nėra negalios, MRS 0–1 b. (n = 47)	Išliekanti negalia, MRS $\geq$ 2 b. (n = 14)	p reikšmė
NFL (mediana)	24,5 pg/ml (IQR 15,3–39,8)	58,15 pg/ml (IQR 18,1–205,9)	<b>0,016</b>
S-100B (mediana)	0,039 ng/ml (IQR 0,026–0,063)	0,043 ng/ml (IQR 0,026–0,08)	0,797
GFAP (mediana)	117,36 pg/ml (IQR 75,81–206,52)	278,52 pg/ml (IQR 116,2–662,63)	<b>0,009</b>

Serumo NFL bei GFAP koncentracijos buvo reikšmingai didesnės pacientams, kuriems po 18 mėnesių buvo nustatyta išliekanti negalia ( $\geq 2$  b. MRS skalėje) (5.10.2.1 ir 5.10.2.2 pav.).



**5.10.2.1 pav.** Serumo NFL kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse, kuriose nustatyta arba nenustatyta negalia po 18 mėn. naudojant MRS  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,016$ ).



**5.10.2.2 pav.** Serumo GFAP kiekio pasiskirstymas pacientų grupėse, kuriose nustatyta arba nenustatyta negalia po 18 mėn. naudojant MRS  
Atvaizduojamos medianos ir tarpkvartiliniai pločiai ( $p = 0,009$ ).

ROC kreivių analizės metu nė vienas iš likvoro ar kraujo žymenų ūmios fazės metu negalėjo pakankamu jautrumu ir specifiškumu prognozuoti būsimos negalios ( $\geq 2$  b. pagal MRS) praėjus 6 ir 18 mėnesių po ūmios EE fazės.

### **5.11. Smegenų pažaidos biožymenų ryšys su pažintinių funkcijų tyrimo rezultatais**

Įvertinome išmatuotų smegenų pažaidos biožymenų likvoro bei serume sąsajas su pažintinių funkcijų tyrimų rezultatais, naudodami Spirmeno koreliaciją, nes biožymenų tyrimų reikšmės neatitiko normaliojo skirstinio (5.11.1, 5.11.2 lentelės).

**5.11.1 lentelė. Koreliacija tarp smegenų pažaidos biožymenų smegenų skystyje ir pažintinių funkcijų tyrimų rezultatų dvių matavimų (6 mėn. ir 18 mėn. po EE) metu**

Kognityvinė sritis	NFL	GFAP	YKL-40	S-100B	TAU	Neurogramas
Aporojimo greitis	6 mėn. matavimas	<b>-0,330**</b>	-0,110	-0,176	-0,023	-0,015
	18 mėn. matavimas	<b>-0,333**</b>	-0,178	-0,014	0,012	0,029
Dėmesys/budrumas	6 mėn. matavimas	0,065	0,060	-0,003	0,201	0,144
	18 mėn. matavimas	-0,089	-0,133	0,080	0,044	0,021
Darbinė atmintis	6 mėn. matavimas	<b>-0,272*</b>	-0,071	-0,087	-0,109	-0,111
	18 mėn. matavimas	-0,222	-0,152	-0,028	-0,031	-0,059
Žodinis mokymasis	6 mėn. matavimas	<b>-0,237*</b>	-0,136	-0,200	0,012	0,108
	18 mėn. matavimas	<b>-0,361**</b>	<b>-0,292*</b>	-0,003	-0,030	0,130
Vaizdinis mokymasis	6 mėn. matavimas	0,000	-0,115	0,104	0,038	-0,038
	18 mėn. matavimas	0,171	0,098	0,160	0,121	0,146
Samprotavimas ir problemų sprendimas	6 mėn. matavimas	-0,201	<b>-0,261*</b>	0,129	-0,065	-0,042
	18 mėn. matavimas	<b>-0,314*</b>	-0,244	-0,036	-0,218	-0,005
Socialinis pažinimas	6 mėn. matavimas	<b>-0,320**</b>	-0,205	0,044	-0,190	-0,053
	18 mėn. matavimas	<b>-0,349**</b>	<b>-0,378**</b>	0,064	-0,250	-0,102
Bendras kognityvinis funkcionavimas	6 mėn. matavimas	-0,112	-0,267*	0,052	-0,078	-0,102
	18 mėn. matavimas	<b>-0,291*</b>	-0,260	0,114	-0,116	-0,043
Neurokognityvinis funkcionavimas	6 mėn. matavimas	-0,126	<b>-0,286*</b>	-0,025	-0,024	-0,053
	18 mėn. matavimas	-0,238	-0,204	0,066	-0,031	0,018

Spirmeno r, \*p < 0,05, \*\*p < 0,01.

**5.11.2 lentelė.** Koreliacija tarp smegenų pažaidos biožymenų serume ir pažintinių funkcijų tyrimų rezultatų dviejų matavimų (6 mėn. ir 18 mėn. po EE) metu

Kognityvinė sritis		NFL serume	S-100B serume	GFAP serume
Apdorojimo greitis	6 mėn. matavimas	-0,196	-0,196	<b>-0,266*</b>
	18 mėn. matavimas	<b>-0,296*</b>	-0,182	-0,140
Dėmesys/budrumas	6 mėn. matavimas	0,053	-0,086	0,008
	18 mėn. matavimas	-0,120	-0,073	-0,200
Darbinė atmintis	6 mėn. matavimas	-0,160	-0,039	-0,023
	18 mėn. matavimas	<b>-0,268*</b>	-0,019	-0,200
Žodinis mokymasis	6 mėn. matavimas	<b>-0,267*</b>	0,026	-0,186
	18 mėn. matavimas	<b>-0,370**</b>	-0,132	<b>-0,282*</b>
Vaizdinis mokymasis	6 mėn. matavimas	0,017	-0,018	-0,008
	18 mėn. matavimas	0,092	-0,043	0,113
Samprotavimas ir problemų sprendimas	6 mėn. matavimas	-0,176	-0,191	0,007
	18 mėn. matavimas	-0,244	<b>-0,340**</b>	0,031
Socialinis pažinimas	6 mėn. matavimas	<b>-0,288*</b>	-0,023	<b>-0,325*</b>
	18 mėn. matavimas	<b>-0,311*</b>	-0,244	-0,247
Bendras kognityvinis funkcionavimas	6 mėn. matavimas	-0,083	-0,110	-0,106
	18 mėn. matavimas	-0,284	-0,148	-0,160
Neurokognityvinis funkcionavimas	6 mėn. matavimas	-0,133	-0,102	-0,091
	18 mėn. matavimas	<b>-0,288*</b>	-0,136	-0,192

Spirmeno r, \*p < 0,05, \*\*p < 0,01.

Neuronų pažaidos žymens NFL kiekis likvoro ūmios ligos fazės metu neigiamai koreliavo su apdorojimo greičio, žodinio mokymosi bei socialinio pažinimo rezultatais po 6 mėnesių ir po 18 mėnesių (5.11.1 lentelė). Tokia pati koreliacija stebėta ir su samprotavimo/problemų sprendimo srities rezultatais bei bendru kognityviniu balu po 18 mėnesių (5.11.1 lentelė). NFL kiekis serume buvo reikšmingai neigiamai susijęs su žodinio mokymosi ir socialinio pažinimo rezultatais po 6 mėnesių ir po 18 mėnesių. Po 18 mėnesių apdorojimo greičio, darbinės atminties bei neurokognityvinio funkcionavimo rezultatai neigiamai koreliavo su serumo NFL kiekiu ūmios ligos fazės metu (5.11.2 lentelė).

Astroglijos aktyvacijos žymens GFAP kiekis likvoro ūmios fazės metu taip pat statistiškai reikšmingai neigiamai koreliavo su apdorojimo greičio, darbinės atminties, žodinio mokymosi, socialinio pažinimo rezultatais bei neurokognityvinio ir bendro kognityvinio balo rezultatais abiejų stebėjimo vizitų metu po 6 mėnesių ir po 18 mėnesių. Tokia pati koreliacija stebėta su

nustatytais samprotavimo ir problemų sprendimo rezultatais po 18 mėnesių (5.11.1 lentelė). Serumo GFAP koncentracijos neigiamai koreliavo su apdorojimo greičio bei socialinio pažinimo rezultatais po 6 mėnesių, o su žodinio mokymosi įverčiais – po 18 mėnesių (5.11.2 lentelė).

YKL-40 kiekis likvoro ūmios fazės metu neigiamai koreliavo su samprotavimo/problemų sprendimo rezultatais po 6 mėnesių, o su žodinio mokymosi ir socialinio pažinimo sričių įverčiais – po 18 mėnesių (5.11.1 lentelė).

S-100B kiekis likvoro EE metu nebuvo susijęs su pažintinių funkcijų tyrimo rezultatais nei po 6 mėnesių, nei po 18 mėnesių, tačiau serumo koncentracijos neigiamai koreliavo su samprotavimo/problemų sprendimo įverčiais po 18 mėnesių (5.11.2 lentelė).

Neurodegeneracijos žymens TAU kiekis likvoro ūmios fazės metu neturėjo statistiškai reikšmingo ryšio su pažintinių funkcijų rezultatais nė vieno vertinimo metu.

Sinaptinio biožymens neurogranino kiekiai smegenų skystyje nekoreliavo su kognityvinėmis funkcijomis nė vieno matavimo metu.

## **5.12. Autoimuninių encefalitų žymenų nustatymas**

Autoimuninių encefalitų antikūnams nustatyti iš viso ištirti 22 pacientų 44 poriniai serumo ėminiai. Nė viename mėginyje nebuvo nustatyta autoimuninių encefalitų (anti-NMDAR, anti-CASPR-2, anti-AMPA 1/2, anti-LGI-1, anti-DPPX, anti-GABAR B1/B2) antikūnų.



## 6. REZULTATŲ APTARIMAS

Dalis šiame tyrime gautų rezultatų patvirtina daugelį jau žinomų faktų apie erkinį encefalitą: ši liga dažniausiai paveikia vidutinio amžiaus dirbančius žmones, kas antras sergantis nebūna pastebėjęs erkės įsisiurbimo, o ligos sunkumo formų pasiskirstymas atitinka ankstesnių tyrimų duomenis. Didžioji dalis EE atvejų pasireiškė dvibange eiga, o vienbangu pasireiškimas buvo susijęs su sunkesne ligos eiga [5,6,8]. Vieno paciento nurodytas net 60 dienų laikotarpis nuo erkės įsisiurbimo iki pirmųjų simptomų atsiradimo nukrypsta nuo literatūroje nurodomo inkubacinio periodo. Vertinant didelį EE endemiškumą Lietuvoje, labiausiai tikėtinas vėlesnis užsikrėtimas kito, nepastebėto, erkės įsisiurbimo metu. Ūmios ligos fazės metu nemaža dalis pacientų patiria sunkius neurologinius pažeidimus – galūnių paralyžius ar parezes, galvinių nervų pažeidimus, įvairaus lygio sąmonės sutrikimą bei pusiausvyros ir koordinacijos sutrikimus. Šių duomenų pakartotinis įvertinimas yra svarbus nuolatinei EE stebėsenai, nes dėl nuolat besikeičiančios epidemiologijos reikšmingi pokyčiai klinikiniam šios ligos pasireiškime gali leisti įtarti naujų EEV padermių cirkuliaciją Lietuvoje, nors tai iki šiol buvo nustatyta tik kitose Baltijos šalyse. Tyrimo metu nustatyta ligos sunkumo koreliacija su pacientų amžiumi bei vienbange ligos eiga atitinka kitų atliktų tyrimų duomenis [5,10]. Pacientų su galūnių paralyžiais, mielito reiškiniais proporcija reikšmingai nesiskyrė nuo kitų tyrimų duomenų, nors kai kuriuose tyrimuose nurodomi ir šiek tiek mažesni procentai (2,7–15 proc.) [5,6]. Galvinių nervų pažaidos atveju stebėta panaši tendencija. Ataksija ūmios fazės metu stebėta net 51 proc. pacientų, o tai yra gerokai dažniau, nei nurodo seniau atlikti tyrimai [5,6,181], tačiau neseniai publikuotame didelės apimties retrospektyviniame tyrime šio simptomo dažnis siekia net 81,9 proc. [10]. Tuo tarpu kitas dažnai pasireiškiantis simptomas tremoras buvo nustatytas 38,8 proc. atvejų ir neišsiskyrė iš kitų tyrimų konteksto.

Itin didelis tiriamųjų amžiaus spektras rodo, jog nė viena amžiaus grupė nėra apsaugota nuo šios infekcijos, o dažnai nurodomas nedidelis judrumas kaip nesiskiepijimo priežastis neturėtų būti lemiamas faktorius priimant šį sprendimą. Stebėta ir kita, nuo daugelio kitų infekcinių ligų, tokių kaip gripas ar COVID-19, besiskirianti tendencija – lėtinės ligos neturėjo ryšio su sunkesnėmis ligos formomis. Šis faktas kelia nerimą, nes net ir visiškai sveiki žmonės, be jokių lėtinių ligų gali sirgti sunkia EE forma ir turėti ilgalaikių invalidizuojančių pasekmių. Viena iš tiriamųjų, kuri iki ligos buvo gydoma monokloninių antikūnų terapija (rituksimabu), sirgo sunkia ligos forma, taip pat jai vienintelei iš visos imties pasireiškė bulbarinė simptomatika. Nors statistiškai sunkesnės ligos eigos su rituksimabo vartojimu susieti negalima,

šie duomenys atitinka literatūroje aprašomus sunkių neuroinvazyvinių infekcijų atvejus sukeltus arbovirusų, įskaitant ir EEV [134]. Pažymėtinas itin nedidelis procentas pacientų, kuriems buvo skirtas gydymas gliukokortikosteroidais. Lenkijos tyrėjų retrospektyvinės studijos duomenimis 1993–2008 metais net 54,8 proc. EE pacientų buvo skiriamas deksametazonas [181]. Lyginant su prieš 20 metų Kaune atliktu tyrimu, tokių pacientų kiekis sumažėjo nuo 60,9 proc. iki 5,1 proc. [5]. Šis faktas kartu su tuo, jog letalių išeičių kiekis per šį laikotarpį nepadidėjo, leidžia teigti, kad gydymas gliukokortikoidais EE metu neturėtų būti taikomas kaip standartinis gydymo metodas, kol nebus parengtos aiškios gairės, paremtos geros kokybės randomizuotais klinikiniais tyrimais. Nesant efektyvaus etiotropinio gydymo, ligos sunkumas lemia ilgą hospitalizacijos trukmę, lyginant su kitomis infekcinėmis bei neinfekcinėmis ligomis, o tai yra didelė finansinė našta ligoninėms ir visai sveikatos apsaugos sistemai. Beveik 10 proc. atvejų prireikia dar ilgesnio bei brangesnio gydymo intensyvios terapijos skyriuje, o tai savo ruožtu didina ir hospitalinių komplikacijų pacientams riziką. Mūsų pacientų hospitalizacijos trukmė gerokai skyrėsi nuo Lenkijos autorių duomenų, kurie 1993–2008 metais atlikto retrospektyvaus tyrimo metu nurodė 23 dienų gydymo medianą [181]. Taip pat žymus skirtumas pastebėtas lyginant su senesnių tyrimų rezultatais – Kaiser 1999 metais nurodė vidutinę 15 dienų gydymo trukmę [6]. Nepaisant to, vidutinė EE pacientų gydymo trukmė apie 30 proc. viršija gydymo įstaigose rekomenduojamą vidutinę infekcinėmis ligomis sergančių pacientų gydymo trukmę. Faktas, kad nė vienas iš į tyrimą įtrauktų EE pacientų praeityje nebuvo skiepytas nuo EE, patvirtina literatūroje nurodomą EE vakcinacijos efektyvumą, tačiau, nepaisant to, vis dar stebimas sergamumo Lietuvoje didėjimas. Tik 16,3 proc. tiriamųjų turėjo aukštąjį išsilavinimą, o tai leidžia spekuliuoti, jog žemesnis išsilavinimo lygmuo gali predisponuoti rizikingesnę elgseną arba lemti mažesnę domėjimąsi sveikatos priežiūra ir profilaktikos galimybėmis.

Šio tyrimo metu pirmą kartą buvo panaudotos Glazgo išeičių ir Rankino skalės liekamųjų reiškinių ir negalios po EE įvertinimui. Kadangi abiejų skalų įverčiai koreliavo su ligos sunkumo forma ir atitiko anksčiau nustatytus ankstyvųjų liekamųjų reiškinių duomenis, įvertintus naudojant kitas metodologijas, šios skalės galėtų būti naudojamos pasekmėms vertinti [5]. Tai leistų palyginti tiek skirtingų neuroinfekcijų išeitį, tiek CNS infekcijų įtaką lyginant su kitomis neinfekcinėmis smegenų ligomis.

Optimalus laikas pakartotiniam būklės vertinimui po EE taip pat nėra aiškus, tačiau yra žinoma, kad sveikimo periodas trunka iki vienerių metų po ūmios ligos fazės [180]. Czupryna ir kt. [9] nustatytas palyginti nedidelis kiekis liekamųjų reiškinių praėjus 1 mėnesiui po EE sufleruoja, jog dalį subtilių kognityvinių sutrikimų pacientai gali pajauti tik praėjus kuriam laikui, su-

sidūrus su įvairiomis kasdienėmis ir nekasdienėmis situacijomis. Dabartinio tyrimo metu ilgalaikiai liekamieji reiškiniai ir jų pokyčiai laike įvertinti du kartus naudojant du atskirus metodus: registruoti tiek visi subjektyvūs nusi-skundimai, tiek objektyvūs neurologiniai radiniai bei pritaikytas Modifikuo-tos Rankino skalės vertinimo metodas. Gunther ir kt. 1997 metais atlikto ty-rimo duomenimis, ilgalaikės parėzės išliko 55,6 proc. atvejų (5/9) [4]. Mūsų atlikto tyrimo metu nustatyta, kad net praėjus 18 mėnesių po ūmios ligos fazės, septyniems iš dvylikos pacientų, kuriems buvo nustatytos įvairios parė-zės, išliko pažeistų galūnių funkcijų sutrikimai. Tai rodo didelę ilgalaikę EE įtaką tolimesnei gyvenimo kokybei. Nustatytas ilgą laiką išliekantis *n. vesti-bulocochlearis* pažeidimas atitinka dar 1999 metais aprašytus galvinių nervų pažeidimus, pabrėžiant jų trumpalaikiškumą, išskyrus klausos pažeidimus, disfagiją ir dizartrią [6]. Gana didelei imties daliai taip pat išliko tremoras bei ataksija, o subjektyvių nusiskundimų kategorijoje dominavo galvos skaus-mai, miego sutrikimai bei koncentracijos, atminties bei emocinės būklės pa-blogėjimas. Tačiau, nepaisant ilgai išliekančių objektyvių liekamųjų reiškinių bei subjektyvių simptomų, tik nedidelė dalis pacientų (4,9 proc.) klasifikuoti kaip turintys vidutinio sunkumo negalią naudojant MRS, o į sunkios negalios kategoriją nepateko nė vienas pacientas, nors ankstesnėje studijoje tokių paci-entų kiekis siekė iki 10 proc. [5]. Šis neatitikimas iš dalies gali būti sąlygotas gana mažo kiekio sunkaus EE atvejų šiame tyrime, taip pat nemažas kiekis pacientų į pakartotinius vizitus neatvyko ir nebuvo objektyviai įvertinti, nors visi sunkia forma sirgę pacientai sugrįžo šiam vertinimui. Taip pat siek tiek skyrėsi ir vertinimo metodika – ankstesniame mūsų tyrimo centre atliktame tyrime naudota sunkių liekamųjų reiškinių klasifikacija apytiksliai atitinka vi-dutinės bei vidutinės–sunkios formos negalią, o vidutinio sunkumo liekamieji reiškiniai – lengvą negalią MRS skalėje [5]. MRS skalė jau buvo panaudota liekamųjų reiškinių įtakos funkciniam pacientų pajėgumui įvertinti po EE, tačiau vertinimas buvo paremtas telefoninėmis pacientų apklausomis, o ne fiziniu neurologinės būklės ivertinimu [92]. Minėtoje studijoje praėjus trims mėnesiams po ligos 51 proc. pacientų įsivertino save 1–5 balais MRS skalėje, tuo tarpu mūsų tyrimo metu, praėjus šešiams mėnesiams tokių pacientų buvo net 71,4 proc.

Stebėta koreliacija tarp ligos sunkumo formos bei MRS, kaip ir GOS ir RS skalių išrašymo iš ligoninės metu. Tai leidžia daryti išvadą apie MRS tinkamumą ilgalaikėms pasekmėms vertinti, tačiau izoliuotas šios skalės nau-dojimas turėtų būti vertinamas atsargiai, nes stebėta atvejų, kai tiek naujai atsiradę simptomai, tiek regresuojantys liekamieji reiškiniai sveikimo perio-du neturėjo įtakos MRS skalės pokyčiams. Tai rodo nepakankamą šios skalės jautrumą subtiliems būklės pasikeitimams. Tęsiant MRS skalės taikymą lie-

kamiesiems reiškiniais vertinti, būtų tikslingas šio metodo kombinavimas su subjektyvių simptomų registravimu.

Pagrindinis šio tyrimo tikslas buvo ištirti pažintinių funkcijų sutrikimus po EE ir apibūdinti, kas sudaro šiuo metu naudojamą tiksliai neapibrėžtą terminą „poencefalitinis sindromas“. Tai padaryti bandoma jau kelis dešimtmečius, taikant didelės apimties ilgalaikio stebėjimo studijas [4–6,8,201]. Didelės apimties tyrimas Vokietijoje, kurio metu išanalizuota daugiau nei 500 EE atvejų, atskleidė, kad daugiau kaip 50 proc. pacientų nurodė išliekančias pasekmes, tokias kaip nuovargis (17,0 proc.), silpnumas (13,4 proc.), koncentracijos sutrikimas (13,0 proc.) bei pusiausvyros sutrikimai (12,0 proc.), praėjus 18 mėnesių po ūmios ligos [92]. Tuo tarpu Veje ir kt. nustatė, kad net ir praėjus keleriems metams (laikotarpio iki pakartotinio vizito mediana – 5,5 metų, n = 92) sirgusieji dažniau skundėsi atminties, vykdomųjų funkcijų bei dėmesio sutrikimais, palyginus su sveikų žmonių kontroline grupe [7], tačiau abi šios studijos taikė pacientų savęs vertinimo metodikas. Vienintelė iki šiol atlikta studija, įvertinusi pažintinių funkcijų sutrikimus po EE, buvo atlikta Gustaw-Rothenberg ir kt., kurios metu ištirti 40 pacientų, sirgusių sunkia EE forma, iš jų 55 proc. atitiko lengvo kognityvinio deficito kriterijus, o dažniausiai pažeistos sritys buvo atmintis bei kalba [42], tačiau buvo naudotas gana mažos apimties kognityvinis ištyrimas ir rezultatai negali būti tiesiogiai palyginti su dabartinio tyrimo rezultatais. Dabartinio tyrimo metu nustatyta, kad kai kurios pažintinių funkcijų sritys, tokios kaip apdorojimo greitis, žodinis mokymasis bei vaizdinis mokymasis, po persirgto EE buvo reikšmingai dažniau sutrikę, lyginant su sveikų žmonių kontroline grupe. 2012 metais Eike-land ir kt. nustatyti Laimo neuroboreliozės sirgusiųjų pacientų pažintinių funkcijų pažeidimai buvo beveik identiškai mūsų rezultatams – abiejų tyrimų metu nustatyti reikšmingai prastesni vaizdinės bei žodinės atminties ir apdorojimo greičio testų rezultatai, nors ir buvo naudoti skirtingi tyrimo įrankiai. Įdomus faktas, jog minėtasis tyrimas atliktas praėjus net 30 mėnesių po neuroboreliozės gydymo, tuo tarpu mūsų tyrimo metu šie pokyčiai nustatyti praėjus tik 6 mėnesiams po EE, o praėjus 18 mėnesių – skirtumų nustatyta nebebuvo [204]. Itin svarbu paminėti, kad būtent jauniausioje amžiaus grupėje nustatyti ženkliausi pakitimai, o skirtumai nustatyti net šešiose iš septynių tirtų sričių, o labiausiai – dėmesio/budrumo bei darbinės atminties srityse. Šie duomenys gali būti paaiškinti tuo, jog senstant stebimas natūralus pažintinių funkcijų prastėjimas, todėl lyginant vyresnes amžiaus grupes dažnai reikšmingas skirtumas nebeužstatomas, o jauname amžiuje EE sukelti pažintiniai sutrikimai sudaro itin didelį kontrastą. Tai kelia nerimą, nes labiausiai pažeidžiama produktyviausia, darbingo amžiaus bei didelio intelektualinio potencialo žmonių grupė. Šiek tiek netikėtas rezultatas, kad pacientai, sirgę lengvesnėmis ligos formomis, gavo blogesnius įverčius su atmintimi susijusių pažintinių funkcijų

sirtyse (darbinė atmintis, vaizdinis ir žodinis mokymasis), lyginant su vidutinio sunkumo ir sunkios formos grupe. Remiantis šiais duomenimis manoma, kad net ir lengvos EE formos gali sukelti metabolinius CNS pakitimus, nulemiančius ilgalaikį poveikį pažintinėms funkcijoms, tokioms kaip atmintis. Panašios tendencijos stebėtos ir praeityje atliktuose tyrimuose: Günther ir kt. atlikto tyrimo metu 28 proc. EE sirgusių pacientų pranešė apie išliekančius simptomus praėjus vieneriems metams po ligos, o dažniausi nusiskundimai buvo būtent atminties ir koncentracijos problemos [4]. 2002 metais Mickienė ir kt. taip pat nustatė nevisišką pasveikimą ~30 proc. lengva EE forma sirgusių pacientų [5]. Geriausios kokybės ir didžiausios apimties tyrimo metodiką neuroinfekcijų srityje pritaikęs tyrimas iki šiol buvo atliktas 2019 metais Quist-Paulsen ir kt. [203]. Lyginant dabartinėje studijoje gautus rezultatus su minėtos studijos rezultatais, nustatyti tam tikri panašumai, nes abiejuose tyrimuose išmatuoti prastesni rezultatai apdorojimo greičio/psichomotorinio greičio srityse (šiam įvertinimui naudoti panašūs ir kai kurie tie patys testai) bei vaizdinio ir žodinio mokymosi srityse. Tikslus palyginimas negalimas, nes minėtame tyrime nebuvo įtraukti EE sirgę pacientai, o pats vertinimas atliktas praėjus 12 mėnesių po ligos. Šiuos neuropsichiatrinis sutrikimus autoriai aiškina kaip galimai sukeltus kinurenino kelio aktyvacijos, kurio metabolitai gali turėti tiek neurotoksinį, tiek apsauginį poveikį. Praeityje atliktų studijų metu nustatyta šio kelio aktyvacija ir EE metu [143]. Mūsų tyrimo metu nustatyti sutrikimai praėjus 6 mėnesiams po EE, o praėjus 18 mėnesių skirtumų lyginant su kontroline grupe nebenustatyta. Quist-Paulsen ir kt. tyrimo metu pakitimai nustatyti tik encefalitu, o ne meningitu sirgusių pacientų grupėje. Mes gavome priešingus rezultatus, kai nustatėme, kad darbinės atminties, vaizdinio mokymosi ir žodinio mokymosi rezultatai buvo prastesni būtent lengvesne EE forma (meningitu) sirgusiems pacientams. Tai leidžia įtarti skirtingos etiologijos neuroinfekcijų patogenezės skirtumus. Keli pažintinių funkcijų tyrimai vaikų populiacijoje po EE nustatė įvairius pažeidimus: Schmolck ir kt. nustatė dėmesio bei psichomotorinio greičio sutrikimus, Engman ir kt. aprašė suvokimo, atminties, emocijų bei vykdomųjų funkcijų problemas, o Ullman ir kt. – darbinės atminties deficitą [94,270,271]. Įdomu tai, jog dabartinio tyrimo metu dėmesio/budrumo bei darbinės atminties sutrikimai buvo ryškiausi būtent jauniausioje amžiaus grupėje. Nepaisant reikšmingai pagerėjusių pažintinių funkcijų praėjus 18 mėnesių po ūmios EE fazės, didelė tiriamosios imties dalis vis dar skundėsi išliekančiais subjektyviais simptomais. Ši pacientų grupė dažniau gavo blogesnius įvairius apdorojimo greičio bei socialinio pažinimo srityse. Paradoksalu, tačiau pacientams, kurie skundėsi specifiskai atminties sutrikimais, nebuvo nustatyta reikšmingo skirtumo su atmintimi susijusių kognityvinių testų rezultatuose. Tai, jog subjektyvūs simptomai kartais neatitinka objektyvaus neurokognityvinio ištyri-

mo rezultatų, yra žinomas fenomenas ir parodo du aspektus: pirma, pacientai dažnai nesugeba tiksliai suvokti ir komunikuoti pažintinių funkcijų sutrikimų, antra, objektyvūs testai ne visada gali aptikti subtilius sutrikimus, su kuriais žmonės gali susidurti tik kompleksinėse realaus gyvenimo situacijose. Šie faktai parodo, jog tiek objektyvus kognityvinis ištyrimas, tiek subjektyvūs pacientų nusiskundimai yra vienodai svarbūs vertinant bendrą ilgalaikių liekamųjų reiškinų vaizdą ir siekiant sukurti tolimesnę tokių pacientų priežiūros sistemą [272]. Deja, iki šiol aprašyti tik pavieniai atvejai, kurių metu taikyta neuropsichiatrinė rehabilitacija po EE [207].

Šis tyrimas yra pirmasis didelės apimties biožymenų tyrimas EE sergančiųjų pacientų tarpe. Tyrimo metu nustatytas ryšys tarp EE sunkumo formos ir smegenų pažaidos biožymenų – NFL, YKL-40, S-100B, GFAP bei Tau baltymo. Didesni kiekiai nustatyti sergant sunkia forma, o tai atspindi tiek tiesioginę neuronų pažaidą, tiek didesnę uždegiminį atsaką dėl glijos aktyvacijos. Padidėjęs GFAP kiekis likvoro patvirtina anksčiau atlikto mažesnės apimties tyrimo Švedijoje duomenis [257]. Toks pats ryšys nustatytas ir ištyrus NFL bei GFAP koncentracijas serume. Šie rezultatai atitinka anksčiau publikuotus duomenis iš pomirtinių tyrimų, kurių metu nustatyti tiek neuronų pažeidimai, tiek astroglijos bei mikroglijos proliferaciniai pakitimai [107]. Nepaisant to, kad anksčiau astrocitų svarba buvo mažiau akcentuojama, pastaruoju metu jie siejami su daugeliu CNS procesų, tokių kaip neurotransmisija, imuninio atsako reguliavimas bei struktūrinė funkcija [273]. Buvo nustatytas kai kurių biožymenų ryšys su nugarinių nervų pažeidimu, tačiau ši imties dalis buvo gana maža ( $n = 12$ ), todėl reikalingas šių duomenų patvirtinimas kitose studijose. Šio tyrimo imtyje likvoro YKL-40 koncentracijos taip pat buvo didesnės sunkesnėmis formomis sirgusiųjų tarpe, o šie duomenys prieštarauja Lenkijoje atlikto tyrimo rezultatams, kuriuose YKL-40 koncentracija smegenų skystyje labiau padidėjo meningoencefalitu sergantiems, lyginant su sirgusiais meningoencefalitu [29]. Šie skirtumai gali būti aiškinami labai skirtingomis tyrimo imtimis. Serumo bei likvoro NFL koncentracijų koreliacija jau žinoma kurį laiką, tuo tarpu toks pats ryšys tarp likvoro ir serumo GFAP kiekio šio tyrimo metu nustatytas pirmą kartą [247]. Priešingai, serumo S-100B kiekis neturėjo ryšio su likvoro koncentracijomis. Specifiškai išanalizavus grupę pacientų, kuriems EE metu pasireiškė sąmonės sutrikimas ( $GKS < 15$  b.), nustatytas ryšys su likvoro YKL-40, GFAP bei Tau baltymo koncentracijomis bei serumo S-100B ir GFAP kiekiais. Šie rezultatai leidžia manyti, kad sąmonės sutrikimai EE metu yra daugiau nulemti glijos aktyvacijos ir uždegiminio atsako nei tiesioginio viruso poveikio neuronams. 2022 metais Čekijoje atlikto tyrimo metu buvo ištirti neurofilamento sunkiosios grandinės kiekiai EE sirgusių pacientų likvoro ir nustatytas ryšys su ligos sunkumu, gydymo trukme bei gydymo intensyviosios terapijos skyriuje poreikiu [28]. Dabartinio tyrimo

metu šis žymuo ištirtas nebuvo, tačiau atlikę ROC analizę įvertinome mūsų tirtų biožymenų prognostinę vertę šiems faktoriams. NFL ir GFAP kiekio likvoro bei GFAP kiekio serume nustatymas turi reikšmingą vertę diferencijuojant sunkią EE formą nuo lengvos bei vidutinio sunkumo, tačiau šių tyrimų praktinė vertė ribota, nes tik nedidelė dalis EE atvejų progresuoja į sunkią formą gydymo eigoje, o laboratorinės tyrimų reikšmės negali pakeisti klinikinės ligos sunkumo klasifikacijos. Tuo tarpu YKL-40 ir GFAP kiekis likvoro bei GFAP kiekis serume turi prognostinę reikšmę vertinant galimus sąmonės sutrikimus EE metu. GFAP kiekio tiek likvoro, tiek serume nustatymas yra tinkamas gydymo intensyvios terapijos skyriuje poreikiui prognozuoti. Apibendrinant šiuos rezultatus, serumo GFAP kiekis atrodo kaip daugiausiai žadantis prognostinis žymuo, nes serumo mėginiai yra daug lengviau prieinami nei likvoro, o vieno žymens skirtingi kiekiai buvo tinkami prognozuoti net kelis EE eigos aspektus.

Kita svarbi šio tyrimo dalis buvo šių biožymenų ryšio su kognityvinių funkcijų sutrikimais nustatymas. Likvoro NFL, GFAP bei YKL-40 kiekiai buvo reikšmingai susiję su daugeliu pažintinių funkcijų sričių tiek pirmo, tiek antrojo pakartotinio vizito metu, tai leidžia daryti prielaidą, jog tiek neuro-nų aksoninis pažeidimas, tiek glijos aktyvacijos procesai yra svarbūs ilgalaikiams liekamiesiems kognityvinių funkcijų pažeidimams. Didesni likvoro GFAP kiekiai turėjo ryšį su sumažėjusiu apdorojimo greičiu, prastesne darbine atmintimi, žodiniu mokymusi, socialiniu pažinimu bei neurokognityvinio ir bendro kognityvinio balo rezultatais abiejų vertinimų metu. Serumo kiekiai koreliavo tik su apdorojimo greičiu ir socialinio pažinimo sritimi pirmojo vizito metu bei žodiniu mokymusi – antrojo. Panaši tendencija stebėta ir vertinant NFL ryšį su pažintinėmis funkcijomis – didesni NFL kiekiai buvo susiję su lėtesniu apdorojimo greičiu, prastesniu žodiniu mokymusi bei socialiniu pažinimu. Didesnės YKL-40 koncentracijos likvoro turėjo ryšį su prastesniais žodinio mokymosi rezultatais bei socialinio pažinimo testų rezultatais. Šiek tiek netikėta tai, jog kai kuriais atvejais nustatytas ryšys su kognityviniais rezultatais tik antrojo vizito metu, nors šio vertinimo metu gauti žymiai geresni tiriamųjų rezultatai visose srityse. Vertinant tai, jog ir socialinio pažinimo rezultatai nuo kontrolinės grupės ryškiai nesiskyrė, neatmestinas ir atsitiktinės koreliacijos nustatymas.

Atlikus autoimuninių antikūnų pacientų serumo mėginiuose analizę, jokių autoimuninių antikūnų nenustatyta. Nepaisant to, kad šių encefalitų diagnostikai taikomi tiek serumo, tiek likvoro mėginiai, šiuo metu turimi duomenys leidžia manyti, kad smegenų skysčio mėginiai pasižymi didesniu jautrumu. Mūsų gauti rezultatai leidžia manyti, kad EE greičiausiai neindukuoja autoimuninių antikūnų produkcijos, o išliekantys arba naujai atsirandantys neuropsichiatriniai simptomai yra sukeliama kitų mechanizmų. Nors iki šios

studijos atlikimo buvo publikuotas tik vienas autoimuninio encefalito atvejis, siejamas su EE, neseniai pranešta apie antrąjį atvejį, todėl visai atmesti šios hipotezės negalima ir būtina tęsti stebėseną po EE, o atsiradus klinikiniam autoimuninio encefalito įtarimui tirti tiek pacientų serumo, tiek likvoro mėginius. Taip pat rekomenduojamas platesnio spektro autoantikūnų ištyrimas.

Pagrindiniai šio tyrimo privalumai – perspektyvinis tyrimo pobūdis bei kiekybinis pažintinių funkcijų įvertinimas naudojant itin aukštos kokybės, didelės apimties įrankį – MCCB testų rinkinį, kuris yra tinkamas šioms funkcijoms vertinti kiekybiškai. Selektyvumo riziką mažina faktas, jog buvo skringuoti visi ir įtraukti praktiškai visi EE sirgę pacientai vienerių metų laikotarpiu, o tyrėjų grupė turėjo ilgalaikę patirtį EE mokslinių tyrimų srityje. Laikantis MCCB tyrimo metodikos reikalavimų, šie specifiniai vertinimai atlikti kvalifikuotų licencijuotų psichologų. Priešingai dažnai naudojamam apklausos telefonu metodui, pacientų būklė ir ilgalaikiai liekamieji reiškiniai įvertinti objektyviai gyvo susitikimo metu, o tai padidina šio vertinimo tikslumą.

Pagrindinis šio tyrimo trūkumas buvo tai, jog nemažas kiekis pacientų dėl įvairių priežasčių neatvyko pakartotinių vizitų. Į pirmąjį pakartotinį vizitą atsisakė atvykti 21 tiriamasis (21,4 proc.), tuo tarpu į pakartotinį – dar 16 (16,3 proc.). Didžiausią įtaką sprendimui neatvykti padarė COVID-19 pandemija ir jos metu taikyti daliniai arba griežti judėjimo apribojimai bei pacientų nenoras vykti į gydymo įstaigą, kurioje gydomi ir COVID-19 pacientai. Iš dalies dėl jau minėtų priežasčių, taip pat ir dėl asmeninių pacientų pasirinkimų laikotarpiai tarp išrašymo iš stacionaro bei abiejų pakartotinių apsilankymų šiek tiek skyrėsi, o tai galėjo turėti įtakos duomenų variabilumui. Taip pat svarbus faktas yra tai, jog didžiosios dalies tiriamosios imties kognityvinis vertinimas atliktas iki plataus COVID-19 infekcijos paplitimo, tuo tarpu kontrolinė grupė vertinta vėlesniu laikotarpiu ir dalis šios grupės galėjo sirgti tiek simptomine, tiek besimptome COVID-19 forma. Ši informacija svarbi, nes dabar jau žinoma, kad COVID-19 taip pat gali lemti neurokognityvinius liekamuosius reiškinius, tačiau duomenys apie COVID-19 infekciją anamnezėje kontrolinės grupės tiriamiesiems nebuvo surinkti [274].

Apibendrinant, buvo atliktas didelės apimties tyrimas, kurio metu kartu su laiko patikrintais būdais buvo pritaikyti ir nauji pacientų tyrimo metodai. Buvo nustatyti nauji EE patogenezei svarbūs duomenys, kurie bus naudingi tolimesniuose tyrimuose siekiant sukurti efektyvų gydymą. Tyrimo duomenys aiškiai rodo naujų papildomų reabilitacinių priemonių bei išplėstinės laboratorinės EE diagnostikos poreikį. Kol efektyvus gydymas nėra prieinamas, būtina aktyviai plėsti populiacijos vakcinacijos apimtį ir didinti visuomenės švietimą apie EE.



## IŠVADOS

1. EE sirgusių pacientų amžiaus vidurkis buvo 52 metai, beveik du trečdaliai buvo darbingo amžiaus, visi pacientai buvo visiškai savarankiški iki ligos. Kas antram pacientui nustatyta encefalitinė ligos forma, 8 proc. – sunkus encefalitas, 12 proc. sirgusiųjų nustatyta nugaros nervų parėzė ir/ar galvinių nervų pažeida.
2. Išrašant iš stacionaro, ketvirtadaliui sirgusiųjų nustatyti vidutinio sunkumo ir sunkūs liekamieji reiškiniai (pagal GOS), trečdaliui – įvairaus sunkumo negalia (pagal RS). Po 6 mėnesių ir 1,5 metų vidutinė arba nežymi negalia (pagal MRS) nustatyta 22 proc. pacientų. GOS, RS ir MRS skalių rezultatai koreliavo su ligos sunkumo forma ūmioje ligos fazėje. Po 1,5 metų nugaros nervų parėzė ir galvinių nervų pažeida išliko atitinkamai 58 proc. ir 33 proc. pacientų, šiuos požymius turėjusių ūmioje ligos fazėje.
3. Erkinio encefalitu persirgusiems pacientams po 6 mėnesių nustatytas reikšmingas informacijos apdorojimo greičio, vaizdinio ir žodinio mokymosi pablogėjimas. Jaunesnių nei 40 metų pacientų grupėje, lyginant su kontroline grupe, buvo pažeistos 6 iš 7 tirtų pažintinių funkcijų sritys, ypač dėmesio išlaikymas bei darbinė atmintis. Vyresnių nei 60 metų pacientų grupėje, lyginant su kontroline grupe, reikšmingi pakitimai nustatyti žodinio mokymosi srityje. Lengva (meningitine) EE forma sirgę pacientai turėjo reikšmingą žodinio ir vaizdinio mokymosi sutrikimą, lyginant su kontroline grupe. Po 1,5 metų visos tirtos pažintinės funkcijos pagerėjo ir nesiskyrė nuo kontrolinės grupės asmenų.
4. Ūmioje ligos fazėje pacientų smegenų skystyje nustatyti neuronų pažeidos (NFL), glijos aktyvacijos (GFAP, YKL-40, S-100B) ir neurodegeneracijos (Tau) žymenys ir reikšminga jų sąsaja su ligos sunkumo forma, NFL, GFAP ir S-100B – su nugaros nervų pažeida. Nustatyta atitinkamai stipri ir vidutinė koreliacija tarp NFL ir GFAP kiekio smegenų skystyje ir kraujyje bei jų kiekio kraujyje sąsaja su ligos sunkumu ir nugaros nervų pažeida. Nustatytas YKL-40 kiekis likvoro, leidžiantis prognozuoti sąmonės sutrikimą ligos eigoje, bei GFAP kiekiai likvoro ir kraujyje – sąmonės sutrikimą ir gydymo intensyvios terapijos skyriuje poreikį. Nustatyta reikšminga sąsaja tarp serumo NFL, serumo ir likvoro GFAP kiekio ūmioje ligos fazėje ir išlikusios negalios po 1,5 metų.
5. Autoimuninių encefalitų antikūnų anti-NMDAR, anti-CASPR-2, anti-AMPA 1/2, anti-LGI-1, anti-DPPX, anti-GABAR B1/B2 kraujyje ūmioje ligos fazėje ir po 6 mėnesių neurologinių ir neurokognityvinių pasekmių turintiems pacientams nebuvo nustatyta.

## PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

1. Kadangi didelei daliai pacientų po 6 mėnesių ir po 1,5 metų buvo nustatyti ne tik negalia sąlygojantys neurologiniai liekamieji reiškiniai, bet ir akivaizdūs pažintinių funkcijų sutrikimai, ryškiausi apdoravimo greičio, vaizdinio ir žodinio mokymosi srityse, būtina ne tik įtraukti pažintinių funkcijų vertinimą į rutininę EE persirgusių pacientų priežiūrą, bet ir kurti bei taikyti kognityvinių funkcijų gerinimo metodikas, nes nukenčia jauni žmonės, pažintinių funkcijų atsistatymas užtrunka, o intervencijos tą periodą galėtų sutrumpinti. Kognityvinių funkcijų gerinimas turėtų būti taikomas visų amžiaus grupių pacientams, nepaisant to, kad tyrimas kai kuriose grupėse reikšmingo skirtumo neparodė.
2. Įdiegti NFL ir GFAP tyrimus kraujyje ir likvore į rutininę praktiką, nes pagal jų rezultatus galima numatyti, kuriems pacientams gresia sąmonės sutrikimas, gydymo intensyvios terapijos skyriuje poreikis, ilgalaikis neįgalumas bei tam tikrų kognityvinių funkcijų pažeidimas. Vertinant šių žymenų koncentracijų koreliaciją likvore bei kraujyje, ypač didelę reikšmę turi šių žymenų nustatymas kraujyje, dėl lengvesnio tiriamosios medžiagos prieinamumo. Taip pat šių žymenų nustatymas gali padėti selektyviai atrinkti pacientus tiek tolimesnei intensyviai fizinei, tiek neurokognityvinei reabilitacijai.
3. Tęsti autoimuninių encefalitų antikūnų paieškos tyrimus po persirgto EE tikslinėse pacientų grupėse, kuriose pasireiškia autoimuniniams encefalitams būdingi klinikiniai požymiai, nes šio tyrimo rezultatai nepaneigia autoimuninio pažeidimo po EE galimybės. Vertinant tyrimų specifiką, rekomenduojami autoimuninių antikūnų tyrimai tiek serume, tiek smegenų skystyje.
4. Didėjant vakcinacijos apimtims, turint omenyje 2024 metų rudenį prasidėsiančią Valstybės lėšomis vykdomą skiepijimo nuo EE programą, didės ir nepilnai paskiepytų bei praleidusių sustiprinamąsias dozes asmenų skaičius. Tokiems pacientams EE diagnozės serologiniais kraujo tyrimais nustatyti negalima, būtina nustatyti intratekalinių antikūnų sintezę smegenų skystyje. Šiuo metu šis tyrimas nėra atliekamas visose gydymo įstaigose, todėl būtina gerinti šio diagnostikos metodo prieinamumą.
5. Kadangi veiksmingo gydymo kol kas nėra, tikslinga skatinti individualią vakcinaciją ir siekti užtikrinti valstybės finansuojamą EE vakcinaciją didesnei populiacijos daliai nei šiuo metu numatyta, nes tai yra vienintelė priemonė sumažinti šios sunkios ir ilgalaikės pasekmės turinčios ligos naštą žmonėms ir visuomenei.

# SANTRAUKA

## 1. INTRODUCTION

Tick-borne encephalitis (TBE) is one of the most important viral vector-borne central nervous system (CNS) infections in Europe and parts of Asia. It is caused by tick-borne encephalitis virus (TBEV) which belongs to the *Flavivirus* genus of the *Flaviviridae* family. 3734 cases were reported in the EU/EEA in 2020 (0.9/100,000) and the incidence is currently the highest in Lithuania (24.3/100,000), followed by Slovenia (8.9/100,000), Czechia (7.9/100,000) and Latvia (7.8/100,000) [1]. Tick bites are the most common route of transmission, however, it can also be transmitted via alimentary route through unpasteurized milk products [78,79].

The majority of infections are suspected to be asymptomatic [2,3], but symptomatic TBE can manifest as meningitis, meningoencephalitis, meningoencephalomyelitis or myeloradiculitis and can affect spinal and cranial nerves [4–6]. Even though mortality is relatively low [5,6,9,10], the severity of TBE causes a huge medical, social and economic impact on the patient, his family, the health care system and the whole society.

Studies on long-term sequelae, which have been performed since late 1990s, clearly show long-term impact of TBE with sequelae persisting in around one third of the patients [4–6]. It is known that patients with TBE develop not only objective neurological signs but also the so called “post-encephalitic syndrome”, which manifests with various subjective symptoms and neurocognitive impairment. Previous data about neurocognitive consequences after TBE, however, is based on low sensitivity cognitive screening instruments and patients’ self-report rather than comprehensive neuropsychological assessment [5–7].

Even though TBEV was first discovered back in 1937, to date no antiviral treatment exists, whereas the pathogenesis and exact mechanisms responsible for the long-term sequelae remain poorly understood. Routine CSF and blood analyses or imaging studies are unable to predict the course and severity of TBE, as well as long-term outcomes [11]. Various biomarkers, reflecting the damage to neurons and glial cells have been studied as potential prognostic factors in different CNS disorders, such as ischaemic brain disease, traumatic brain injury or neurodegenerative diseases [13–22]. In neuroinfections, these markers have mainly been investigated in herpetic (*HSV-1*, *VZV*) encephalitis [23,24], whereas studies on other etiologies had begun only recently and focused on single biomarkers or were limited by small sample sizes [25–29].

Over a decade ago it has been established that various infectious diseases can trigger the autoimmunity of the brain. The most explored phenomenon

of this nature is anti-NMDAR encephalitis, which is mainly observed after *HSV-1* encephalitis [30,31]. Even though there have already been two case reports about anti-NMDAR encephalitis after TBE, systematic studies on autoimmune processes after TBE are still not available [39,40]. As autoimmune encephalitides usually manifest with a subacute course and cognitive impairment, and part of them can be successfully treated with immunomodulatory medications [41], new data on these processes after TBE would be extremely valuable.

## **2. AIM AND OBJECTIVES OF THE STUDY**

### **2.1. The aim of the study**

To determine the characteristics and prevalence of long-term sequelae after TBE in adults and to evaluate the importance of certain brain damage biomarkers for the severity of TBE and the development of sequelae.

### **2.2. Objectives of the study**

1. To determine the sociodemographic characteristics of tick-borne encephalitis patients and the severity of tick-borne encephalitis during the acute phase.
2. To characterize the recovery process after TBE and to determine the sequelae that causes disability after 1.5 years.
3. To measure and characterize the neurocognitive sequelae after TBE in different cognitive domains.
4. To analyse the neuronal and neuroglial damage biomarkers in the CSF and blood samples during the acute phase of TBE and to determine their relation to disease severity and long-term sequelae.
5. To search for autoimmune encephalitis antibodies in the blood samples during the acute phase of TBE and after 6 months in patients with neurological and cognitive sequelae.

## **3. SCIENTIFIC NOVELTY AND RELEVANCE OF THE STUDY**

In this study, the most thorough neurocognitive evaluation after TBE in adults to date was performed, using a standardized test battery and the change of impairment over time was also measured.

A wide variety of brain damage biomarkers, reflecting the damage to neurons, glial cells and synapses was analysed in both CSF and blood samples.

Their prognostic value to determine the course and severity of TBE and their relation to long-term sequelae was evaluated.

In the current study, in addition to anti-NMDAR, a panel of other autoimmune encephalitis antibodies (anti-CASPR-2, anti-AMPA1/2, anti-LGI-1, anti-DPPX and anti-GABA<sub>B</sub>R1/2) was analysed in blood samples after TBE for the first time.

Due to the fact that knowledge on neurocognitive sequelae after TBE is still lacking and their precise determination is essential for evidence-based follow-up methodology and personalized rehabilitation development, the results of this study will be beneficial for the implementation of standardized long-term care and the development of guidelines and assistance/rehabilitation system.

The results of biomarkers analysis will broaden the knowledge about the pathogenesis of TBE which is crucial for further treatment research. The possible detection of autoimmune processes after TBE might be an important step forward towards understanding the pathogenesis of persisting, progressing and newly developed symptoms after TBE. The fact that autoimmune processes of the brain can, in most cases, be successfully treated immunomodulatory medications, provides a possibility to substitute a low-efficacy symptomatic treatment with pathogenetic therapy in case such processes are confirmed.

## **4. MATERIALS AND METHODS**

### **4.1. Ethical aspects**

This study was approved by Kaunas Regional Bioethics Committee (protocol number BE-2-45). The research was conducted in accordance with the ethics code of World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments including humans [267]. All participants gave written consent to use their data for scientific purposes.

### **4.2. Study population**

All consecutive adult ( $\geq 18$  years) TBE patients, hospitalised to the Department of Infectious Diseases at Lithuanian University of Health Sciences Kaunas Clinical Hospital between 2018 06 01 and 2019 05 31 were included. Inclusion criteria: clinical signs of CNS infection, CSF cell count  $\geq 5/\text{mm}^3$ , and positive TBEV IgM and IgG in serum using ELISA method. The patients were classified into three severity groups using pre-defined criteria: mild disease was classified as producing primarily meningeal symptoms (fever, headache, neck stiffness, nausea and vomiting), moderate – manifesting with monofocal encephalitic symptoms (ataxia, dysphasia, tremor, single

cranial nerve paralysis and/or moderate diffuse brain dysfunction (Glasgow Coma Scale (GCS) score 14-10)), and severe – presenting with multifocal encephalitic symptoms and/or GCS score  $\leq 9$ . Spinal nerve damage was defined as a separate clinical entity, independent from the presence and severity of encephalitic symptoms.

### **4.3. Outcome measurements**

The sequelae on discharge were graded using Glasgow Outcome Scale (GOS) and Rankin Scale (RS). Long-term sequelae were measured using Modified Rankin Scale (MRS), together with subjective symptoms and objective neurological findings.

### **4.4. Cognitive evaluation during follow-up visits**

Cognitive functions were evaluated during two follow-up visits (after 6 and 18 months) using *Matrix Consensus Cognitive Battery (MCCB)*, comprised of ten neuropsychological tests, measuring seven different cognitive domains: speed of processing, attention/vigilance, working memory, verbal learning, visual learning, reasoning/problem solving and social cognition [268,269]. All tests were carried out by licenced psychologists and took one to one-and-a-half hour on average for each patient.

### **4.5. Sampling and storage of biological materials**

CSF and blood samples were obtained during admission (day 0–3). Additional blood samples were drawn on discharge and during follow-up visits. Coded samples were frozen and stored at  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  with constant monitoring.

#### **4.5.1. Brain damage biomarkers**

The methods used for brain damage biomarkers analysis are displayed in Table 4.5.1.1.

**Table 4.5.1.1.** *The methods used for brain damage biomarkers analysis*

Biomarker	Sampled material	Analysis method
<b>Neuronal damage markers</b>		
<i>Neurofilament (NFL)</i>	CSF	In-house ELISA method of the laboratory of the Infectious Disease Department at Gothenburg University, Sweden.
	Serum	Single molecule array (SiMoA) platform and digital ELISA technology (Quanterix, Billerica, Massachusetts, USA).
<i>Neurogranin</i>	CSF	In-house ELISA method of the laboratory of the Infectious Disease Department at Gothenburg University, Sweden.
<b>Neuroglial damage markers</b>		
<i>Glial fibrillary acidic protein (GFAP)</i>	CSF	In-house ELISA method of the laboratory of the Infectious Disease Department at Gothenburg University, Sweden.
	Serum	GFAP “Discovery Kit for Simoa” (Quanterix).
<i>S-100B</i>	CSF	S-100B reagent kit (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).
	Serum	S-100B reagent kit (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).
<i>YKL-40</i>	CSF	ELISA method (R&D Systems, Minneapolis, USA).
<b>Neurodegeneration marker (detected both in neurons and glial cells)</b>		
<i>TAU protein</i>	CSF	INNOTEST ELISA (Fujirebio, Ghent, Belgium)

#### 4.5.2. Analysis of autoimmune antibodies

Serum samples were analysed for anti-NMDAR, anti-CASPR-2 (*contactin-associated protein-like 2*), anti-AMPA 1/2 (*alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*), anti-LGI-1 (*leucine-rich glioma inactivated-1*), anti-DPPX (*dipeptidyl-peptidase-like protein 6*) and anti-GABAR B1/B2 (*gamma-aminobutyric acid*) antibodies at the laboratory of the Department of Immunology at Lithuanian University of Health Sciences Hospital Kaunas Clinics using indirect immunofluorescence method (Euroimmun, Germany).

#### 4.6. Statistical methods

For statistical calculations, IBM SPSS Statistics 22 and R packages were used.  $P < 0.05$  was considered statistically significant. The normality of variables was evaluated using Shapiro-Wilk criterion for continuous variables. Comparison between groups was performed using Student’s t-test, ANOVA for normally distributed variables and nonparametric Mann-

Whitney U and Kruskal-Wallis tests for non-normally distributed variables. To determine the dependency of categorical variables,  $\chi^2$  was used. Paired samples t-test was used to determine the change of dependent variables over time. To measure the effect size for dependent variables Cohen's d was used. Correlations were determined using Pearson's and Spearman's criteria as well as partial correlation method. Post-hoc analysis was performed using Tukey's test in ANOVA and Bonferroni method to adjust for multiple testing for nonparametric tests. The prognostic values of biomarkers were measured using ROC (*Receiver Operator Characteristic*) curves analysis method.

## 5. MAIN RESULTS

### 5.1. Demographic data

The demographic data of the patients is displayed in Table 5.1.1.

**Table 5.1.1.** *The demographic data of the patients*

Demographic data	n (%)
Gender:	
Male	59 (60.2)
Female	39 (39.8)
Age (average, SD)	52.12 (SD 16.62, min. 18, max. 86)
Work status:	
Active worker	45 (45.9)
Unemployed, active working age	15 (15.3)
Student	3 (3.1)
Retired	31 (31.6)
Unkown	4 (4.1)
Education:	
High school/lower	38 (38.8)
Vocational/Higher	41 (41.8)
University/College	16 (16.3)
Unknown	3 (3.1)

### 5.2. Clinical manifestations during the acute phase

In 72.5 % (n = 71) of the cases, the disease manifested with biphasic course, in 25.5 % (n = 25) – as monophasic, 2 % (n = 2) of the patients could not specify. 52 patients (53.1 %) were classified as experiencing a mild form of infection (meningitis), 38 (38.8 %) as having a moderate course of TBE, and 8 (8.2 %) had severe encephalitis. All objective neurological signs and subjective symptoms are displayed in Tables 5.2.1 and 5.2.2.



**Table 5.2.1.** Objective neurological signs during the acute phase and during discharge (n = 98)

Objective neurological signs	Acute phase	Discharge
	n (%)	n (%)
At least one objective sign	87 (88.8)	45 (45.9)
Fever	98 (100.0)	0 (0.0)
Nausea/vomiting	60 (61.2)	0 (0.0)
Neck stiffness	32 (32.7)	0 (0.0)
Consciousness impairment	15 (15.3)	0 (0.0)
Tremor	38 (38.8)	22 (22.4)
Ataxia	50 (51.0)	22 (22.4)
Sensory disorder	7 (7.1)	1 (1.0)
Spinal nerve damage	12 (12.2)	12 (12.2)
<i>Monoparesis</i>	8 (8.2)	8 (8.2)
<i>Paraparesis</i>	2 (2.0)	2 (2.0)
<i>Tetraparesis</i>	1 (1.0)	1 (1.0)
<i>Erectile dysfunction</i>	1 (1.0)	1 (1.0)
Cranial nerve damage	12 (12.2)	8 (8.2)
<i>N. oculomotorius</i>	5 (5.1)	2 (2.0)
<i>N. vestibulocochlearis</i>	4 (4.1)	4 (4.1)
<i>N. facialis</i>	2 (2.0)	1 (1.0)
<i>N. hypoglossus</i>	1 (1.0)	1 (1.0)
Cerebellar syndrome	24 (24.5)	5 (5.1)
Dysphasia	7 (7.1)	4 (4.1)
Central paresis	0 (0.0)	0 (0.0)
Bulbar syndrome	1 (1.0)	1 (1.0)
Bladder dysfunction	2 (2.0)	2 (2.0)

**Table 5.2.2.** Subjective symptoms during the acute phase and during discharge (n = 98)

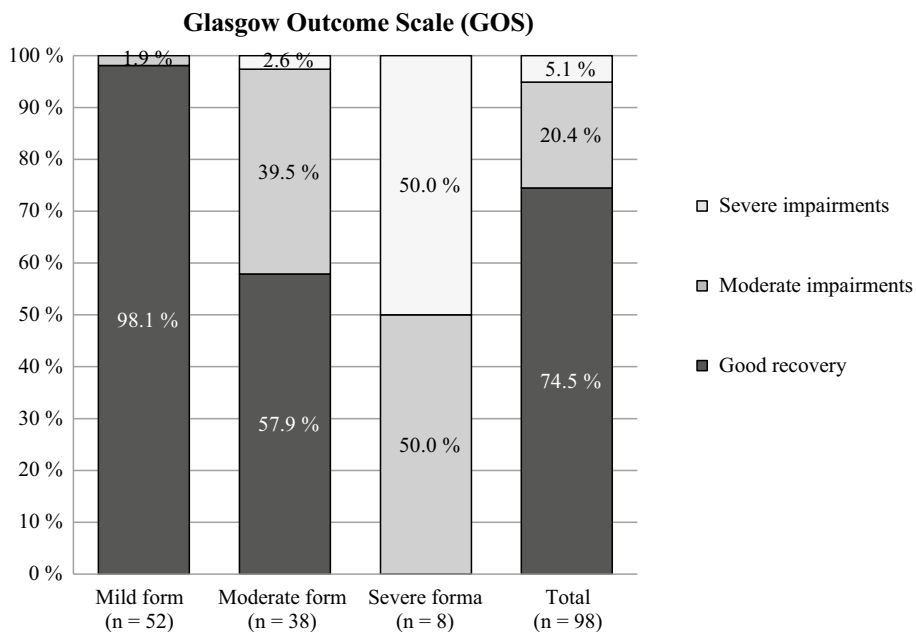
Subjective symptoms	Acute phase	Discharge
	n (%)	n (%)
At least one subjective symptom	98 (100.0)	60 (61.2)
Dysexecutive syndrome	16 (16.3)	3 (3.1)
Memory disorders	12 (12.2)	6 (6.1)
Headaches	93 (94.9)	26 (26.5)
Decreased concentration	29 (29.6)	14 (14.3)
Behavior disorders	7 (7.1)	2 (2.0)

### 5.3. Short-term outcomes

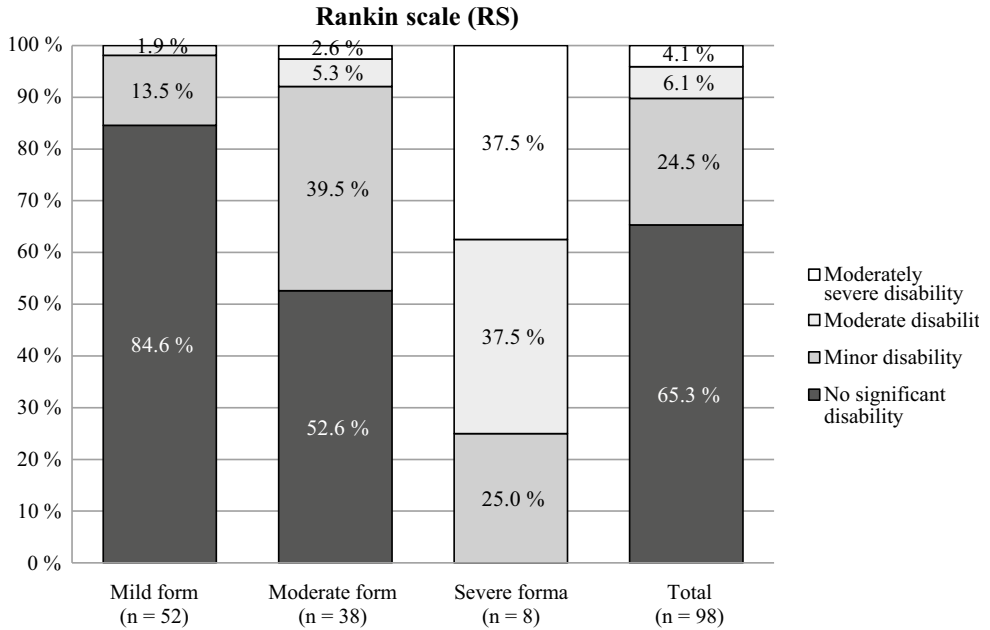
At discharge, 5.1 % (n = 5) of patients were classified as having severe impairments, 20.4 % (n = 20) – as moderate impairments on Glasgow

Outcome Scale (GOS). GOS scores correlated moderately with the disease severity (Spearman's  $r = 0.522$ ,  $p < 0.001$ ; Figure 5.3.1).

4.1 % ( $n = 4$ ) of the patients were classified to have moderately severe disability, 6.1 % ( $n = 6$ ) – moderate disability and 24.5 % ( $n = 24$ ) – minor disability using the Rankin Scale (RS). RS scores correlated moderately with the disease severity (Spearman's  $r = -0.651$ ,  $p < 0.001$ ; Figure 5.3.2).



**Figure 5.3.1.** Glasgow Outcome Scale scores between different TBE severity groups.



**Figure 5.3.2.** Rankin Scale scores between different TBE severity groups.

#### 5.4. Long-term sequelae

The remaining objective neurological signs and subjective symptoms after 6 and 18 months are displayed in Tables 5.4.1 and 5.4.2.

**Table 5.4.1.** Remaining objective neurological signs during both follow-up visits. For comparison with the acute phase, refer to Table 5.2.1

Objective neurological signs	1 <sup>st</sup> follow-up (n = 77)	2 <sup>nd</sup> follow-up (n = 61)
	n (%)	n (%)
At least one objective sign	28 (36.4)	24 (39.3)
Fever	0 (0.0)	0 (0.0)
Nausea/vomiting	0 (0.0)	0 (0.0)
Neck stiffness	0 (0.0)	0 (0.0)
Consciousness impairment	0 (0.0)	0 (0.0)
Tremor	18 (23.4)	18 (29.5)
Ataxia	9 (11.7)	6 (9.8)
Sensory disorder	8 (10.4)	6 (9.8)
Spinal nerve damage	8 (10.4)	7 (11.5)

**Table 5.4.1 cont.**

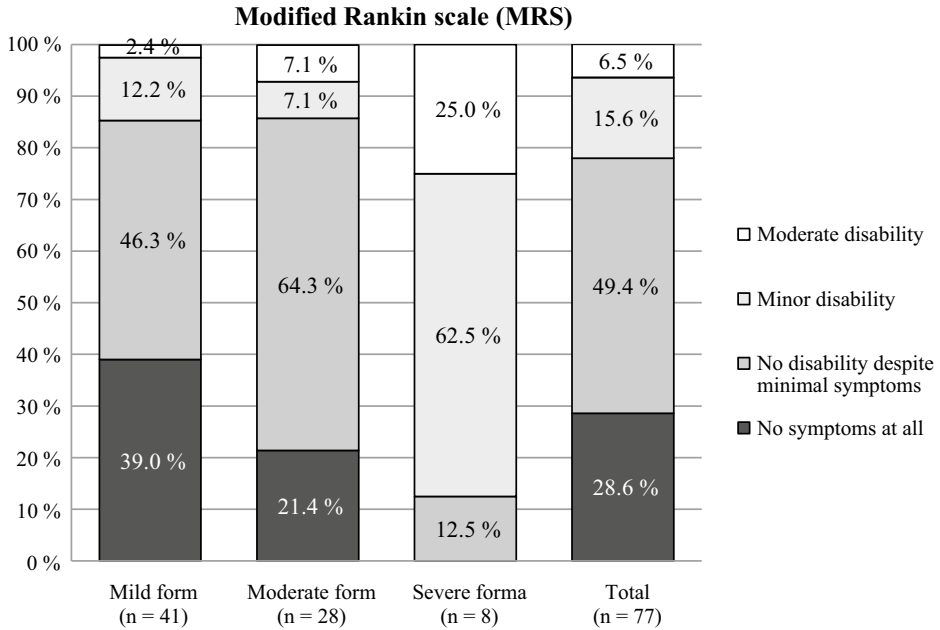
Objective neurological signs	1 <sup>st</sup> follow-up (n = 77)	2 <sup>nd</sup> follow-up (n = 61)
	n (%)	n (%)
Cranial nerve damage	5 (6.5)	4 (6.6)
<i>N. oculomotorius</i>	1 (1.3)	0 (0.0)
<i>N. vestibulocochlearis</i>	4 (5.2)	4 (6.6)
<i>N. facialis</i>	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>N. hypoglossus</i>	0 (0.0)	0 (0.0)
Cerebellar syndrome	4 (5.2)	3 (4.9)
Dysphasia	2 (2.6)	1 (1.6)
Central paresis	2 (2.6)	2 (3.3)
Bulbar syndrome	1 (1.3)	1 (1.6)
Bladder dysfunction	1 (1.3)	2 (3.3)
Sexual dysfunction	3 (3.9)	3 (4.9)

**Table 5.4.2. Remaining subjective symptoms during both follow-up visits. For comparison with the acute phase, refer to Table 5.2.2**

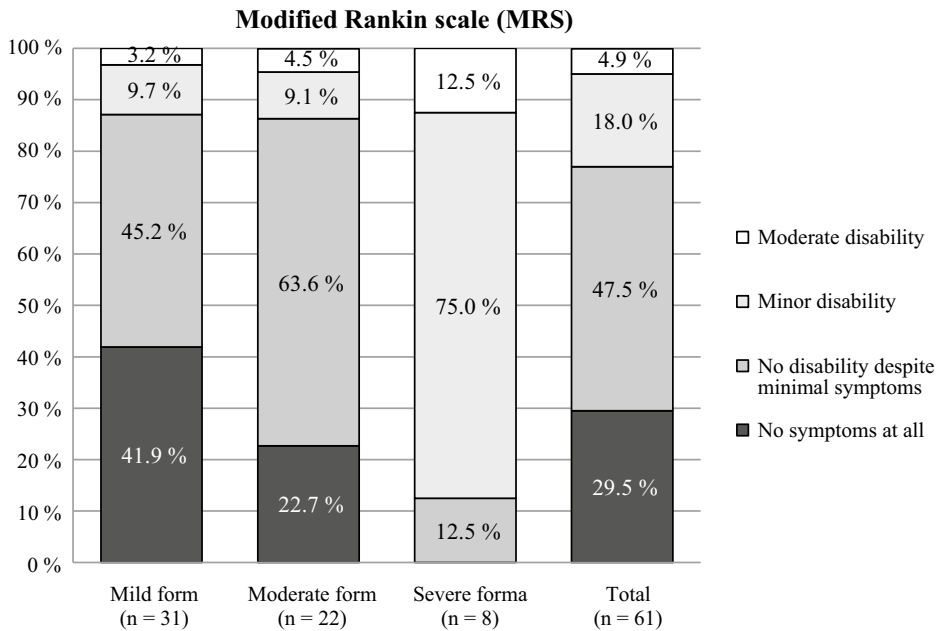
Subjective symptoms	1 <sup>st</sup> follow-up (n = 77)	2 <sup>nd</sup> follow-up (n = 61)
	n (%)	n (%)
At least one subjective symptom	56 (72.7)	41 (67.2)
Dysexecutive syndrome	0 (0.0)	0 (0.0)
Memory disorders	33 (42.9)	26 (42.6)
Increased irritability	28 (36.4)	18 (29.5)
Headaches	28 (36.4)	18 (29.5)
Sleep disturbances	25 (32.5)	24 (39.3)
Decreased concentration	23 (29.9)	15 (24.6)
Decreased stress tolerance	19 (24.7)	11 (18.0)
Emotional instability	15 (19.5)	7 (11.5)
Behavior disorders	1 (1.3)	0 (0.0)

After 6 months, 15.6 % (n = 12) remained with minor disability and 6.5 % (n = 5) with moderate disability on the MRS. MRS scores correlated moderately with the disease severity on the acute phase (Spearman's  $r = 0.362$ ,  $p < 0.001$ ; Figure 5.4.1).

After 18 months, 18 % (n = 11) of the patients had minor disability and 4.9 % (n = 3) – moderate disability on the MRS. MRS scores correlated moderately with the disease severity on the acute phase (Spearman's  $r = 0.415$ ,  $p < 0.001$ ; Figure 5.4.2).



**Figure 5.4.1.** Modified Rankin Scale scores between different disease severity groups, 6 months after TBE.



**Figure 5.4.2.** Modified Rankin Scale scores between different disease severity groups, 18 months after TBE.

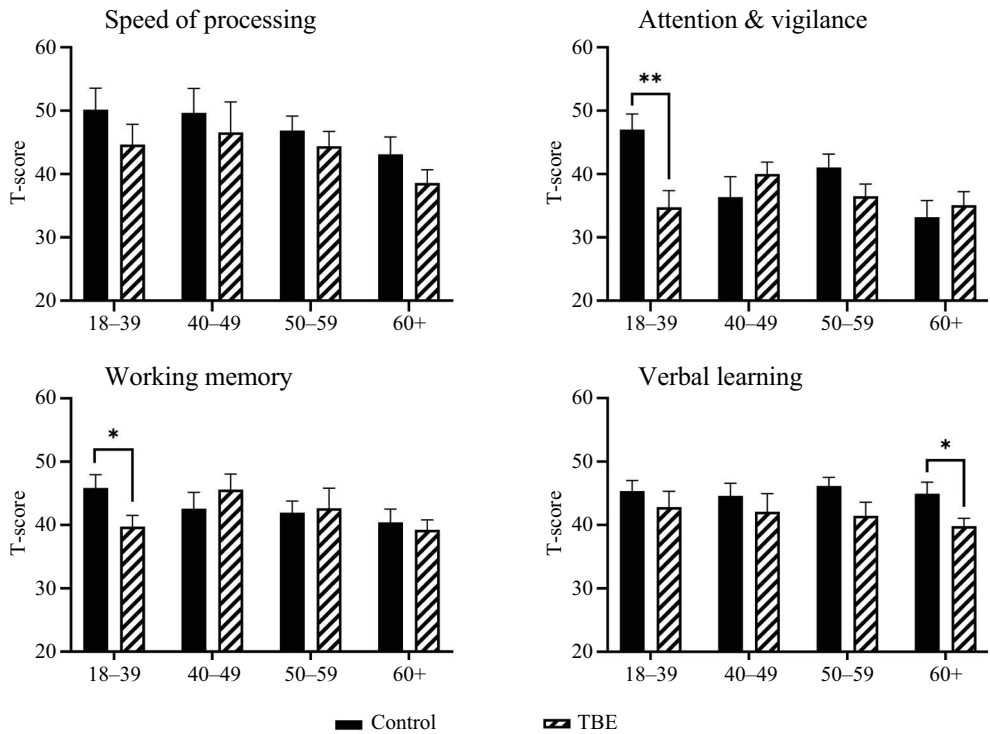
### 5.5. The evaluation of neurocognitive functions using MCCB test battery

During the first follow-up visit, TBE patients performed statistically significantly worse than controls in tasks, related to speed of processing, verbal learning and visual learning (Table 5.5.1).

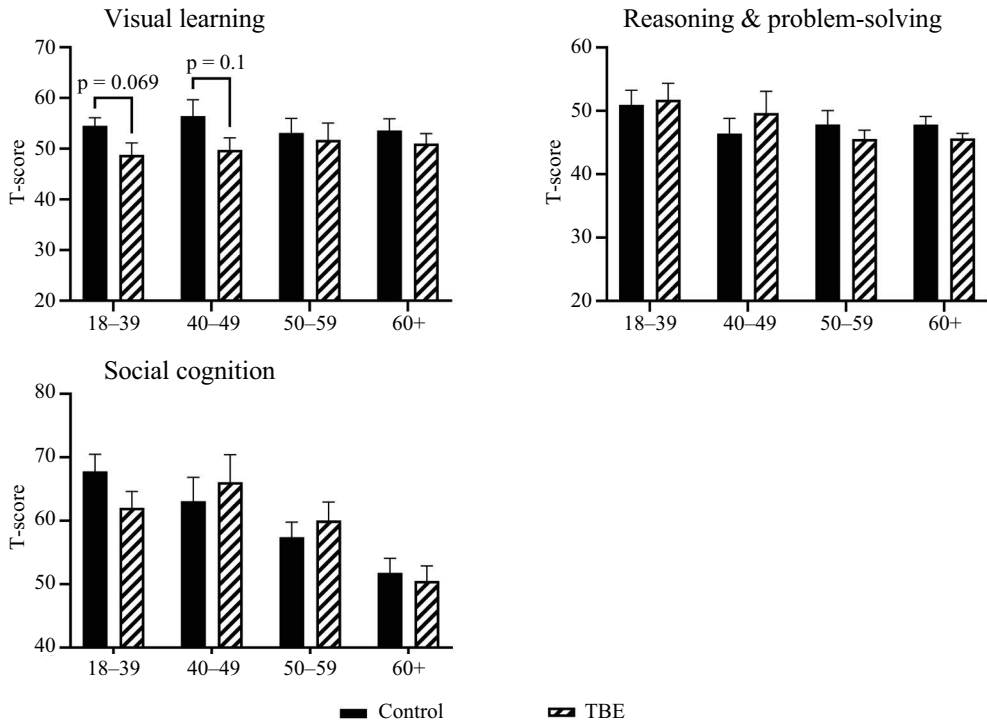
**Table 5.5.1.** The differences of cognitive scores between TBE patients and healthy controls 6 months after the acute phase. Student's *t*-test results

Cognitive domains					Statistics			
	M	SD	M	SD	t	df	p	Cohen's d
	1 <sup>st</sup> follow-up visit (6 months after the acute phase)							
	TBE patients (n = 77)		Healthy controls (n = 77)					
Speed of processing	42.52	12.65	46.81	13.21	-2.06	152	<b>0.041</b>	-0.33
Attention/vigilance	36.23	9.09	39.45	12.06	-1.80	137	0.074	-0.30
Working memory	41.14	9.76	42.44	9.49	-0.84	152	0.404	-0.14
Verbal learning	41.23	8.47	45.30	7.59	-3.12	150	<b>0.002</b>	-0.51
Visual learning	50.49	10.97	54.12	10.97	-2.05	152	<b>0.042</b>	-0.33
Reasoning/problem solving	47.61	8.10	48.34	8.68	-0.54	152	0.592	-0.09
Social cognition	57.76	13.01	58.82	13.02	-0.49	143	0.627	-0.08
Neurocognitive composite score	39.86	11.15	43.61	11.43	-1.95	138	0.053	-0.33
Overall composite score	43.25	11.64	46.00	11.87	-1.35	134	0.180	-0.23

Analysis within different age groups revealed that the youngest TBE patients (aged 18–39) performed most poorly compared to healthy controls in six out of seven domains. The difference was significant for attention/vigilance and working memory. The eldest age group (aged 60+) scored significantly lower in the verbal learning domain (Figures 5.5.1 and 5.5.2).



**Figure 5.5.1.** Comparison of different cognitive domains between tick-borne encephalitis (TBE) patients and healthy controls depending on age, 6 months after TBE (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).



**Figure 5.5.2.** Comparison of different cognitive domains between tick-borne encephalitis (TBE) patients and healthy controls depending on age, 6 months after TBE (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

The impairment of verbal learning and visual learning, were significantly related to illness severity in the acute phase (Table 5.5.2). Tukey's post-hoc tests showed no significant differences between mild and moderate/severe disease groups, but significant difference was observed between healthy controls and mild TBE (verbal learning  $p = 0.002$ ; visual learning  $p = 0.022$ ). Patients with moderate/severe disease differed significantly in speed of processing from healthy controls ( $p = 0.027$ ) but not from patients with mild TBE.



**Table 5.5.2.** Comparison of neurocognitive domains according to the severity of TBE at the time of first (6 months after the acute phase) follow-up controlling for age effect. Selected results from ANOVA analysis

Cognitive domains	Healthy controls		Mild TBE		Moderate / severe TBE		Statistics		
	M	SE	M	SE	M	SE	F	p	Partial $\eta^2$
Speed of processing	46.62	1.45	43.48	2.02	40.42	2.23	2.87	0.06	0.04
Attention/vigilance	39.10	1.21	35.42	1.80	35.43	2.03	2.06	0.13	0.03
Working memory	42.35	1.07	38.83	1.50	43.46	1.65	2.59	0.08	0.03
Verbal learning	45.38	0.91	39.35	1.30	43.35	1.40	7.22	<b>0.00</b>	0.09
Visual learning	54.12	1.25	47.99	1.75	52.69	1.94	4.09	<b>0.02</b>	0.05
Reasoning/problem solving	48.38	0.94	47.38	1.32	47.00	1.46	0.39	0.68	0.01
Social cognition	58.36	1.37	58.37	2.04	57.96	2.22	0.01	0.99	0.00
Neurocognitive composite score	43.49	1.28	37.85	2.00	40.58	2.16	2.98	0.05	0.04
Overall composite score	45.78	1.32	41.46	2.13	43.58	2.29	1.57	0.21	0.02

Neurocognitive functioning significantly improved from the first to the second follow-up. Significant positive change was observed in six out of seven domains, with an exception of the social cognition (Table 5.5.3). At the second follow-up (18 months after the acute phase) TBE patients did not differ in any cognitive domain from healthy controls.

**Table 5.5.3.** Changes in TBE patients' neurocognitive functioning from 1<sup>st</sup> to 2<sup>nd</sup> follow-up. Paired samples t-test

Cognitive domain	n	1 <sup>st</sup> follow-up		2 <sup>nd</sup> follow-up		Statistics			
		M	SD	M	SD	t	df	p	Cohen's d
Speed of processing	61	42.87	12.41	45.82	12.64	-4.38	60	< <b>0.001</b>	-0.56
Attention/vigilance	49	37.29	8.60	40.12	10.70	-2.60	48	<b>0.01</b>	-0.37
Working memory	60	41.33	9.65	45.30	9.70	-4.27	59	< <b>0.001</b>	-0.55
Verbal learning	60	41.25	7.71	45.80	8.82	-5.53	59	< <b>0.001</b>	-0.71
Visual learning	60	50.57	10.71	57.85	9.42	-6.72	59	< <b>0.001</b>	-0.87
Reasoning/problem solving	60	47.87	8.20	49.97	8.12	-2.79	59	<b>0.01</b>	-0.36
Social cognition	53	57.15	13.12	56.87	13.93	0.23	52	0.82	0.03
Neurocognitive composite score	48	40.25	11.33	46.29	11.87	-8.90	47	< <b>0.001</b>	-1.28
Overall composite score	45	43.38	12.09	49.38	12.11	-8.20	44	< <b>0.001</b>	-1.22

## 5.6. Analysis of brain damage biomarkers

The distribution of different brain damage biomarkers in CSF and serum between various TBE patient groups are displayed in Tables 5.6.1–5.6.6.

**Table 5.6.1.** CSF biomarkers' distribution between different TBE severity groups

CSF biomarker	Mild TBE (n = 52)	Moderate TBE (n = 38)	Severe TBE (n = 8)	p value
NFL (median)	931.5 pg/mL (IQR 608.5–1624)	1497.5 pg/mL (IQR 1002.75–2813.5)	5610 pg/mL (IQR 1750.25–8674.25)	<b>0.001*</b>
GFAP (median)	248.5 pg/mL (IQR 184–400.25)	435.5 pg/mL (IQR 252.75–641.75)	1009 pg/mL (IQR 770.5–1875)	<b>0.001*</b>
YKL40 (median)	772.5 ng/mL (IQR 358–1058)	1041 ng/mL (IQR 535.5–1488)	1575 ng/mL (IQR 983.75–2027.75)	<b>0.013*</b>
S-100B (median)	0.6475 ng/mL (IQR 0.4965–0.7815)	0.611 ng/mL (IQR 0.483–0.86375)	0.904 ng/mL (IQR 0.66625–1.7775)	<b>0.033*</b>
Tau (median)	285 pg/mL (IQR 219.25–360.5)	340 pg/mL (IQR 270.5–430.5)	377 pg/mL (IQR 312–514.75)	<b>0.031*</b>
Neurogranin (average)	201.55 pg/mL (SD 63.83)	226.74 pg/mL (SD 79.46)	236.13 pg/mL (SD 170.28)	0.267**

\*Kruskal-Wallis nonparametric test. \*\*Univariate ANOVA.

**Table 5.6.2.** CSF biomarkers' distribution between groups with and without spinal nerve damage

CSF biomarker	Spinal nerve damage (n = 12)	No spinal nerve damage (n = 86)	p value
NFL (median)	3012.5 pg/mL (IQR 1328.25–6874)	1190 pg/mL (IQR 725.25–2140.75)	<b>0.028*</b>
GFAP (median)	808.5 pg/mL (IQR 378.75–1032)	313 pg/mL (IQR 192.25–512)	<b>0.011*</b>
YKL40 (median)	1085.5 ng/mL (IQR 358.25–1409.25)	882.5 ng/mL (IQR 510.75–1358.5)	0.862*
S-100B (median)	0.756 ng/mL (IQR 0.64425–1.11)	0.6385 ng/mL (IQR 0.48575–0.7965)	<b>0.043*</b>
Tau (median)	341 pg/mL (IQR 253.25–427)	301.5 pg/mL (IQR 236.5–409.25)	0.708*
Neurogranin (average)	191.48 pg/mL (SD 64.75)	217.30 pg/mL (SD 84.67)	0.313**

\*Mann-Whitney U test. \*\*Independent samples t-test.

**Table 5.6.3.** CSF biomarkers' distribution between groups with and without consciousness impairment

CSF biomarker	Impaired consciousness (n = 15)	No consciousness impairment (n = 83)	p value
NFL (median)	1991 pg/mL (IQR 1010–5378)	1192 pg/mL (IQR 720–2188)	0.099*
GFAP (median)	963 pg/mL (IQR 325–1375)	312 pg/mL (IQR 194–474)	<b>0.002*</b>
YKL40 (median)	1560 ng/mL (IQR 1172–2089)	795 ng/mL (IQR 490–1145)	<b>0.001*</b>
S-100B (median)	0.742 ng/mL (IQR 0.581–1.09)	0.639 ng/mL (IQR 0.49–0.791)	0.077*
Tau (median)	394 pg/mL (IQR 324–531)	287 pg/mL (IQR 232–393)	<b>0.015*</b>
Neurogranin (average)	254.6 pg/mL (SD 130,04)	206.53 pg/mL (SD 69.56)	0.185**

\*Mann-Whitney U test. \*\*Independent samples t-test.

**Table 5.6.4.** Serum biomarkers' distribution between different TBE severity groups. Kruskal-Wallis nonparametric test

Serum biomarker	Mild TBE (n = 52)	Moderate TBE (n = 38)	Severe TBE (n = 8)	p value
NFL (median)	21.5 pg/mL (IQR 11.6–42.45)	34.45 pg/mL (IQR 20.625–61.025)	79.7 pg/mL (IQR 53.025–388.475)	<b>0.001</b>
S-100B (median)	0.0315 ng/mL (IQR 0.0195–0.0545)	0.0445 ng/mL (IQR 0.03175–0.0645)	0.0445 ng/mL (IQR 0.02825–0.106)	0.15
GFAP (median)	102.48 pg/mL (IQR 71.36–146.5)	166.95 pg/mL (IQR 101.28–354.35)	648.08 pg/mL (IQR 373.86–723.85)	<b>&lt; 0.001</b>

**Table 5.6.5.** Serum biomarkers' distribution between groups with and without spinal nerve damage. Mann-Whitney U test

Serum biomarker	Spinal nerve damage (n = 12)	No spinal nerve damage (n = 86)	p value
NFL (median)	60.9 pg/mL (IQR 22.85–203)	26.4 pg/mL (IQR 16.125–50.15)	<b>0.027</b>
S-100B (median)	0.052 ng/mL (IQR 0.0225–0.09225)	0,036 ng/mL (IQR 0.024–0.0575)	0.235
GFAP (median)	263.99 pg/mL (IQR 119.61–634.68)	119,66 pg/mL (IQR 76.13–202.43)	<b>0.006</b>

**Table 5.6.6** Serum biomarkers' distribution between groups with and without consciousness impairment. Mann-Whitney U test

Serum biomarker	Impaired consciousness (n = 15)	No consciousness impairment (n = 83)	p value
NFL (median)	36.4 pg/mL (IQR 25–79.7)	26.5 pg/mL (IQR 15.4–57.2)	0.167
S-100B (median)	0.052 ng/mL (IQR 0.032–0.096)	0,036 ng/mL (IQR 0.021–0.054)	<b>0.008</b>
GFAP (median)	423.88 pg/mL (IQR 211.2–661.47)	116.91 pg/mL (IQR 76.13–179.06)	<b>&lt; 0.001</b>

### 5.6.1. Neurofilament (NFL)

NFL concentrations in the CSF were significantly higher for patients with more severe course of TBE and for those with spinal nerve damage (Tables 5.6.1 and 5.6.2). NFL concentrations in serum were also significantly higher in the same patient groups (Tables 5.6.4 and 5.6.5). CSF and serum NFL values strongly correlated with each other (Spearman's  $r = 0.768$ ,  $p < 0.001$ ).

### 5.6.2. Glial fibrillary acidic protein (GFAP)

GFAP concentrations in the CSF were significantly higher for patients with more severe course of TBE, for those with spinal nerve damage and the ones with consciousness impairment (Tables 5.6.1–5.6.3). GFAP concentrations in serum were significantly higher in the same patient groups (Tables 5.6.4–5.6.6). CSF and serum GFAP values moderately correlated with each other (Spearman's  $r = 0.426$ ,  $p < 0.001$ ).

### 5.6.3. S-100B

S-100B concentrations in the CSF were significantly higher in patient groups with more severe course of TBE and for those with spinal nerve damage (Tables 5.6.1 and 5.6.2). TBE patients with consciousness impairment had higher serum S-100B values (Table 5.6.6). CSF S-100B values did not correlate with serum concentrations.

### 5.6.4. YKL-40

Patients with more severe forms of TBE and those with consciousness impairment had significantly higher concentrations of CSF YKL-40 (Tables 5.6.1 and 5.6.3).

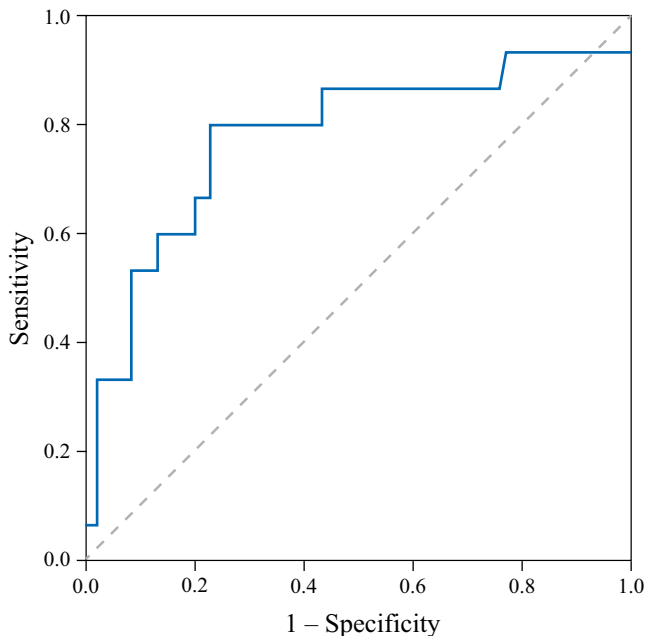
### 5.6.5. TAU protein

TAU protein concentrations were higher in patients with more severe course of the disease and in patients with consciousness impairment (Tables 5.6.1 and 5.6.3).

## 5.7. Prognostic value of brain damage biomarkers

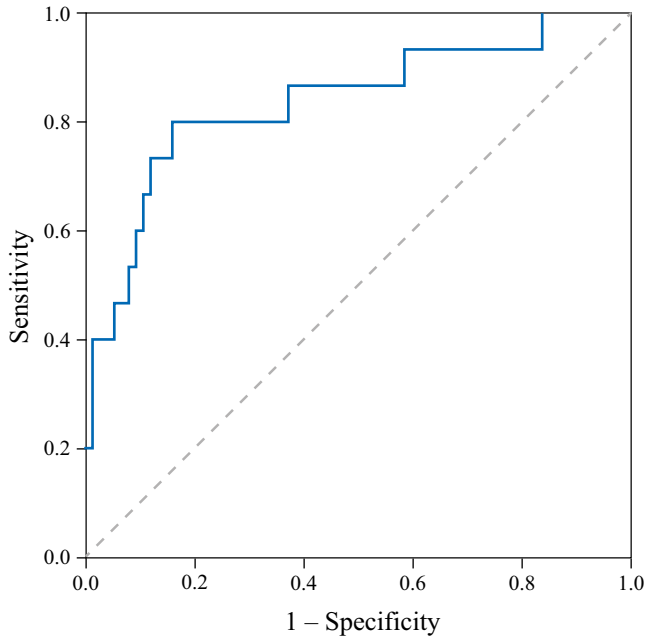
### 5.7.1. Prediction of consciousness impairment

CSF YKL-40 values, higher than 1170.5 pg/mL (obtained on admission, day 0–3) could predict consciousness impairment during the course of the disease with 80 % sensitivity and 77.1 % specificity (AUC 0.777,  $p = 0.001$ , 95 % CI 0.63–0.93) (Figure 5.7.1.1).



**Figure 5.7.1.1.** ROC curve for prediction of consciousness impairment during the course of TBE based on the CSF levels of YKL-40.

Serum GFAP values, higher than 210.9 pg/mL (obtained on admission, day 0–3) could predict consciousness impairment during the course of TBE with 80 % sensitivity and 84 % specificity (AUC 0.836,  $p < 0.001$ , 95 % CI 0.71–0.96) (Figure 5.7.1.2).

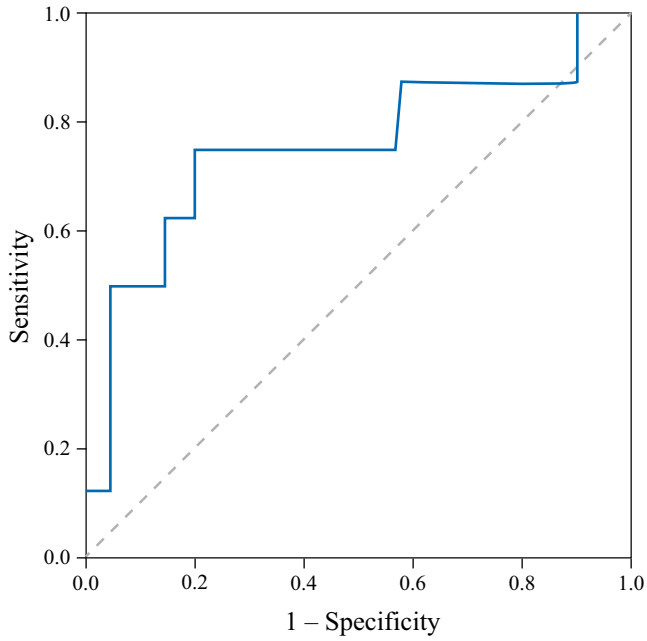


**Figure 5.7.1.2.** ROC curve for prediction of consciousness impairment during the course of TBE based on the serum levels of GFAP.

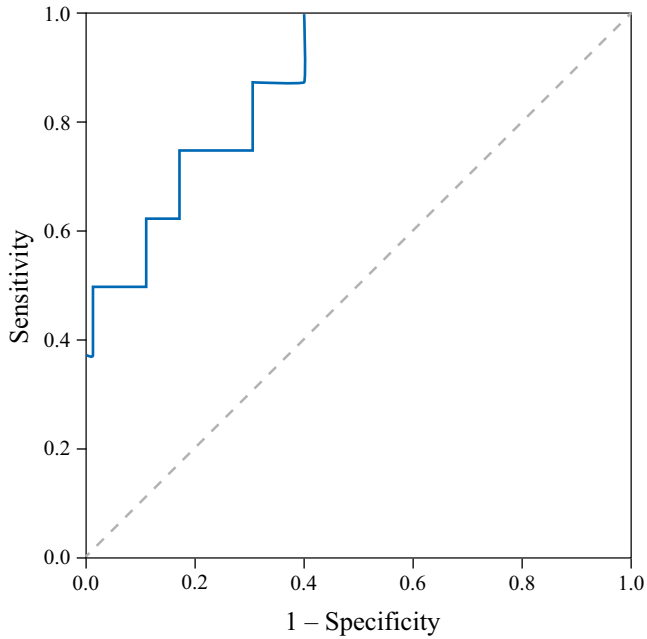
### 5.7.2. Prediction of ICU treatment

CSF GFAP values, higher than 580.5 pg/mL (obtained on admission, day 0–3) could predict ICU treatment over the course of TBE with 75 % sensitivity and 80 % specificity (AUC 0.756,  $p = 0.017$ , 95 % CI 0.54–0.97) (Figure 5.7.2.1).

Serum GFAP values, higher than 256.43 pg/mL (obtained on admission, day 0–3) could predict ICU treatment during the course of TBE with 75 % sensitivity and 82.9 % specificity (AUC 0.875,  $p < 0.001$ , 95 % CI 0.77–0.99) (Figure 5.7.2.2).



**Figure 5.7.2.1.** ROC curve for prediction of ICU treatment during the course of TBE based on the CSF levels of GFAP.



**Figure 5.7.2.2.** ROC curve for prediction of ICU treatment during the course of TBE based on the serum levels of GFAP.

## 5.8. The relation between brain damage biomarkers and disability after 18 months

The distribution of different brain damage biomarkers in the CSF and serum between groups with and without disability 18 months after TBE are displayed in Tables 5.8.1 and 5.8.2.

**Table 5.8.1.** CSF biomarkers' distribution between groups with and without disability 18 months after TBE

CSF biomarker	No disability, MRS 0–1 p. (n = 47)	Any degree of disability, MRS $\geq$ 2 p. (n = 14)	p value
NFL (median)	1025 pg/mL (IQR 702–2036)	1976.5 pg/mL (IQR 816.25–6186)	0.077*
GFAP (median)	314 pg/mL (IQR 209–456)	782 pg/mL (IQR 319.5–1218)	<b>0.014*</b>
YKL40 (median)	828 ng/mL (IQR 489–1345)	970 ng/mL (IQR 645–1692.5)	0.401*
S-100B (median)	0.651 ng/mL (IQR 0.52–0.748)	0.793 ng/mL (IQR 0.602–1.14)	0.064*
Tau (median)	300 pg/mL (IQR 269–410)	316 pg/mL (IQR 252.75–403.75)	1.000*
Neurogranin (average)	216.78 pg/mL (SD 66.12)	215.56 pg/mL (SD 135.83)	0.963**

\*Mann-Whitney U test. \*\*Independent samples t-test.

GFAP concentrations in the CSF, obtained on admission (day 0–3), were significantly higher in patients who remained with any degree of disability 18 months after TBE ( $\geq 2$  p. on MRS).

**Table 5.8.2.** Serum biomarkers' distribution between groups with and without disability 18 months after TBE. Mann-Whitney U test

Serum biomarker	No disability, MRS 0–1 p. (n = 47)	Any degree of disability, MRS $\geq$ 2 p. (n = 14)	p value
NFL (median)	24.5 pg/mL (IQR 15.3–39.8)	58.15 pg/mL (IQR 18.1–205.9)	<b>0.016</b>
S-100B (median)	0.039 ng/mL (IQR 0.026–0.063)	0.043 ng/mL (IQR 0.026–0.08)	0.797
GFAP (median)	117.36 pg/mL (IQR 75.81–206.52)	278.52 pg/mL (IQR 116.2–662.63)	<b>0.009</b>

Serum concentrations of NFL and GFAP (obtained on admission, day 0–3) were significantly higher in patients with any degree of remaining disability 18 months after TBE ( $\geq 2$  p. on MRS).



## 5.9. Autoimmune encephalitis antibody detection

A total of 44 paired samples of 22 patients were analysed for autoimmune encephalitis antibodies. No antibodies (anti-NMDAR, anti-CASPR-2, anti-AMPA 1/2, anti-LGI-1, anti-DPPX, anti-GABAR B1/B2) were detected in any of the samples.

## CONCLUSIONS

1. The average age of TBE patients was 52 years, almost two thirds were of working age and all patients were fully autonomous before the disease. Half of the patients suffered from an encephalitic form of the disease, 8 % had severe encephalitis, whereas 12 % had spinal and/or cranial nerve damage.
2. During discharge, a quarter of the patients had moderate and severe impairments (measured on GOS), a third of the cohort had various levels of disability (measured on RS). After 6 months and 1.5 years, minor or moderate disability (measured on MRS) was observed in 22 % of patients. GOS, RS and MRS scores correlated with TBE severity on the acute phase. After 1.5 years, spinal and cranial nerve damage persisted in 58 % and 33 % of the patients who had this impairment on the acute phase, respectively.
3. 6 months after the acute phase, significant impairments in speed of processing, visual learning and verbal learning were detected for TBE patients. 6 out of 7 examined cognitive domains were affected in patients younger than 40 years, compared to the control group, especially attention/vigilance and working memory. In patients older than 60 years significant changes were detected in verbal learning, when compared to the control group. A significant decrease in verbal learning and visual learning scores was measured in patients who suffered from a mild course (meningeal form) of TBE, compared to the control group. After 1.5 years all evaluated cognitive functions improved and did not differ from healthy controls.
4. During the acute phase of TBE, CSF levels of biomarkers, representing neuronal damage (NFL), glial activation (GFAP, YKL-40, S-100B) and neurodegeneration (TAU) were measured and a significant relation to disease severity was detected. Concentrations of NFL, GFAP and S-100B were also related to spinal nerve damage. Strong and moderate correlations were detected between NFL and GFAP levels, respectively, in CSF and blood and a relation between the concentrations in blo-

od and TBE severity as well as spinal nerve damage was determined. A CSF value of YKL-40, suitable for predicting consciousness impairment over the course of TBE was determined, as well as levels of GFAP in the CSF and blood appropriate for the prognosis of impaired consciousness and ICU treatment. A significant relation between serum NFL, serum and CSF GFAP concentrations during the acute phase of TBE and remaining disability measured by MRS after 1.5 years was observed.

5. Anti-NMDAR, anti-CASPR-2, anti-AMPA 1/2, anti-LGI-1, anti-DPPX and anti-GABAR B1/B2 autoimmune encephalitis antibodies were not detected in blood samples of patients with neurological and neurocognitive sequelae neither on the acute phase, nor after 6 months.

## **PRACTICAL RECOMMENDATIONS**

1. Due to the fact that after 6 months and 1.5 years a large proportion of patients suffered not only from severe neurological sequelae, but also displayed obvious cognitive impairments, especially in speed of processing, verbal learning and visual learning, it is vital to include cognitive evaluation into routine care after TBE and to develop and employ methods to improve cognition. It is important because young people are affected, the natural improvement of cognition occurs slowly and a timely intervention might shorten that period. Despite the fact that our research did not reveal such obvious discrepancies in other age groups, cognitive training should be applied to TBE patients of all ages.
2. To include NFL and GFAP analysis from CSF and blood samples into routine practice, as their results allow us to predict possible consciousness impairments and ICU treatment over the course of TBE, as well as long-term disability and worsened cognition in certain domains. Due to the correlation between CSF and blood concentrations, blood analysis is especially valuable due to easier access for sampling. Additionally, the detection of these biomarkers can aid with patient selection for further intensive physical and neurocognitive rehabilitation.
3. To continue the search for autoimmune antibodies after TBE in select groups of patients with clinical symptoms consistent with autoimmune encephalitis manifestations, as this study does not disprove the possibility of autoimmune processes after TBE. Taking into account the specifics of the diagnostics, both serum and CSF analyses are recommended.

4. Due to increasing uptake of vaccination, in light of upcoming state-funded immunization against TBE programme, the number of people with incomplete vaccination and missed doses is expected to increase as well. For this group of patients, serological TBE diagnosis is not feasible and requires intrathecal antibody detection. This method is not available in all health care facilities, thus the accessibility of these tests must be improved.
5. Since no effective treatment is available, it is crucial to promote individual vaccinations and seek to increase the availability of the state-funded TBE vaccine to a wider part of the population, as it remains the only measure to reduce the impact of this severe and long-term sequelae causing illness on the people and the whole society.

## BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS

1. Tick-borne encephalitis - Annual Epidemiological Report for 2020 [Internet]. [cited 2022 Dec 13]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tick-borne-encephalitis-annual-epidemiological-report-2020>
2. Gustafson R, Svenungsson B, Gardulf A, Stiernstedt G, Forsgren M. Prevalence of tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis in a defined Swedish population. *Scand J Infect Dis.* 1990;22(3):297–306.
3. Gustafson R, Svenungsson B, Forsgren M, Gardulf A, Granström M. Two-year survey of the incidence of lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in a high-risk population in Sweden. 1992 Oct;11(10):894–900.
4. Günther G, Haglund M, Lindquist L, Forsgren M, Sköldenberg B. Tick-borne encephalitis in Sweden in relation to aseptic meningo-encephalitis of other etiology: A prospective study of clinical course and outcome. *J Neurol.* 1997 Apr 1;244(4):230–8.
5. Mickienė A, Laiškonis A, Günther G, Vene S, Lundkvist Å, Lindquist L. Tickborne encephalitis in an area of high endemicity in lithuania: Disease severity and long-term prognosis. *Clin Infect Dis.* 2002 Sep 15;35(6):650–8.
6. Kaiser R, Kaiser DR. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in southern Germany 1994–98A prospective study of 656 patients. *Brain.* 1999 Nov 1;122(11):2067–78.
7. Veje M, Nolskog P, Petzold M, Bergström T, Lindén T, Peker Y, et al. Tick-Borne Encephalitis sequelae at long-term follow-up: a self-reported case–control study. *Acta Neurol Scand.* 2016;134(6):434–41.
8. Haglund M, Günther G. Tick-borne encephalitis - Pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine.* 2003;21(SUPPL. 1):S11–8.
9. Czupryna P, Grygorczuk S, Krawczuk K, Pancewicz S, Zajkowska J, Dunaj J, et al. Sequelae of tick-borne encephalitis in retrospective analysis of 1072 patients. *Epidemiol Infect.* 2018 Oct 1;146(13):1663–70.
10. Radzišauskienė D, Urbonienė J, Kaubrys G, Andruškevičius S, Jatužis D, Matulytė E, et al. The epidemiology, clinical presentation, and predictors of severe Tick-borne encephalitis in Lithuania, a highly endemic country: A retrospective study of 1040 patients. *PLoS One.* 2020 Nov 1;15(11 November):1–15.
11. Lenhard T, Ott D, Jakob NJ, Pham M, Bäumer P, Martinez-Torres F, et al. Predictors, neuroimaging characteristics and long- Term outcome of severe european tick-borne encephalitis: A prospective cohort study. *PLoS One.* 2016 Apr 1;11(4):1–14.
12. Saksida A, Duh D, Lotrič-Furlan S, Strle F, Petrovec M, Avšič-Županc T. The importance of tick-borne encephalitis virus RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis. *J Clin Virol.* 2005 Aug;33(4):331–5.
13. Khalil M, Teunissen CE, Otto M, Piehl F, Sormani MP, Gatteringer T, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2018 1410. 2018 Aug 31;14(10):577–89.
14. Kellermann I, Kleindienst A, Hore N, Buchfelder M, Brandner S. Early CSF and Serum S100B Concentrations for Outcome Prediction in Traumatic Brain Injury and Subarachnoid Hemorrhage. *Clin Neurol Neurosurg.* 2016 Jun 1;145:79–83.
15. Uphaus T, Bittner S, Gröschel S, Steffen F, Muthuraman M, Wasser K, et al. NfL (Neurofilament Light Chain) Levels as a Predictive Marker for Long-Term Outcome After Ischemic Stroke. *Stroke.* 2019 Nov 1;50(11):3077–84.
16. Westman G, Aurelius E, Ahlm C, Blennow K, Eriksson K, Lind L, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers of brain injury, inflammation and synaptic autoimmunity predict long-term neurocognitive outcome in herpes simplex encephalitis. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Aug 1;27(8):1131–6.

17. Massaro AN, Wu YW, Bammler TK, Comstock B, Mathur A, McKinstry RC, et al. Plasma Biomarkers of Brain Injury in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *J Pediatr*. 2018 Mar 1;194:67-75.e1.
18. Wang KK, Yang Z, Zhu T, Shi Y, Rubenstein R, Tyndall JA, et al. An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018 Feb 1;18(2):165–80.
19. Agoston D V., Shutes-David A, Peskind ER. Biofluid biomarkers of traumatic brain injury. *Brain Inj*. 2017 Jul 29;31(9):1195–203.
20. Niemelä V, Burman J, Blennow K, Zetterberg H, Larsson A, Sundblom J. Cerebrospinal fluid sCD27 levels indicate active T cell-mediated inflammation in premanifest Huntington's disease. *PLoS One*. 2018 Feb 1;13(2).
21. Vinther-Jensen T, Budtz-Jørgensen E, Simonsen AH, Nielsen JE, Hjerminde LE. YKL-40 in cerebrospinal fluid in Huntington's disease--a role in pathology or a nonspecific response to inflammation? *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Nov 1;20(11):1301–3.
22. Llorens F, Thüne K, Tahir W, Kanata E, Diaz-Lucena D, Xanthopoulos K, et al. YKL-40 in the brain and cerebrospinal fluid of neurodegenerative dementias. *Mol Neurodegener*. 2017 Nov 10;12(1):1–21.
23. Grahn A, Hagberg L, Nilsson S, Blennow K, Zetterberg H, Studahl M. Cerebrospinal fluid biomarkers in patients with varicella-zoster virus CNS infections. *J Neurol*. 2013 Jul;260(7):1813–21.
24. Lindström J, Grahn A, Zetterberg H, Studahl M. Cerebrospinal fluid viral load and biomarkers of neuronal and glial cells in Ramsay Hunt syndrome. *Eur J Neurosci*. 2016 Dec 1;44(11):2944–9.
25. Czupryna P, Mroczko B, Pancewicz S, Muszynski P, Grygorczuk S, Dunaj J, et al. Assessment of the tau protein concentration in patients with tick-borne encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Mar 4;38(3):479–83.
26. Czupryna P, Grygorczuk S, Pancewicz S, Świerzbńska R, Zajkowska J, Krawczuk K, et al. Evaluation of NSE and S100B in patients with tick-borne encephalitis. 2018 Dec 1;8(12):e01160.
27. Palus M, Bílý T, Elsterová J, Langhansová H, Salát J, Vancová M, et al. Infection and injury of human astrocytes by tick-borne encephalitis virus. *J Gen Virol*. 2014 Nov 1;95(Pt 11):2411–26.
28. Fortova A, Hönig V, Palus M, Salát J, Pychova M, Krbkova L, et al. Serum and cerebrospinal fluid phosphorylated neurofilament heavy subunit as a marker of neuroaxonal damage in tick-borne encephalitis. *J Gen Virol*. 2022 May 4;103(5):001743.
29. Czupryna P, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B, Wondim MA, Grygorczuk S, Borawski K, et al. Assessment of the YKL-40 concentration in patients with tick-borne encephalitis. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022 Mar 1;13(2):101895.
30. Armangue T, Leypoldt F, Málaga I, Raspall-Chaure M, Marti I, Nichter C, et al. Herpes simplex virus encephalitis is a trigger of brain autoimmunity. *Ann Neurol*. 2014 Feb 1;75(2):317–23.
31. Armangue T, Spatola M, Vlasea A, Mattozzi S, Cárceles-cordon M, Martinez-heras E, et al. Frequency , symptoms , risk factors , and outcomes of autoimmune encephalitis after herpes simplex encephalitis : a prospective observational study and retrospective analysis. 2018;17(September).
32. Karagianni P, Alexopoulos H, Sourdi A, Papadimitriou D, Dimitrakopoulos AN, Moutsopoulos HM. West Nile Virus infection triggering autoimmune encephalitis: Pathophysiological and therapeutic implications. *Clin Immunol*. 2019 Oct 1;207:97–9.
33. Venâncio P, Brito MJ. Anti-N-methyl-D-aspartate Receptor Encephalitis with Positive Serum Antithyroid Antibodies, IgM Antibodies Against. 2014;33(8):882–3.

34. Kim SH, Kim W. GABA-B Receptor Encephalitis Triggered by Enterovirus Encephalitis in a Patient With Small Cell Lung Cancer: A Case Report. *Neurologist*. 2020 Jul 1;25(4):106–8.
35. Franke C, Ferse C, Kreye J, Reincke SM. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ’ s public news and information . 2020;(January).
36. Spatola M, Petit-Pedrol M, Simabukuro MM, Armangue T, Castro FJ, Artigues MIB, et al. Investigations in GABAA receptor antibody-associated encephalitis. *Neurology*. 2017 Mar 14;88(11):1012–20.
37. Li S, Wang M, Li H, Wang J, Zhang Q, Zhou D, et al. Case Report: Overlapping Syndrome of Anti-NMDAR Encephalitis and MOG Inflammatory Demyelinating Disease in a Patient With Human Herpesviruses 7 Infection. *Front Immunol*. 2022 Apr 22;13.
38. Simonavičiūtė V, Praninskienė R, Grikinienė J, Samaitienė-Alekniene R. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis and positive human herpesvirus-7 deoxyribonucleic acid in cerebrospinal fluid: a case report. *J Med Case Rep*. 2023 Dec 1;17(1).
39. Cavaliere E, Nosadini M, Pelizza MF, Ventura G, Toldo I, Sartori S. Anti-NMDAR encephalitis preceded by non-herpetic central nervous system infection: Systematic literature review and first case of tick-borne encephalitis triggering anti-NMDAR encephalitis. *J Neuroimmunol*. 2019 Jul 15;332(February):1–7.
40. Gaist TA, Nilsson AC, Nissen MS, Ryding MAJ, Nielsen SL, Blaabjerg M. Tick-borne encephalitis as a trigger for anti-N-Methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Ticks Tick Borne Dis*. 2024;15(2):15–7.
41. Gill AJ, Venkatesan A. Pathogenic mechanisms in neuronal surface autoantibody-mediated encephalitis. *J Neuroimmunol*. 2022 Jul 15;368.
42. Gustaw-Rothenberg K. Cognitive impairment after tick-borne encephalitis. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008 Sep;26(2):165–8.
43. Kolyasnikova NM, Zlobin VI, Ishmukhametov AA, Maleev V V. History of the discovery and study of tick-borne encephalitis in Russia: Three Far Eastern expeditions (1937-1939). *Ter Arkh*. 2021;93(11):1407–12.
44. Gallia F, Rampas J, Hollender J. Laboratori infekce encefalitickym virem. *Cas Lek Ces*. 1949;88:228–9.
45. Motiejunas L, Sapranauskaite D, Regaliene G. Concerning the causes of a different morbidity of tick-borne encephalitis and the quality of patient’s laboratory testing in the cities and districts of Lithuanian SSR. *Sveikatos Apsauga*. 1978;10:20–3.
46. Kaiser R. Tick-Borne Encephalitis. *Infect Dis Clin North Am*. 2008 Sep;22(3):561–75.
47. Gritsun TS, Lashkevich VA, Gould EA. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res*. 2003 Jan 1;57(1–2):129–46.
48. Kofler RM, Heinz FX, Mandl CW. Capsid Protein C of Tick-Borne Encephalitis Virus Tolerates Large Internal Deletions and Is a Favorable Target for Attenuation of Virulence. *J Virol*. 2002;76(7):3534–43.
49. Gritsun TS, Holmes EC, Gould EA. Analysis of flavivirus envelope proteins reveals variable domains that reflect their antigenicity and may determine their pathogenesis. *Virus Res*. 1995;35(3):307–21.
50. McMinn PC. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviviruses. *J Gen Virol*. 1997;78 ( Pt 11)(11):2711–22.
51. Mandl CW. Steps of the tick-borne encephalitis virus replication cycle that affect neuropathogenesis. 2005;111:161–74.

52. Chen J, Ng MML, Chu JJH. Activation of TLR2 and TLR6 by Dengue NS1 Protein and Its Implications in the Immunopathogenesis of Dengue Virus Infection. *PLoS Pathog.* 2015 Jul 1;11(7).
53. Rastogi M, Sharma N, Singh SK. Flavivirus NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. *Virology*. 2016 Jul 29;13(1).
54. Avirutnan P, Hauhart RE, Somnuk P, Blom AM, Diamond MS, Atkinson JP. Binding of flavivirus nonstructural protein NS1 to C4b binding protein modulates complement activation. *J Immunol.* 2011 Jul 1;187(1):424–33.
55. Albinsson B, Vene S, Rombo L, Blomberg J, Lundkvist Å, Rönnerberg B. Distinction between serological responses following tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection vs vaccination, Sweden 2017. *Eurosurveillance.* 2018 Jan 1;23(3).
56. Albinsson B, Rönnerberg B, Vene S, Lundkvist Å. Antibody responses to tick-borne encephalitis virus non-structural protein 1 and whole virus antigen—a new tool in the assessment of suspected vaccine failure patients. *Infect Ecol Epidemiol.* 2019 Jan 1;9(1).
57. Lindenbach BD, Rice CM. Molecular biology of flaviviruses. *Adv Virus Res.* 2003;59:23–61.
58. Bollati M, Alvarez K, Assenberg R, Baronti C, Canard B, Cook S, et al. Structure and functionality in flavivirus NS-proteins: perspectives for drug design. *Antiviral Res.* 2010 Aug;87(2):125–48.
59. Singh V, Somvanshi P. Structural modeling of the NS 3 helicase of Tick-borne encephalitis virus and their virtual screening of potent drugs using molecular docking. *Interdiscip Sci.* 2009;1(3):168–72.
60. Muñoz-Jordán JL, Laurent-Rolle M, Ashour J, Martínez-Sobrido L, Ashok M, Lipkin WI, et al. Inhibition of alpha/beta interferon signaling by the NS4B protein of flaviviruses. *J Virol.* 2005 Jul;79(13):8004–13.
61. Muñoz-Jordán JL, Sánchez-Burgos GG, Laurent-Rolle M, García-Sastre A. Inhibition of interferon signaling by dengue virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Nov 25;100(24):14333–8.
62. Černý J, Bolfíková BČ, Valdés JJ, Grubhoffer L, Růžek D. Evolution of tertiary structure of viral RNA dependent polymerases. *PLoS One.* 2014 May 9;9(5).
63. Eyer L, Valdés JJ, Gil VA, Nencka R, Hřebabecký H, Šála M, et al. Nucleoside inhibitors of tick-borne encephalitis virus. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Sep 1;59(9):5483–93.
64. Best SM, Morris KL, Shannon JG, Robertson SJ, Mitzel DN, Park GS, et al. Inhibition of interferon-stimulated JAK-STAT signaling by a tick-borne flavivirus and identification of NS5 as an interferon antagonist. *J Virol.* 2005 Oct 15;79(20):12828–39.
65. Dai X, Shang G, Lu S, Yang J, Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg Microbes Infect.* 2018 Dec 1;7(1).
66. Tkachev SE, Chicherina GS, Golovljova I, Belokopytova PS, Tikunov AY, Zadora O V., et al. New genetic lineage within the Siberian subtype of tick-borne encephalitis virus found in Western Siberia, Russia. *Infect Genet Evol.* 2017 Dec 1;56:36–43.
67. Sukhorukov GA, Paramonov AI, Lisak O V., Kozlova I V., Bazykin GA, Neverov AD, et al. The Baikal subtype of tick-borne encephalitis virus is evident of recombination between Siberian and Far-Eastern subtypes. *PLoS Negl Trop Dis.* 2023;17(3).
68. Ecker M, Allison SL, Meixner T, Heinz FX. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *J Gen Virol.* 1999;80 ( Pt 1) (1):179–85.

69. Ternovoi VA, Kurzhuikov GP, Sokolov Y V., Ivanov GY, Ivanisenko VA, Loktev A V., et al. Tick-borne encephalitis with hemorrhagic syndrome, Novosibirsk region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis.* 2003 Jun 1;9(6):743–6.
70. Růžek D, Gritsun TS, Forrester NL, Gould EA, Kopecký J, Golovchenko M, et al. Mutations in the NS2B and NS3 genes affect mouse neuroinvasiveness of a Western European field strain of tick-borne encephalitis virus. *Virology.* 2008 May 10;374(2):249–55.
71. Poponnikova T V. Specific clinical and epidemiological features of tick-borne encephalitis in Western Siberia. *Int J Med Microbiol.* 2006 May 22;296 Suppl 40(SUPPL. 1):59–62.
72. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet.* 2008;371(9627):1861–71.
73. Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-borne encephalitis. *Clin Infect Dis.* 1999;28(4):882–90.
74. Motiejunas L, Podenaite B. Tick species and abundance of ticks in forest landscape in Lithuanian SSR. *Med Parasitol Parasit Dis.* 1972;41(2):235–7.
75. Paulauskas A, Radzijeuskaja J, Mardosaite-Busaitiene D, Aleksandravičienė A, Galdikas M, Krikštolaitis R. New localities of Dermacentor reticulatus ticks in the Baltic countries. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015 Jul 1;6(5):630–5.
76. Biernat B, Karbowski G, Werszko J, Stańczak J. Prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) RNA in Dermacentor reticulatus ticks from natural and urban environment, Poland. *Exp Appl Acarol.* 2014 Nov 4;64(4):543–51.
77. Sidorenko M, Radzijeuskaja J, Mickevičius S, Bratčikovienė N, Paulauskas A. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in questing Dermacentor reticulatus and Ixodes ricinus ticks in Lithuania. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021 Jan 1;12(1).
78. Mylonaki E, Seiberl M, Jones N, Bernhard H, Otto F, Pilz G, et al. Tick-Borne Encephalitis Virus RNA Found in Frozen Goat’s Milk in a Family Outbreak. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 1;23(19).
79. Bogovic P, P B, F S. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases.* 2015;3(5):430.
80. Kerlik J, Avdičová M, Musilová M, Bérešová J, Mezencev R. Breast Milk as Route of Tick-Borne Encephalitis Virus Transmission from Mother to Infant. *Emerg Infect Dis.* 2022 May 1;28(5):1060.
81. Lipowski D, Popiel M, Perlejewski K, Nakamura S, Bukowska-Oško I, Rządkiwicz E, et al. A cluster of fatal Tick-borne encephalitis virus infection in organ transplant setting. *J Infect Dis.* 2017 Mar 15;215(6):896–901.
82. Giménez-Richarte A, Ortiz de Salazar MI, Giménez-Richarte MP, Collado M, Fernández PL, Clavijo C, et al. Transfusion-transmitted arboviruses: Update and systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2022;16(10):1–24.
83. Riccardi N, Antonello RM, Luzzati R, Zajkowska J, Di Bella S, Giacobbe DR. Tick-borne encephalitis in Europe: a brief update on epidemiology, diagnosis, prevention, and treatment. *Eur J Intern Med.* 2019 Apr 1;62(December 2018):1–6.
84. Mavtchoutko V, Vene S, Haglund M, Forsgren M, Duks A, Kalnina V, et al. Characterization of tick-borne encephalitis virus from Latvia. *J Med Virol.* 2000;60(2):216–22.
85. Lundkvist Å, Vene S, Golovljova I, Mavtchoutko V, Forsgren M, Kalnina V. Characterization of tick-borne encephalitis virus from latvia: Evidence for co-circulation of three distinct subtypes. *J Med Virol.* 2001 Dec 1;65(4):730–5.
86. Golovljova I, Vene S, Sjölander KB, Vasilenko V, Plyusnin A, Lundkvist Å. Characterization of tick-borne encephalitis virus from Estonia. *J Med Virol.* 2004 Dec 1;74(4):580–8.



87. Sidorenko M, Radzijeuskaja J, Mickevičius S, Bratchikov M, Mardosaitė-Busaitienė D, Sakalauskas P, et al. Phylogenetic characterisation of tick-borne encephalitis virus from Lithuania. *PLoS One*. 2024 Feb 1;19(2).
88. Žygutienė M, Alekseev A, Dubinina H, Kazlauskienė R. Evidence for a risk of tick-borne infection in the city parks of Vilnius, Lithuania. *EKOLOGIJA*. 2008;54(1):40–3.
89. Zavadskā D, Odzelevica Z, Karelis G, Liepina L, Litauniece ZA, Bormane A, et al. Tick-borne encephalitis: A 43-year summary of epidemiological and clinical data from Latvia (1973 to 2016). *PLoS One*. 2018 Nov 1;13(11).
90. Krawczuk K, Czupryna P, Pancewicz S, Ołdak E, Moniuszko-Malinowska A. Comparison of tick-borne encephalitis between children and adults-analysis of 669 patients. *J Neurovirol*. 2020 Aug 1;26(4):565–71.
91. Vaisviliene D, Kilciauskiene V, Zygutiene M, Asokliene L, Caplinskas S. TBE in Lithuania: epidemiological aspects and laboratory diagnosis. *Int J Med Microbiol*. 2002;291 Suppl 33:179–81.
92. Nygren TM, Pilic A, Böhmer MM, Wagner-Wiening C, Wichmann O, Hellenbrand W. Recovery and sequelae in 523 adults and children with tick-borne encephalitis in Germany. *Infection*. 2023;51(5):1503–11.
93. Palyga-Bysiecka I, Kręciszy B, Szczepańska B. Clinical course and neurological sequels after tick-borne encephalitis in children - case report. *Ann Agric Environ Med*. 2022;29(1):162–7.
94. Schmolck H, Maritz E, Kletzin I, Korinthenberg R. Neurologic, neuropsychologic, and electroencephalographic findings after European tick-borne encephalitis in children. *J Child Neurol*. 2005;20(6):500–8.
95. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol*. 2005 Jan;17(1):1–14.
96. Fredericksen BL, Gale M. West Nile virus evades activation of interferon regulatory factor 3 through RIG-I-dependent and -independent pathways without antagonizing host defense signaling. *J Virol*. 2006 Mar 15;80(6):2913–23.
97. Růžek D, Dobler G, Mantke OD. Tick-borne encephalitis: Pathogenesis and clinical implications. *Travel Med Infect Dis*. 2010 Jul;8(4):223–32.
98. Kreil TR, Burger I, Bachmann M, Fraiss S, Eibl MM. Antibodies protect mice against challenge with tick-borne encephalitis virus (TBEV)-infected macrophages. *Clin Exp Immunol*. 1997;110(3):358–61.
99. Labuda M, Austyn JM, Zuffova E, Kozuch O, Fuchsberger N, Lysy J, et al. Importance of localized skin infection in tick-borne encephalitis virus transmission. *Virology*. 1996 May 15;219(2):357–66.
100. Plekhova NG, Somova LM, Zavorueva DV., Krylova NV., Leonova GN. NO-producing activity of macrophages infected with tick-borne encephalitis virus. *Bull Exp Biol Med*. 2008;145(3):344–7.
101. Chambers TJ, Diamond MS. Pathogenesis of flavivirus encephalitis. *Adv Virus Res*. 2003;60:273–342.
102. Dörrbecker B, Dobler G, Spiegel M, Hufert FT. Tick-borne encephalitis virus and the immune response of the mammalian host. *Travel Med Infect Dis*. 2010 Jul;8(4):213–22.
103. Mansfield KL, Johnson N, Phipps LP, Stephenson JR, Fooks AR, Solomon T. Tick-borne encephalitis virus - A review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol*. 2009;90(8):1781–94.
104. Kaiser R, Holzmann H. Laboratory findings in tick-borne encephalitis - Correlation with clinical outcome. *Infection*. 2000;28(2):78–84.

105. Růžek D, Salát J, Singh SK, Kopecký J. Breakdown of the blood-brain barrier during tick-borne encephalitis in mice is not dependent on CD8+ T-cells. *PLoS One*. 2011;6(5):1–9.
106. Schnoor M, Parkos CA. Disassembly of endothelial and epithelial junctions during leukocyte transmigration. *Front Biosci*. 2008 May 1;13(17):6638–52.
107. Gelpi E, Preusser M, Garzuly F, Holzmann H, Heinz FX, Budka H. Visualization of Central European Tick-Borne Encephalitis Infection in Fatal Human Cases. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2005 Jun 1;64(6):506–12.
108. Bogovič P, Kastrin A, Lotrič-Furlan S, Ogrinc K, Avšič Županc T, Korva M, et al. Comparison of laboratory and immune characteristics of the initial and second phase of tick-borne encephalitis. *Emerg Microbes Infect*. 2022;11(1):1647–56.
109. Zidovec-Lepej S, Vilibić-Cavlek T, Ilic M, Gorenc L, Grgić I, Bogdanic M, et al. Quantification of Antiviral Cytokines in Serum, Cerebrospinal Fluid and Urine of Patients with Tick-Borne Encephalitis in Croatia. *Vaccines*. 2022 Oct 29;10(11):1–13.
110. Růžek D, Vancová M, Tesařová M, Ahantarig A, Kopecký J, Grubhoffer L. Morphological changes in human neural cells following tick-borne encephalitis virus infection. *J Gen Virol*. 2009;90(7):1649–58.
111. Tsujino D, Yoshii K, Kajiyama M, Takahashi Y, Maekawa N, Kariwa H, et al. Necroptosis of neuronal cells is related to the neuropathology of tick-borne encephalitis. *Virus Res*. 2022 Nov 1;321.
112. Moniuszko A, Pancewicz S, Czupryna P, Grygorczuk S, Świerzbńska R, Kondrusik M, et al. SsICAM-1, IL-21 and IL-23 in patients with tick borne encephalitis and neuroborreliosis. *Cytokine*. 2012 Nov;60(2):468–72.
113. Lepej SŽ, Mišić-Majerus L, Jeren T, Rode OD, Remenar A, Šporec V, et al. Chemokines CXCL10 and CXCL11 in the cerebrospinal fluid of patients with tick-borne encephalitis. *Acta Neurol Scand*. 2007 Feb;115(2):109–14.
114. Zajkowska J, Moniuszko-Malinowska A, Pancewicz S, Muszyńska-Mazur A, Kondrusik M, Grygorczuk S, et al. Evaluation of CXCL10, CXCL11, CXCL12 and CXCL13 chemokines in serum and cerebrospinal fluid in patients with tick borne encephalitis (TBE). *Adv Med Sci*. 2011 Dec 1;56(2):311–7.
115. Toczyłowski K, Grygorczuk S, Osada J, Wojtkowska M, Bojkiewicz E, Wozinska-Klepadlo M, et al. Evaluation of cerebrospinal fluid CXCL13 concentrations and lymphocyte subsets in tick-borne encephalitis. *Int J Infect Dis*. 2020 Apr 1;93(2020):40–7.
116. Sorce S, Myburgh R, Krause KH. The chemokine receptor CCR5 in the central nervous system. *Prog Neurobiol*. 2011 Feb;93(2):297–311.
117. Grygorczuk S, Osada J, Parczewski M, Moniuszko A, Świerzbńska R, Kondrusik M, et al. The expression of the chemokine receptor CCR5 in tick-borne encephalitis. *J Neuroinflammation*. 2016;
118. Selinger M, Tykalová H, Štěrba J, Věchtová P, Vavrušková Z, Lieskovská J, et al. Tick-borne encephalitis virus inhibits rRNA synthesis and host protein production in human cells of neural origin. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(9):1–24.
119. Roth H, Magg V, Uch F, Mutz P, Klein P, Haneke K, et al. Flavivirus Infection Uncouples Translation Suppression from Cellular Stress Responses. *MBio*. 2017 Jan 1;8(1).
120. Günther G, Haglund M, Lindquist L, Forsgren M, Andersson J, Andersson B, et al. Tick-borne encephalitis is associated with low levels of interleukin-10 in cerebrospinal fluid. *Infect Ecol Epidemiol*. 2011 Jan;1(1):6029.
121. Glimåker M, Olcén P, Andersson B. Interferon-gamma in cerebrospinal fluid from patients with viral and bacterial meningitis. *Scand J Infect Dis*. 1994;26(2):141–7.

122. Kondrusik M, Zajkowska J, Pancewicz S, Swierzbńska R, Grygorczuk S, Hermanowska-Szpakowicz T. [Interferon gamma concentration in the cerebrospinal fluid of patients with tick-borne encephalitis]. *Neurol Neurochir Pol.* 2005;(39(2)):109–13.
123. Grygorczuk S, Parczewski M, Moniuszko A, Świerzbńska R, Kondrusik M, Zajkowska J, et al. Increased concentration of interferon lambda-3, interferon beta and interleukin-10 in the cerebrospinal fluid of patients with tick-borne encephalitis. *Cytokine.* 2015 Feb 1;71(2):125–31.
124. Tomažič J, Ihan A. Flow cytometric analysis of lymphocytes in cerebrospinal fluid in patients with tick-borne encephalitis. *Acta Neurol Scand.* 1997;95(1):29–33.
125. Růžek D, Salát J, Palus M, Gritsun TS, Gould EA, Dyková I, et al. CD8+ T-cells mediate immunopathology in tick-borne encephalitis. *Virology.* 2009 Feb 5;384(1):1–6.
126. Blom K, Cuapio A, Sandberg JTK, Varnaite R, Michaëlsson J, Björkström NK, et al. Cell-Mediated Immune Responses and Immunopathogenesis of Human Tick-Borne Encephalitis Virus-Infection. *Front Immunol.* 2018 Sep 26;9(September):1–10.
127. Carletti T, Zakaria MK, Marcello A. The host cell response to tick-borne encephalitis virus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 Oct 28;492(4):533–40.
128. Skallová A, Iezzi G, Ampenberger F, Kopf M, Kopecký J. Tick Saliva Inhibits Dendritic Cell Migration, Maturation, and Function while Promoting Development of Th2 Responses. *J Immunol.* 2008 May 1;180(9):6186–92.
129. Werme K, Wigerius M, Johansson M. Tick-borne encephalitis virus NS5 associates with membrane protein scribble and impairs interferon-stimulated JAK-STAT signalling. *Cell Microbiol.* 2008 Mar;10(3):696–712.
130. Yakass MB, Franco D, Quaye O. Suppressors of Cytokine Signaling and Protein Inhibitors of Activated Signal Transducer and Activator of Transcriptions As Therapeutic Targets in Flavivirus Infections. *J Interf Cytokine Res.* 2020;40(1):1–18.
131. Mickiene A, Pakalniene J, Nordgren J, Carlsson B, Hagbom M, Svensson L, et al. Polymorphisms in Chemokine Receptor 5 and Toll-Like Receptor 3 Genes Are Risk Factors for Clinical Tick-Borne Encephalitis in the Lithuanian Population. *PLoS One.* 2014 Sep 16;9(9).
132. Lindqvist R, Mundt F, Gilthorpe JD, Wölfel S, Gekara NO, Kröger A, et al. Fast type I interferon response protects astrocytes from flavivirus infection and virus-induced cytopathic effects. *J Neuroinflammation.* 2016 Oct 24;13(1):1–15.
133. Grygorczuk S, Czupryna P, Pancewicz S, Świerzbńska R, Kondrusik M, Dunaj J, et al. Intrathecal expression of IL-5 and humoral response in patients with tick-borne encephalitis. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9(4):896–911.
134. Kapadia RK, Staples JE, Gill CM, Fischer M, Khan E, Laven JJ, et al. Severe Arboviral Neuroinvasive Disease in Patients on Rituximab Therapy: A Review. *Clin Infect Dis.* 2023 Sep 14;76(6):1142–8.
135. Moffett JR, Namboodiri MA. Tryptophan and the immune response. *Immunol Cell Biol.* 2003 Aug;81(4):247–65.
136. Mándi Y, Vécsei L. The kynurenine system and immunoregulation. *J Neural Transm.* 2012 Feb;119(2):197–209.
137. Birch PJ, Grossman CJ, Hayes AG. Kynurenic acid antagonises responses to NMDA via an action at the strychnine-insensitive glycine receptor. *Eur J Pharmacol.* 1988 Sep 1;154(1):85–7.
138. Kessler M, Terramani T, Lynch G, Baudry M. A glycine site associated with N-methyl-D-aspartic acid receptors: characterization and identification of a new class of antagonists. *J Neurochem.* 1989;52(4):1319–28.
139. Parsons G, Danysz W, Quack G, Hartmann S, Lorenz B, Wollenburg C, et al. Novel systemically active antagonists of the glycine site of the N-methyl-D-aspartate

- receptor: electrophysiological, biochemical and behavioral characterization - PubMed. *J Pharmacol Exp Ther* . 1997;1264–75.
140. Hilmas C, Pereira EFR, Alkondon M, Rassoulpour A, Schwarcz R, Albuquerque EX. The brain metabolite kynurenic acid inhibits  $\alpha 7$  nicotinic receptor activity and increases non- $\alpha 7$  nicotinic receptor expression: Physiopathological implications. *J Neurosci*. 2001 Oct 1;21(19):7463–73.
  141. Levin ED, McClernon FJ, Rezvani AH. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Feb;184(3–4):523–39.
  142. Robbins TW, Murphy ER. Behavioural pharmacology: 40+ Years of progress, with a focus on glutamate receptors and cognition. *Trends Pharmacol Sci*. 2006;27(3 SPEC. ISS.):141–8.
  143. Holtze M, Mickiené A, Atlas A, Lindquist L, Schwieler L. Elevated cerebrospinal fluid kynurenic acid levels in patients with tick-borne encephalitis. *J Intern Med*. 2012 Oct;272(4):394–401.
  144. Kępka A, Janas RM, Pancewicz SA, Świerzbńska R. Serum carnitine and acyl-carnitine in patients with meningitis due to tick-borne encephalitis virus infection. *Adv Clin Exp Med*. 2017 Mar 1;26(2):277–80.
  145. Cerna F, Mehrad B, Luby JP, Burns D, Fleckenstein JL. St. Louis encephalitis and the substantia nigra: MR imaging evaluation. *Am J Neuroradiol*. 1999;20(7):1281–3.
  146. Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O’Leary D, Murray K, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med*. 2001 Jun 14;344(24):1807–14.
  147. Saksida A, Jakopin N, Jelovšek M, Knap N, Fajs L, Lusa L, et al. Virus RNA Load in Patients with Tick-Borne Encephalitis, Slovenia - Volume 24, Number 7—July 2018 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. *Emerg Infect Dis*. 2018 Jul 1;24(7):1315–23.
  148. Lotrič-Furlan S, Strle F. Thrombocytopenia, leukopenia and abnormal liver function tests in the initial phase of tick-borne encephalitis. *Zentralbl Bakteriol*. 1995;282(3):275–8.
  149. Veje M, Griška V, Pakalnienė J, Mickienė A, Bremell D, Zetterberg H, et al. Serum and cerebrospinal fluid brain damage markers neurofilament light and glial fibrillary acidic protein correlate with tick-borne encephalitis disease severity—a multicentre study on Lithuanian and Swedish patients. *Eur J Neurol*. 2023;30(10):3182–9.
  150. Voulgari N, Blanc CM, Guido V, Rossi DC, Guex-Crosier Y, Hoogewoud F. Tick-borne encephalitis related uveitis: a case report. *BMC Ophthalmol*. 2021;21(1):21–4.
  151. Duppenhaler A, Pfammatter JP, Aebi C. Myopericarditis associated with central European tick-borne encephalitis. *Eur J Pediatr*. 2000;159(11):854–6.
  152. Tomazic J, Pikelj F, Schwartz B et al. The clinical features of tick-borne encephalitis in Slovenia. A study of 492 cases in 1994. *Antibiot Monit*. 1996;12:115–20.
  153. Bogovič P, Lotrič-Furlan S, Avšič-Županc T, Lusa L, Strle F. Factors associated with severity of tick-borne encephalitis: A prospective observational study. *Travel Med Infect Dis*. 2018 Nov 1;26:25–31.
  154. Logar M, Bogovič P, Cerar D, Avšič-Županc T, Strle F. Tick-borne encephalitis in Slovenia from 2000 to 2004: Comparison of the course in adult and elderly patients. *Wien Klin Wochenschr*. 2006;118(21–22):702–7.
  155. Barkhash A V., Perelygin AA, Babenko VN, Brinton MA, Voevoda MI. Single nucleotide polymorphism in the promoter region of the CD209 gene is associated with human predisposition to severe forms of tick-borne encephalitis. *Antiviral Res*. 2012 Jan;93(1):64–8.

156. Vloek VP, Gmyl L V., Belyaletdinova IK, Karganova GG, Dekonenko EP. Progressive Course of Chronic Tick-Borne Encephalitis Manifesting as Amyotrophic Lateral Sclerosis-like Syndrome 35 Years after the Acute Disease. *Brain Sci.* 2022 Aug 1;12(8).
157. Lotrič-Furlan S, Bogovič P, Avšič-Županc T, Jelovšek M, Lusa L, Strle F. Tick-borne encephalitis in patients vaccinated against this disease. *J Intern Med.* 2017 Aug 1;282(2):142–55.
158. Wagner JN, Sonnberger M, Troescher A, Krehan I, Hauser A, Panholzer J, et al. Patients with breakthrough tick-borne encephalitis suffer a more severe clinical course and display extensive magnetic resonance imaging changes. *Eur J Neurol.* 2020;27(7):1201–9.
159. Dobler G, Kaier K, Hehn P, Böhmer MM, Kreusch TM, Borde JP. Tick-borne encephalitis virus vaccination breakthrough infections in Germany: a retrospective analysis from 2001 to 2018. *Clin Microbiol Infect.* 2020 Aug 1;26(8):1090.e7-1090.e13.
160. Bjonholm E, Soderholm S, Stephansson O, Askling HH. Tick-borne encephalitis in pregnant women: A mini narrative review. *New Microbes New Infect.* 2022 Jul 1;48:101017.
161. (ECDC) EC for DP and C. Factsheet about tick-borne encephalitis (TBE) [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/tick-borne-encephalitis/facts/factsheet>
162. Chan KR, Ismail AA, Thergarajan G, Raju CS, Yam HC, Rishya M, et al. Serological cross-reactivity among common flaviviruses. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022 Sep 15;12(September):1–14.
163. Hofmann H, Kunz C, Heinz FX, Dippe H. Detectability of IgM antibodies against TBE virus after natural infection and after vaccination. *Infection.* 1983 May;11(3):164–6.
164. Andersson CR, Vene S, Insulander M, Lindquist L, Lundkvist Å, Günther G. Vaccine failures after active immunisation against tick-borne encephalitis. *Vaccine.* 2010 Apr 1;28(16):2827–31.
165. Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine.* 2003 Apr 1;21(SUPPL. 1):S36–40.
166. Caracciolo I, Bassetti M, Paladini G, Luzzati R, Santon D, Merelli M, et al. Persistent viremia and urine shedding of tick-borne encephalitis virus in an infected immunosuppressed patient from a new epidemic cluster in North-Eastern Italy. *J Clin Virol.* 2015 Aug 1;69:48–51.
167. Veje M, Studahl M, Norberg P, Roth A, Möbius U, Brink M, et al. Detection of tick-borne encephalitis virus RNA in urine. *J Clin Microbiol.* 2014 Nov 1;52(11):4111–2.
168. Nagy A, Nagy O, Tarcsai K, Farkas Á, Takács M. First detection of tick-borne encephalitis virus RNA in clinical specimens of acutely ill patients in Hungary. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018 Mar 1;9(3):485–9.
169. Stupica D, Strle F, Avšič-Županc T, Logar M, Pečavar B, Bajrović FF. Tick borne encephalitis without cerebrospinal fluid pleocytosis. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):12–4.
170. Zawadzki R, Garkowski A, Kubas B, Zajkowska J, Hładuński M, Jurgilewicz D, et al. Evaluation of Imaging Methods in Tick-Borne Encephalitis. *Polish J Radiol.* 2017 Dec 15;82:742–7.
171. Marjelund S, Tikkakoski T, Tuisku S, Räisänen S. Magnetic resonance imaging findings and outcome in severe tick-borne encephalitis. Report of four cases and review of the literature. *Acta Radiol.* 2004;45(1):88–94.
172. Lorenzl S, Pfister HW, Padovan C, Yousry T. MRI abnormalities in tick-borne encephalitis. *Lancet (London, England).* 1996;347(9002):698–9.

173. Bender A, Schulte-Altedorneburg G, Walther EU, Pfister HW. Severe tick borne encephalitis with simultaneous brain stem, bithalamic, and spinal cord involvement documented by MRI. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005 Jan;76(1):135–7.
174. Pichler A, Sellner J, Harutyunyan G, Sonnleitner A, Klobassa DS, Archelos-Garcia JJ, et al. Magnetic resonance imaging and clinical findings in adults with tick-borne encephalitis. *J Neurol Sci*. 2017 Apr 15;375:266–9.
175. Horger M, Beck R, Fenchel M, Ernemann U, Nägele T, Brodoefel H, et al. Imaging findings in tick-borne encephalitis with differential diagnostic considerations. *AJR Am J Roentgenol*. 2012 Aug;199(2):420–7.
176. Chupakhin ON, Rusinov VL, Varaksin M V., Ulomskiy EN, Savateev K V., Butorin II, et al. Triazavirin-A Novel Effective Antiviral Drug. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 22;23(23):14537.
177. Taba P, Schmutzhard E, Forsberg P, Lutsar I, Ljøstad U, Mygland, et al. EAN consensus review on prevention, diagnosis and management of tick-borne encephalitis. *Eur J Neurol*. 2017 Oct 1;24(10):e61-1214.
178. Kumar G, Kalita J, Misra UK. Raised intracranial pressure in acute viral encephalitis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 Jun;111(5):399–406.
179. Elsterova J, Palus M, Sirmarova J, Kopecky J, Niller HH, Ruzek D. Tick-borne encephalitis virus neutralization by high dose intravenous immunoglobulin. *Ticks Tick Borne Dis*. 2017 Feb 1;8(2):253–8.
180. Bogovič P, Stupica D, Rojko T, Lotrič-Furlan S, Avšič-Županc T, Kastrin A, et al. The long-term outcome of tick-borne encephalitis in Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018 Feb 1;9(2):369–78.
181. Czupryna P, Moniuszko A, Pancewicz SA, Grygorczuk S, Kondrusik M, Zajkowska J. Tick-borne encephalitis in Poland in years 1993-2008--epidemiology and clinical presentation. A retrospective study of 687 patients. *Eur J Neurol*. 2011 May;18(5):673–9.
182. Van Den Tooren H, Easton A, Hooper C, Mullin J, Fish J, Carson A, et al. How should we define a 'good' outcome from encephalitis? A systematic review of the range of outcome measures used in the long-term follow-up of patients with encephalitis. *Clin Med J R Coll Physicians London*. 2022 Mar 1;22(2):145–8.
183. Lewthwaite P, Begum A, Ooi MH, Faragher B, Lai BF, Sandaradura I, et al. Disability after encephalitis: development and validation of a new outcome score. *Bull World Health Organ*. 2010 Aug 8;88(8):584.
184. Brenner J, Olijslagers SHC, Crijnen YS, de Vries JM, Mandarakas MR, Titulaer MJ. Clinical Outcome Assessments in Encephalitis: A Systematic Review. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2024 Jan 1;11(1):e200168.
185. Lim JA, Lee ST, Moon J, Jun JS, Kim TJ, Shin YW, et al. Development of the clinical assessment scale in autoimmune encephalitis. *Ann Neurol*. 2019 Mar 1;85(3):352–8.
186. Lezak MD, Howieson DB, Bigler ED, Tranel D. *Neuropsychological Assessment*. Fifth edition. Oxford University Press;
187. Meador KJ, Allison JD, Loring DW, Lavin TB, Pillai JJ. Topography of somatosensory processing: cerebral lateralization and focused attention. *J Int Neuropsychol Soc*. 2002;8(3):349–59.
188. Meador KJ, Ray PG, Day LJ, Loring DW. Relationship of extinction to perceptual thresholds for single stimuli. *Neurology*. 2001 Apr 24;56(8):1044–7.
189. Levitan IB, Kaczmarek LK. *The neuron : cell and molecular biology*. :579.
190. FUSTER JM. Temporal processing. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;769(1):173–82.
191. Gazzaniga MS. *The new cognitive neurosciences*. MIT Press; 2000. 1419 p.

192. Denburg NL, Tranel D, Bechara A. The ability to decide advantageously declines prematurely in some normal older persons. *Neuropsychologia*. 2005 Jan 1;43(7):1099–106.
193. Denburg NL, Cole CA, Hernandez M, Yamada TH, Tranel D, Bechara A, et al. The Orbitofrontal Cortex, Real-World Decision Making, and Normal Aging. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1121:480.
194. Eslinger PJ, Damasio AR. Severe disturbance of higher cognition after bilateral frontal lobe ablation: patient EVR. *Neurology*. 1985;35(12):1731–41.
195. Blair RJR, Cipolotti L. Impaired social response reversal A case of “acquired sociopathy.” *Brain*. 2000;123:1122–41.
196. Hokkanen L, Launes J. Neuropsychological sequelae of acute-onset sporadic viral encephalitis. *Neuropsychol Rehabil*. 2007 Aug;17(4–5):450–77.
197. Benedict RHB, Fischer JS, Archibald CJ, Arnett PA, Beatty WW, Bobholz J, et al. Minimal neuropsychological assessment of MS patients: a consensus approach. *Clin Neuropsychol*. 2002 Aug;16(3):381–97.
198. Morris JC, Weintraub S, Chui HC, Cummings J, DeCarli C, Ferris S, et al. The Uniform Data Set (UDS): clinical and cognitive variables and descriptive data from Alzheimer Disease Centers. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2006 Oct;20(4):210–6.
199. Fowler Å, Forsman L, Eriksson M, Wickström R. Tick-Borne Encephalitis Carries a High Risk of Incomplete Recovery in Children. *J Pediatr*. 2013 Aug 1;163(2):555–60.
200. Krbková L, Štroblová H, Bednářová J. Clinical course and sequelae for tick-borne encephalitis among children in South Moravia (Czech Republic). *Eur J Pediatr*. 2015 Apr 1;174(4):449–58.
201. Haglund M, Forsgren M, Lindh G, Lindquist L. A 10-year follow-up study of tick-borne encephalitis in the Stockholm area and a review of the literature: need for a vaccination strategy. *Scand J Infect Dis*. 1996;28(3):217–24.
202. Karelis G, Bormane A, Logina I, Lucenko I, Suna N, Krumina A, et al. Tick-borne encephalitis in Latvia 1973-2009: epidemiology, clinical features and sequelae. *Eur J Neurol*. 2012 Jan;19(1):62–8.
203. Quist-Paulsen E, Ormaasen V, Kran AMB, Dunlop O, Ueland PM, Ueland T, et al. Encephalitis and aseptic meningitis: short-term and long-term outcome, quality of life and neuropsychological functioning. *Sci Rep*. 2019 Dec 1;9(1):1–9.
204. Eikeland R, Ljøstad U, Mygland Å, Herlofson K, Løhaugen GC. European neuroborreliosis: Neuropsychological findings 30months post-treatment. *Eur J Neurol*. 2012;19(3):480–7.
205. Andreassen S, Lindland EMS, Beyer MK, Solheim AM, Ljøstad U, Mygland Å, et al. Assessment of cognitive function, structural brain changes and fatigue 6 months after treatment of neuroborreliosis. *J Neurol*. 2022;
206. Weinmayr LM, Kanz D, Eckenweiler M, Bormann T, Huzly D, Bardutzky J, et al. Acute tick-borne encephalitis during pregnancy – An alarming combination. *Ticks Tick Borne Dis*. 2020 Nov 1;11(6):10–1.
207. Ripamonti E, Gaffuri M, Molteni F. Cognitive, neuropsychiatric, and motor profile in post tick-borne flaviviral encephalomyelitis. *Neurol Sci*. 2020 Dec 1;41(12):3759–60.
208. Tulving E, Craik FIM. *The Oxford Handbook of Memory*. New York Oxford University Press.; 2000.
209. Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol*. 2016 Apr 1;15(4).
210. Leypoldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Ann N Y Acad Sci*. 2015 Mar 1;1338(1):94.

211. Wagner JN, Kalev O, Sonnberger M, Krehan I, von Oertzen TJ. Evaluation of Clinical and Paraclinical Findings for the Differential Diagnosis of Autoimmune and Infectious Encephalitis. *Front Neurol.* 2018 Jun 8;9(JUN).
212. Dubey D, Pittock SJ, Kelly CR, McKeon A, Lopez-Chiriboga AS, Lennon VA, et al. Autoimmune encephalitis epidemiology and a comparison to infectious encephalitis. *Ann Neurol.* 2018 Jan 1;83(1):166–77.
213. Nosadini M, Mohammad SS, Corazza F, Ruga EM, Kothur K, Perilongo G, et al. Herpes simplex virus-induced anti-N-methyl-d-aspartate receptor encephalitis: a systematic literature review with analysis of 43 cases. *Dev Med Child Neurol.* 2017 Aug 1;59(8):796–805.
214. Ho ACC, Mohammad SS, Pillai SC, Tantsis E, Jones H, Ho R, et al. High sensitivity and specificity in proposed clinical diagnostic criteria for anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Dev Med Child Neurol.* 2017 Dec 1;59(12):1256–60.
215. Lai M, Huijbers MGM, Lancaster E, Graus F, Bataller L, Balice-Gordon R, et al. Investigation of LGII as the antigen in limbic encephalitis previously attributed to potassium channels: a case series. *Lancet Neurol.* 2010;9(8):776.
216. Irani SR, Alexander S, Waters P, Kleopa KA, Pettingill P, Zuliani L, et al. Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan’s syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain.* 2010;133(9):2734.
217. Iranzo A, Graus F, Clover L, Morera J, Bruna J, Vilar C, et al. Rapid eye movement sleep behavior disorder and potassium channel antibody-associated limbic encephalitis. *Ann Neurol.* 2006;59(1):178–81.
218. Muñoz-Lopetegi A, Guasp M, Prades L, Martínez-Hernández E, Rosa-Justicia M, Patricio V, et al. Neurological, psychiatric, and sleep investigations after treatment of anti-leucine-rich glioma-inactivated protein 1 (LGII) encephalitis in Spain: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 2024 Mar;23(3):256–66.
219. Irani SR, Pettingill P, Kleopa KA, Schiza N, Waters P, Mazia C, et al. Morvan syndrome: clinical and serological observations in 29 cases. *Ann Neurol.* 2012 Aug;72(2):241–55.
220. Griffith SP, Malpas CB, Alptsis R, O’Brien TJ, Monif M. The neuropsychological spectrum of anti-LGII antibody mediated autoimmune encephalitis. *J Neuroimmunol.* 2020 Aug 15;345.
221. Nersesjan V, Amiri M, Nilsson AC, Wamberg C, Vorobieva V, Jensen S, et al. SARS-CoV-2 and autoantibodies in the cerebrospinal fluid of COVID-19 patients: prospective multicentre cohort study. 2023;
222. Schwenkenbecher P, Skripuletz T, Lange P, Dürr M, Konen FF, Möhn N, et al. Intrathecal Antibody Production Against Epstein-Barr, Herpes Simplex, and Other Neurotropic Viruses in Autoimmune Encephalitis. *Neurol Neuroimmunol neuroinflammation.* 2021 Nov 24;8(6).
223. Lu H, Liao Y, Zhang C, Wen W, Du Y, Zhao M, et al. A case of herpes simplex virus induced peripheral neuropathy and encephalitis with positive GM3 and CASPR2 antibody. *BMC Neurol.* 2023 Dec 1;23(1).
224. Zhang LM, Zhang HB, Zou YF, Liu MW. Contactin-associated protein-2 and anti-aquaporin-4 antibody positive autoimmune encephalitis secondary to herpes simplex encephalitis: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2023 May 19;102(20):E33767.
225. Guo K, Zheng B, Hao X. Anti-Caspr2 encephalitis coexisting with neurosyphilis: a rare case report. *Acta Neurol Belg.* 2023 Oct 1;123(5):2023–5.
226. Liu X, Wang L, Zhong D, Yan B, Hao X. Anti-CASPR2 myeloencephalitis with active replication of hepatitis B virus in the central nervous system: a case report. *Acta Neurol Belg.* 2022 Oct 1;122(5):1385–7.



227. Berek K, Beer R, Grams A, Helbok R, Lindner A, Pfausler B, et al. Caspr2 antibodies in herpes simplex encephalitis: an extension of the spectrum of virus induced autoimmunity? - A case report. *BMC Neurol.* 2022 Dec 1;22(1).
228. Petit-Pedrol M, Armangue T, Peng X, Bataller L, Cellucci T, Davis R, et al. Encephalitis with refractory seizures, status epilepticus, and antibodies to the GABAA receptor: a case series, characterisation of the antigen, and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol.* 2014 Mar;13(3):276.
229. Dalmau J, Graus F. Antibody-Mediated Encephalitis. *N Engl J Med.* 2018;378(9):840–51.
230. Ehler E, Latta J, Mandysová P, Havlasová J, Mrklovský M. Stiff-person syndrome following tick-borne meningoencephalitis. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2011;54(4):170–4.
231. Armangue T, Moris G, Cantarin-Extremera V, Conde CE, Rostasy K, Erro ME, et al. Autoimmune post-herpes simplex encephalitis of adults and teenagers. *Neurology.* 2015 Nov 11;85(20):1736.
232. Do Valle DA, Santos MLSF, Spinosa MJ, Telles BA, Prando C, Cordeiro ML. GABAA receptor encephalitis associated with human parvovirus B19 virus infection: Case report. *Medicine (Baltimore).* 2021 Jun 11;100(23):E26324.
233. Höftberger R, Titulaer MJ, Sabater L, Dome B, Rózsás A, Hegedus B, et al. Encephalitis and GABAB receptor antibodies: Novel findings in a new case series of 20 patients. *Neurology.* 2013 Oct 10;81(17):1500.
234. Hainsworth JB, Shishido A, Theeler BJ, Carroll CG, Fasano RE. Treatment responsive GABA(B)-receptor limbic encephalitis presenting as new-onset super-refractory status epilepticus (NORSE) in a deployed U.S. soldier. *Epileptic Disord.* 2014 Dec 1;16(4):486–93.
235. Jarius S, Steinmeyer F, Knobel A, Streitberger K, Hotter B, Horn S, et al. GABAB receptor antibodies in paraneoplastic cerebellar ataxia. *J Neuroimmunol.* 2013 Mar 15;256(1–2):94–6.
236. Shen JY, Ng GJ, Yeo T. Anti-GABAB receptor encephalitis after COVID-19 infection. *QJM.* 2022 Oct 1;115(10):686–8.
237. Liu B, Liu J, Sun H, Xie M, Yang C, Pan Y, et al. Autoimmune encephalitis after Japanese encephalitis in children: A prospective study. *J Neurol Sci.* 2021 May 15;424.
238. Alamowitch S, Graus F, Uchuya M, Reñé R, Bescansa E, Delattre JY. Limbic encephalitis and small cell lung cancer. Clinical and immunological features. *Brain.* 1997 Jun;120 ( Pt 6)(6):923–8.
239. Ding J, Xu D, Lv J, Wu T, Li J, Tian M, et al. Pulmonary infection and baseline mRS scores predict poor prognosis in anti-GABABR encephalitis. *Front Immunol.* 2022 Aug 25;13.
240. Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichman AJ, Shu H, et al. AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location.
241. Yang J, Wu P, Liu X, Xia H, Lai Z. Autoimmune Encephalitis With Multiple Auto-Antibodies With Concomitant Human Herpesvirus-7 and Ovarian Teratoma: A Case Report. *Front Med.* 2022 Feb 14;8.
242. Sun S, Ren J, Zhong Z, Ma X, Shang D, Su C, et al. Case report: Overlapping anti-AMPA receptor encephalitis with anti-IgLON5 disease post herpes simplex virus encephalitis. *Front Immunol.* 2024;14.
243. Boronat A, Gelfand JM, Gresa-Arribas N, Jeong HY, Walsh M, Roberts K, et al. Encephalitis and antibodies to DPPX, a subunit of Kv4.2 potassium channels. *Ann Neurol.* 2013 Jan;73(1):120.

244. Hara M, Ariño H, Petit-Pedrol M, Sabater L, Titulaer MJ, Hernandez EM, et al. DPPX antibody-associated encephalitis: Main syndrome and antibody effects. *Neurology*. 2017 Apr 4;88(14):1340.
245. Jin Y, Lan W, Chen X, Liu W, Luo W, Chen S. A rare case of anti-DPPX encephalitis combined with neuroleptospirosis. *BMC Neurol*. 2024 Dec 1;24(1).
246. Ruzek D, Avšič Županc T, Borde J, Chrdele A, Eyer L, Karganova G, et al. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. 2019 Apr 1;164:23–51.
247. Bridel C, Van Wieringen WN, Zetterberg H, Tijms BM, Teunissen CE, Alvarez-Cermeño JC, et al. Diagnostic Value of Cerebrospinal Fluid Neurofilament Light Protein in Neurology: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2019 Sep 1;76(9):1035–48.
248. Nissen MS, Ryding M, Nilsson AC, Madsen JS, Olsen DA, Halekoh U, et al. CSF-Neurofilament Light Chain Levels in NMDAR and LGI1 Encephalitis: A National Cohort Study. *Front Immunol*. 2021 Dec 16;12.
249. Mattila OS, Ashton NJ, Blennow K, Zetterberg H, Harve-Rytsälä H, Pihlasviita S, et al. Ultra-Early Differential Diagnosis of Acute Cerebral Ischemia and Hemorrhagic Stroke by Measuring the Prehospital Release Rate of GFAP. *Clin Chem*. 2021 Oct 1;67(10):1361–72.
250. Baldacci F, Lista S, Palermo G, Giorgi FS, Vergallo A, Hampel H. The neuroinflammatory biomarker YKL-40 for neurodegenerative diseases: advances in development. *Expert Rev Proteomics*. 2019 Jul 3;16(7):593–600.
251. Tavčar Verdev P, Potokar M, Korva M, Resman Rus K, Kolenc M, Avšič Županc T, et al. In human astrocytes neurotropic flaviviruses increase autophagy, yet their replication is autophagy-independent. *Cell Mol Life Sci*. 2022 Nov 1;79(11):1–24.
252. Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med*. 2018 Dec 1;284(6):643–63.
253. Blennow K, Diaz-lucena D, Zetterberg H, Villar-pique A, Karch A, Vidal E, et al. CSF neurogranin as a neuronal damage marker in CJD : a comparative study with AD. 2019;129:846–53.
254. Yang J, Korley FK, Dai M, Everett AD, States U, States U, et al. Serum neurogranin measurement as a biomarker of acute traumatic brain injury. 2015;48(0):843–8.
255. Vos A De, Bjerke M, Brouns R, Roeck N De, Jacobs D, Abbeele L Van Den, et al. Neurogranin and tau in cerebrospinal fluid and plasma of patients with acute ischemic stroke. 2017;1–8.
256. Guha D, Wagner MCE, Ayyavoo V. Human immunodeficiency virus type 1 dysregulates neurogranin and induces synaptodendritic injury. 2018;1–12.
257. Studahl M, Rosengren L, Günther G, Hagberg L. Difference in pathogenesis between herpes simplex virus type 1 encephalitis and tick-borne encephalitis demonstrated by means of cerebrospinal fluid markers of glial and neuronal destruction. *J Neurol*. 2000;247(8):636–42.
258. Petzold A, Groves M, Leis AA, Scaravilli F, Stokic DS. Neuronal and glial cerebrospinal fluid protein biomarkers are elevated after West Nile Virus infection. *Muscle Nerve*. 2010 Jan 1;41(1):42–9.
259. Hills SL, Poehling KA, Chen WH, Staples JE. Tick-Borne Encephalitis Vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices, United States, 2023. Vol. 72, *MMWR. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports*. 2023. 1–29 p.
260. Ambrozaitis A, Baranauskaitė A, Dalinkevičienė E, Gumbrienė L, Jančorienė L, Juozaitytė E, et al. Suaugusiųjų skiepijimo Lietuvoje rekomendacijos. 2022.

261. Zens KD, Baroutsou V, Sinniger P, Lang P. A cross-sectional study evaluating tick-borne encephalitis vaccine uptake and timeliness among adults in Switzerland. *PLoS One*. 2021 Dec 1;16(12).
262. Askling HH, Insulander M, Hergens MP, Leval A. Tick borne encephalitis (TBE)-vaccination coverage and analysis of variables associated with vaccination, Sweden. *Vaccine*. 2015 Sep 11;33(38):4962–8.
263. V-192 Dėl Nacionalinės imunoprofilaktikos 2024–2028 metų programos patvirtinimo [Internet]. [cited 2024 Apr 17]. Available from: <https://e-tar.lt/portal/lt/legalAct/527b3a30c9c211eea5a28c81c82193a8>
264. Bröker M, Kollaritsch H. After a tick bite in a tick-borne encephalitis virus endemic area: current positions about post-exposure treatment. *Vaccine*. 2008 Feb 13;26(7):863–8.
265. Waldvogel K, Bossart W, Huisman T, Boltshauser E, Nadal D. Severe tick-borne encephalitis following passive immunization. *Eur J Pediatr*. 1996;155(9):775–9.
266. Kluger G, Schöttler A, Waldvogel K, Nadal D, Hinrichs W, Wündisch GF, et al. Tickborne encephalitis despite specific immunoglobulin prophylaxis. *Lancet (London, England)*. 1995 Dec 2;346(8988):1502.
267. WMA. Declaration of Helsinki - Ethical principles for medical research involving human subjects [Internet]. 1964. Available from: <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>
268. Nuechterlein KH, Green MF, Kern RS, Baade LE, Barch DM, Cohen JD, et al. The MATRICS Consensus Cognitive Battery, part 1: test selection, reliability, and validity. *Am J Psychiatry*. 2008 Feb;165(2):203–13.
269. Kern RS, Nuechterlein KH, Green MF, Baade LE, Fenton WS, Gold JM, et al. The MATRICS Consensus Cognitive Battery, part 2: co-norming and standardization. *Am J Psychiatry*. 2008 Feb;165(2):214–20.
270. Engman ML, Lindström K, Sallamba M, Hertz C, Sundberg B, Hansson MEA, et al. One-year follow-up of tick-borne central nervous system infections in childhood. *Pediatr Infect Dis J*. 2012 Jun;31(6):570–4.
271. Ullman H, Fowler Å, Wickström R. Erratum to “Increased working memory related fMRI signal in children following Tick Borne Encephalitis” [Eur J Paediatr Neurol 20 (1) (January 2016) 125-130]. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016 Jul 1;20(4):688.
272. Pranckeviciene A, Deltuva VP, Tamasauskas A, Bunevicius A. Association between psychological distress, subjective cognitive complaints and objective neuropsychological functioning in brain tumor patients. *Clin Neurol Neurosurg*. 2017 Dec 1;163:18–23.
273. Jurga AM, Paleczna M, Kadluczka J, Kuter KZ. Beyond the GFAP-Astrocyte Protein Markers in the Brain. *Biomol* 2021, Vol 11, Page 1361. 2021 Sep 14;11(9):1361.
274. Ceban F, Ling S, Lui LMW, Lee Y, Gill H, Teopiz KM, et al. Fatigue and cognitive impairment in Post-COVID-19 Syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2022 Mar 1;101:93–135.

## MOKSLINIŲ STRAIPSNIŲ SĄRAŠAS




1. Veje M, **Griška V**, Pakalnienė J, Mickienė A, Bremell D, Zetterberg H, Blennow K, Lindquist L, Studahl M. Serum and cerebrospinal fluid brain damage markers neurofilament light and glial fibrillary acidic protein correlate with tick-borne encephalitis disease severity-a multicentre study on Lithuanian and Swedish patients. *Eur J Neurol*. 2023 Oct;30(10):3182-3189. doi: 10.1111/ene.15978. Epub 2023 Jul 23. PMID: 37431060.
2. **Griška V**, Prancėvičienė A, Pakalnienė J, Gabrijolavičiūtė D, Veje M, Studahl M, Ahlberg J, Schwieler L, Lindquist L, Mickienė A. Long-term neurological and neurocognitive impairments after tick-borne encephalitis in Lithuania - a prospective study. *Infectious Diseases*, 1–11. <https://doi.org/10.1080/23744235.2024.2346793>. Published online: 06 May 2024.

## MOKSLINIŲ KONFERENCIJŲ SĄRAŠAS

### Tyrimo rezultatai pristatyti tarptautinėse mokslinėse konferencijose:

1. „Tick-borne infections in Europe – Scientific evidence and attitudes”. 2019 03 14. Ryga, Latvija. Žodinis pranešimas.
2. 21<sup>st</sup> ISW-TBE Annual meeting “TBE - Record year 2018”/International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE). 2019 05 16. Viena, Austrija. Žodinis pranešimas.
3. „31<sup>st</sup> ECCMID, the European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases“. 2021 07 09-12. Nuotolinė konferencija. Žodinis pranešimas.
4. „32<sup>nd</sup> ECCMID, the European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases“. 2022 04 23-26. Lisabona, Portugalija. Stendinis pranešimas.
5. „61<sup>st</sup> Annual Meeting of the American College of Neuropsychopharmacology (ACNP). 2022 12 05. Finiksas, Arizona, JAV. Stendinis pranešimas. Santraukos nr. 397.
6. „61<sup>st</sup> Annual Congress of the Scandinavian College of Neuropsychopharmacology (SCNP). 2023 06 07-09, Stokholmas, Švedija. Stendinis pranešimas. Santraukos nr. 121.
7. „Health Sciences: Inaugural Symposium of CNRS (France) and Lithuanian Sciences“. 2022 12 07. Nuotolinė konferencija. Žodinis pranešimas.
8. „Baltic Young Infectologists Conference“. 2023 03 24, Ryga, Latvija. Žodinis pranešimas.

## Serum and cerebrospinal fluid brain damage markers neurofilament light and glial fibrillary acidic protein correlate with tick-borne encephalitis disease severity—a multicentre study on Lithuanian and Swedish patients

Malin Veje<sup>1,2</sup>  | Vytautas Griška<sup>3</sup> | Jolita Pakalnienė<sup>3</sup>  | Aukšė Mickienė<sup>3</sup> | Daniel Bremell<sup>1,2</sup>  | Henrik Zetterberg<sup>4,5,6,7,8,9</sup> | Kaj Blennow<sup>4,5</sup> | Lars Lindquist<sup>10</sup> | Marie Studahl<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biomedicine, Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska Academy at the Gothenburg University, Gothenburg, Sweden

<sup>2</sup>Region Västra Götaland, Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska University Hospital, Gothenburg, Sweden

<sup>3</sup>Department of Infectious Diseases, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania

<sup>4</sup>Department of Psychiatry and Neurochemistry, Institute of Neuroscience and Physiology, Sahlgrenska Academy at the University of Gothenburg, Mölndal, Sweden

<sup>5</sup>Clinical Neurochemistry Laboratory, Sahlgrenska University Hospital, Mölndal, Sweden

<sup>6</sup>Department of Neurodegenerative Disease, UCL Institute of Neurology, London, UK

<sup>7</sup>UK Dementia Research Institute at UCL, London, UK

<sup>8</sup>Hong Kong Center for Neurodegenerative Diseases, Hong Kong, China

<sup>9</sup>Wisconsin Alzheimer's Disease Research Center, University of Wisconsin School of Medicine and Public Health, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, USA

<sup>10</sup>Department of Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

### Correspondence

Malin Veje, Institute of Biomedicine, Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska Academy at the Gothenburg University, Journalvägen 10, Gothenburg S-416 50, Sweden.  
Email: malin.veje@gu.se

### Funding information

Alzheimer's Association; Alzheimer's Drug Discovery Foundation; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; European Union; Familjen Erling-Perssons Stiftelse; Hjärnfonden; HORIZON EUROPE Innovative Europe; HORIZON EUROPE Marie Skłodowska-Curie Actions; Olav Thon Stiftelsen; Pfizer; Stiftelsen för Gamla Tjänarinnor; Swedish state; UK Dementia Research Institute; Västra Götalandsregionen; Vetenskapsrådet

### Abstract

**Background and purpose:** Our aim was to examine the correlation between biomarkers of neuronal and glial cell damage and severity of disease in patients with tick-borne encephalitis.

**Methods:** One hundred and fifteen patients with tick-borne encephalitis diagnosed in Lithuania and Sweden were prospectively included, and cerebrospinal fluid (CSF) and serum samples were obtained shortly after hospitalization. Using pre-defined criteria, cases were classified as mild, moderate or severe tick-borne encephalitis. Additionally, the presence of spinal nerve paralysis (myelitis) and/or cranial nerve affection were noted. Concentrations of the brain cell biomarkers glial fibrillary acidic protein (GFAP), YKL-40, S100B, neurogranin, neurofilament light (NFL) and tau were analysed in CSF and, in addition, NFL, GFAP and S100B levels were measured in serum. The Jonckheere-Terpstra test was used for group comparisons of continuous variables and Spearman's partial correlation test was used to adjust for age.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

© 2023 The Authors. *European Journal of Neurology* published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of European Academy of Neurology.

**Results:** Cerebrospinal fluid and serum concentrations of GFAP and NfL correlated with disease severity, independent of age, and with the presence of nerve paralysis. The markers neurogranin, YKL-40, tau and S100B in CSF and S100B in serum were detected, but their concentrations did not correlate with disease severity.

**Conclusions:** Neuronal cell damage and astroglial cell activation with increased NfL and GFAP in CSF and serum were associated with a more severe disease, independent of age. Increased GFAP and NfL concentrations in CSF and NfL in serum were also indicative of spinal and/or cranial nerve damage. NfL and GFAP are promising prognostic biomarkers in tick-borne encephalitis, and future studies should focus on determining the association between these biomarkers and long-term sequelae.

#### KEYWORDS

central nervous system, neurofilament, neuroglia, tick-borne encephalitis, viral encephalitis

## INTRODUCTION

Tick-borne encephalitis (TBE) is the most common central nervous system (CNS) viral disease in parts of Europe and Asia. It is highly endemic in Lithuania, and the incidence in Sweden is increasing [1]. No antiviral treatment against TBE is available. The clinical presentation varies substantially, and more severe symptoms in the acute phase have been linked to a larger proportion of long-term sequelae [2].

Neurons in several parts of the CNS can be infected by TBE virus (TBEV), mainly the medulla oblongata, pons, nucleus dentatus, basal ganglia, anterior horns of the spinal cord, and cerebellum [3]. To what extent the neurological damage is caused by direct viral infection or by inflammation has not been completely clarified [4]. TBEV RNA is rarely detected in cerebrospinal fluid (CSF), and viral RNA levels cannot be used to determine either disease severity or prognosis [5]. Magnetic resonance imaging, which has been investigated in a few studies, has hitherto not been shown sensitive enough to predict long-term prognosis [6].

From a prognostic perspective, a variety of different brain damage markers have been described in CNS disorders, including infectious diseases [7–10]. Upon cell damage, these markers leak into the CSF and blood and their detection reflects impairment of different cells in the CNS.

Neurofilament light (NfL) in serum and CSF is a well-established marker of neuroaxonal damage in other acute neurological conditions, such as traumatic brain injury and stroke. Serum NfL levels can be used to predict the extent of neurological damage and prognosis after ischaemic stroke [9, 11]. In herpes simplex encephalitis (HSE) patients, higher CSF NfL seems to correlate with the presence of long-term sequelae [10].

Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is part of the cytoskeletal protein of astrocytes and reflects astrocyte function. GFAP can be detected both in serum and CSF and concentrations rise early after stroke [12].

YKL-40, a glycoprotein involved in inflammation and produced by several cell types in the CNS, when measured in CSF is considered a marker of astroglial activation and neurodegeneration [13].

The intracellular protein S100B is actively secreted by astrocytes in response to stress and has been used for prognostic prediction after traumatic brain injury [8]. Tau protein is considered a marker of neurodegeneration and neurogranin, a protein reflecting synaptic degeneration [14].

The above-mentioned biomarkers are well established in several neurological conditions. However, apart from the study on HSE [10], they have been sparsely examined in CNS infections. A report on patients infected with West Nile virus, a flavivirus related to TBEV, described elevated concentrations of both neurofilament heavy protein and astrocyte markers GFAP and S100B [15].

In TBE patients, few studies have investigated these markers. In a recent report from Czechia, concentrations of phosphorylated neurofilament heavy subunit measured in the CSF were higher in TBE patients than in healthy blood donors [16]. A Polish group found higher CSF concentrations of tau protein and neuron-specific enolase in TBE patients compared with controls [17, 18]. An earlier study conducted in Sweden concluded that GFAP concentration was elevated in TBE patients compared with controls, but at significantly lower levels than in HSE patients [19].

There is a need for biomarkers predicting prognosis and possibly for monitoring effect during future treatment studies in TBE. In the present study, the aim was to investigate the use for markers of brain damage detected in serum and CSF samples from prospectively included TBE patients in Lithuania and Sweden.

## MATERIALS AND METHODS

### Patients

Two prospectively included cohorts form the basis for our study. At the Department of Infectious Diseases at Lithuanian University of Health Sciences, patients with TBE were included prospectively between June 2018 and May 2019. Starting in 2014, a prospective study on TBE patients has been conducted at the Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska University Hospital, in Gothenburg,

Sweden. During 2019, patients were also included at the Department of Infectious Diseases, Skaraborg Hospital in Skövde. Inclusion criteria were age  $\geq 18$  years and confirmed TBE diagnosis, according to the European Centre for Disease Prevention and Control definition [1]. Serum and CSF were collected. In all cases, the first available samples were analysed. All samples were drawn during the first 2 weeks after hospitalization (range -3 to 12 days, with median day 0 after admission).

During the acute phase, all patients were categorized as having mild, moderate or severe disease, in line with previous studies. Mild disease was defined as causing primarily meningeal symptoms (fever, headache, neck rigidity, nausea, vomiting). Moderate disease included the presence of monofocal encephalitic symptoms (ataxia, dysphasia, tremor, single cranial nerve paralysis) and/or moderate diffuse brain dysfunction (Glasgow Coma Scale score 14–10). Cases with multifocal encephalitic symptoms and/or Glasgow Coma Scale  $\leq 9$  were defined as severe [2]. Additionally, data on spinal and/or cranial nerve impairment were collected.

The study complied with the Declaration of Helsinki. All patients gave oral and written consent, and the study protocols were approved by the respective regional ethics committees (Gothenburg regional ethics committee, 994-14 and 229-14; Kaunas regional bioethics committee, BE-2-45).

### Detection of brain damage markers

Cerebrospinal fluid GFAP and NFL concentrations were measured with in-house sandwich enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs), as previously described [20, 21]. For quantification of NFL in serum, an in-house digital ELISA on a single molecule array (Simoa) platform (Quanterix, Billerica, MA, USA) was utilized, as previously described [22]. Serum GFAP concentration was measured using the GFAP Discovery Kit for Simoa (Quanterix). CSF tau concentration was measured using the commercially available INNOTEST ELISA (Fujirebio, Ghent, Belgium). S100B concentration in serum and CSF was measured on the modular system using the S100 reagent kit (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). For CSF YKL-40 detection, a commercial ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) was used. CSF neurogranin concentration was measured with a previously described in-house ELISA [23]. All analyses were performed by board-certified laboratory technicians in one round of analyses using one batch of reagents. Intra-assay coefficients of variation were below 10%.

### Statistical analyses

For comparison between groups, the Mantel-Haenszel chi-squared test was used for ordinal categorical variables and the Jonckheere-Terpstra test for continuous variables. The association between two continuous variables was tested with the Spearman correlation. Adjustment for age was made with Spearman's partial correlation.

Data analyses were performed with SAS, version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA) and Prism version 9.5.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

## RESULTS

In total, 115 TBE patients (60% male, 40% female) were included in the study, 98 from Lithuania and 17 from Sweden (15 from Gothenburg and two from Skövde). There was no mortality. In summary, 56 patients (49%) had mild disease, 48 patients (42%) moderate and 11 patients (9.6%) severe disease. Twenty-seven patients (23.5%) suffered from either spinal ( $n=18$ ) or cranial ( $n=15$ ) nerve impairment, whereas six patients (5.2%) had both. The most frequent spinal nerve affection was monoparesis of the upper extremities ( $n=12$ ), followed by paraparesis of the lower extremities ( $n=2$ ). One patient each suffered from monoparesis of the lower extremities, hemiparesis, tetraparesis and erectile dysfunction. The most frequently affected cranial nerve was *n. oculomotorius* ( $n=6$ ), followed by *n. vestibulocochlearis* ( $n=4$ ), *n. facialis* ( $n=3$ ) and *n. hypoglossus* ( $n=1$ ). One patient suffered from unilateral vocal cord paresis (*n. vagus*); however, it could not be determined whether this was caused by infection or intubation. Disease severity differed between the two cohorts, where the proportions of mild/moderate/severe disease were 56%/37%/7.1% in the Lithuanian patients and 5.9%/71%/24% amongst the Swedish patients. 83/115 cases (72%) had a biphasic disease pattern, and the percentage of monophasic disease was higher in patients with more severe disease ( $p < 0.05$ ). Disease severity correlated with increasing age. The proportion of men was higher in the mild disease group (Table 1).

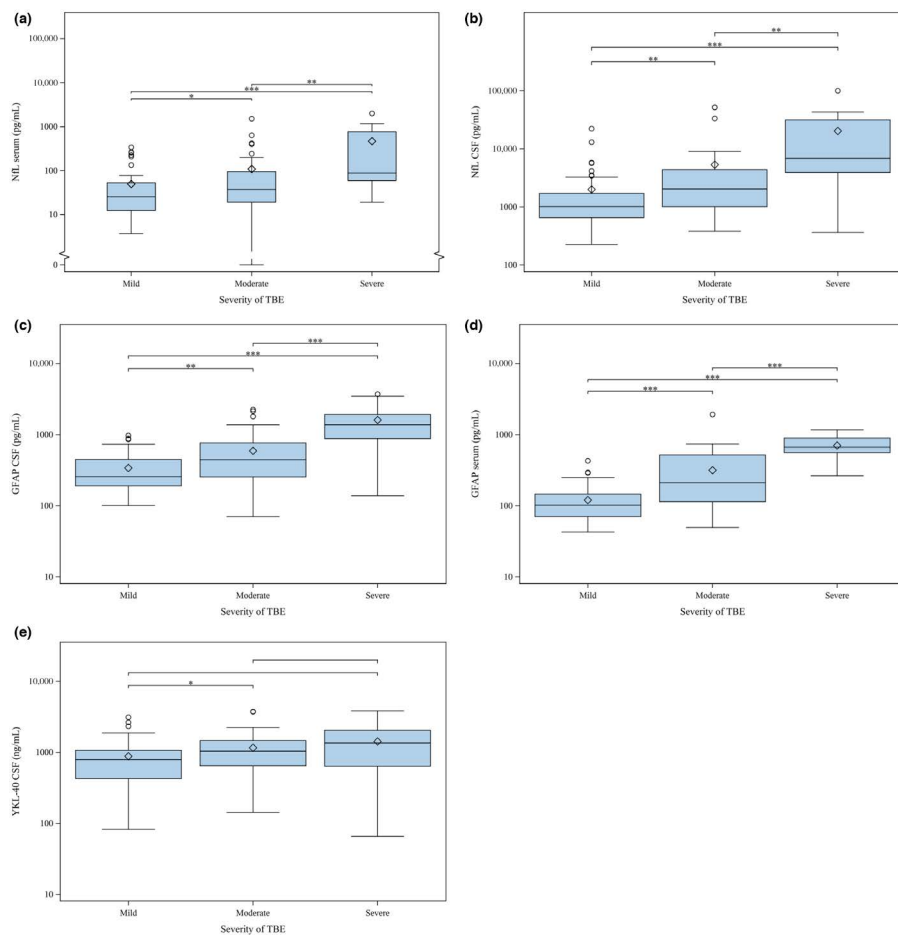
### Detection of brain damage markers and their relation to disease severity

All tested biomarkers could be detected in the patient samples (Table S1). The concentrations of CSF biomarkers NFL, GFAP and YKL-40, as well as NFL and GFAP in serum, were significantly higher in patients with moderate or severe disease compared with patients with a mild clinical presentation ( $p < 0.05$ , Figure 1a–e). CSF

**TABLE 1** Age and sex distribution and proportion of tick-borne encephalitis cases with monophasic disease and nerve impairment in relation to disease severity.

Disease severity	Mild ( $n=56$ )	Moderate ( $n=48$ )	Severe ( $n=11$ )
Female (%)	33.9	45.9	45.5
Mean age (years)	47.9	55.0	61.1
Monophasic disease (%)	14.3	37.5	54.5
Spinal nerve impairment (%)	7.1	16.7	54.5
Cranial nerve impairment (%)	8.9	12.5	36.3





**FIGURE 1** Concentrations of brain damage markers in cerebrospinal fluid and serum in patients with tick-borne encephalitis in relation to disease severity. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ . [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

concentrations of tau, S100B or neurogranin and serum concentrations of S100B did not differ significantly according to disease severity (Table S1).

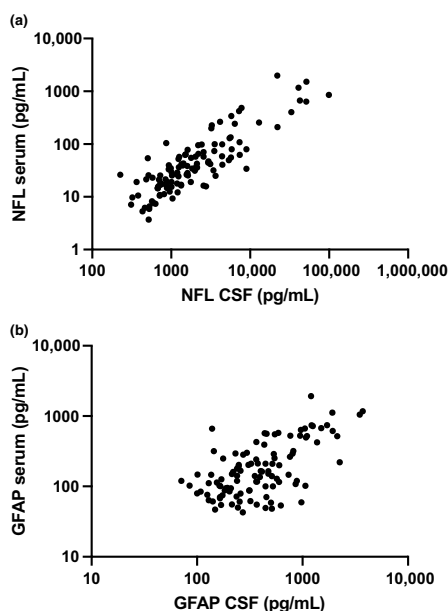
The correlation between brain damage marker concentrations and disease severity was independent of age at admission (Table S2).

Levels of NFL and GFAP in serum and CSF were statistically significantly higher amongst the patients with both spinal and cranial nerve paralysis, whereas tau concentrations were higher in patients with cranial nerve paralysis. Concentrations of S100B, YKL-40 and

neurogranin did not differ significantly between the groups with or without nerve paralysis (data not shown).

Concentrations of both NFL and GFAP in serum and CSF correlated with disease severity, regardless of whether patients with pareses were excluded from the analysis (Table S3).

Concentrations of GFAP and S100B in serum, but not CSF, were statistically higher in female patients than in males, whereas the opposite was seen for serum and CSF albumin. All measured brain damage marker concentrations except for tau and neurogranin



**FIGURE 2** (a) Correlation between CSF and serum NFL in 114 patients with tick-borne encephalitis ( $r=0.82$ ,  $p<0.0001$ ). (b) Correlation between CSF and serum GFAP in 107 patients with tick-borne encephalitis ( $r=0.54$ ,  $p<0.0001$ ). CSF, cerebrospinal fluid; GFAP, glial fibrillary acidic protein; NFL, neurofilament light.

correlated with age (Table S2). Furthermore, a statistical correlation between serum and CSF concentrations of both NFL and GFAP was noted (Figure 2a,b).

## DISCUSSION

In this study of 115 prospectively included TBE cases, elevated serum and CSF concentrations of both NFL and GFAP were found, indicating neuronal cell damage and astroglial activation. It was also shown that the concentrations of these well-established brain damage markers correlate with disease severity.

The clinical characteristics of our patient material correlate well with previous publications. Compared with other studies, the proportions of different disease severities in the total cohort were similar, and the percentage of male patients slightly higher. The proportion of spinal and/or cranial nerve paresis was 23% compared with up to 15% in other studies. There was no mortality, in line with publications from Sweden and Lithuania reporting a case fatality rate of 0.75%–1.1% [2, 24].

Previously considered less relevant, astrocytes are now seen as important for a large variety of processes occurring in the brain,

involving neurotransmission, modulation of inflammatory response and structural support for neurons. Astrocytes, unlike microglia, cannot migrate to the lesion, but change their phenotype and increase in number in response to infection and inflammation [25]. In post-mortem studies on TBE patients, neuronal damage as well as astroglial and microglial proliferation have been detected [3], corresponding with our findings of elevated concentrations of NFL and GFAP in TBE patients with more severe clinical manifestations. TBE patients vary extensively in clinical presentation, from a very mild meningitis to a severe encephalomyelitis requiring intensive care and long rehabilitation [26]. Most patients in our cohort who were classified with mild disease had meningitis. Encephalitis, with its inflammatory involvement of brain parenchyma, gives rise to higher NFL and GFAP levels, which were found in the patients with moderate and severe disease. The finding of increased GFAP in CSF also confirms the results from the previous, smaller Swedish study [19]. In patients with both spinal and cranial nerve damage, GFAP and NFL concentrations correlated with disease severity. However, the number of patients with paresis was small ( $n=27$ ). NFL, GFAP, YKL-40 and S100B concentrations correlated with age, whereas neurogranin and tau levels did not. Several other studies have reported that NFL levels increase with age [7].

In our cohort, CSF YKL-40 levels correlated with a more severe disease. The only previous publication on YKL-40 in TBE patients also found elevated YKL-40 in CSF samples from 32 TBE patients. Of note, YKL-40 concentrations were higher in TBE patients with meningitis compared with those with meningoencephalitis [27]. In contrast, YKL-40 levels in our patients increased with disease severity. Cohort size and assay differences could potentially explain the different results.

Tau protein and S100B have previously been detected in TBE patients at higher concentrations than among controls. In our cohort, these proteins were detected but did not correlate with disease severity, the same as for neurogranin. In the Polish study, CSF levels of tau did not differ from the control group in the sample drawn at hospital admission, but the concentrations were significantly higher in the second sample, drawn after 14 days [18]. All samples in our study were drawn within 2 weeks from hospital admission, in median on the day of hospital admission. The kinetics of these markers in CNS infections have not been extensively studied, and their concentrations may vary over time, as shown for NFL in HSE patients where peak NFL levels in CSF were detected at around 2 weeks after admission [10, 19].

The correlation between NFL concentrations in serum and CSF is well established [11]. One of our major findings is the correlation between concentrations in serum and CSF for both NFL and GFAP. Advantages with future prognostic biomarkers detectable in serum instead of CSF are obvious; blood sampling is much less invasive and logistically more feasible.

The limitations of our study are that it cannot be excluded that the freeze–thaw procedure might have affected CSF GFAP concentration [28], but probably not the concentrations of the other markers [29], although all samples were transported frozen and analysed together. Further, the disease severity definition is rather rough, but on the other hand has been repeatedly used in previous publications. It is noted that the Swedish patients had a higher proportion of moderate and severe disease compared to the Lithuanian cohort. However, these differences in disease severity between Lithuania and Sweden are most probably due to chance, considering the difference in group size. Previous data from Sweden show that 14% of TBE patients are diagnosed in primary healthcare [24], and our study only included hospitalized participants. One could speculate whether the difference in disease severity between the two countries would be due to the presence of different virus subtypes. In Sweden, only the European TBEV subtype has been detected [30]. There are limited data on subtypes circulating in Lithuania, but in Estonia all three major virus subtypes have been detected [31].

Our results indicate neuronal cell damage and astroglial activation in TBE, and the concentrations of NFL and GFAP in serum and CSF and YKL-40 in CSF correlate with disease severity in the acute phase. TBE pathogenesis is not fully understood and severe disease in the acute phase has repeatedly been correlated with more sequelae [2, 26]. Interestingly, our findings confirm those from the 2022 Czech study on phosphorylated neurofilament heavy subunit, where a correlation with increased disease severity (duration

of hospitalization, admission to the intensive care unit) was found [16]. Neurofilament heavy protein seems to correlate with NFL levels, at least for CSF samples from patients with neurodegenerative diseases [32].

To date, no prognostic biomarkers for TBE exist. Evaluation of rehabilitation efforts as well as clinical antiviral drug trials will be facilitated by surrogate markers for disease severity and prognosis. In this context, especially the serum markers NFL and GFAP might prove valuable for estimation of brain damage. Future studies should explore the time-point of peak concentrations of NFL and GFAP in TBEV infection and correlate the biomarkers with clinical data on long-term outcome.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization: M.V., V.G., A.M., M.S. Methodology: M.V., V.G., A.M., D.B., M.S. Formal analysis: M.V., V.G., A.M., D.B., H.Z., K.B., M.S. Resources: M.V., V.G., A.M., D.B., M.S. Writing—original draft: M.V., V.G., A.M., M.S. Writing—review and editing: M.V., V.G., J.P., A.M., D.B., H.Z., K.B., L.L., M.S. Visualization: M.V., D.B., M.S. Funding acquisition: A.M., M.S. Parts of the preliminary results of this study have previously been published at the 31st ECCMID online conference, abstract no. 04895, title: 'Brain damage biomarkers in patients with tick-borne encephalitis in correlation with disease severity' (first author and presenter V.G.). M.V., A.M., D.B. and M.S. are members of the ESGIB, the ESCMID study group for infectious diseases of the brain.

#### FUNDING INFORMATION

This work was supported by grants from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Study Group for Infectious Diseases of the Brain (A.M., M.S.), the FOU-VGR grants 929131, 969611 (M.S.), Grant for the Independent Investigator (A.M.) Initiated Research (Project Code/PO/Tracking Number W1236259; Grant ID#53233947); Pfizer R&D Investigator-Initiated Research program; Pfizer Independent Research Grant ID#53233947 (J.P.) (<https://www.pfizer.com/science/collaboration/investigator-initiated-research>) for the scientific project 'A prospective study on the long-term outcome and pathogenesis of tick-borne encephalitis'. H.Z. is a Wallenberg Scholar supported by grants from the Swedish Research Council (#2022-01018), the European Union's Horizon Europe research and innovation programme under grant agreement no. 101053962, Swedish State Support for Clinical Research (#ALFGBG-71320), the Alzheimer Drug Discovery Foundation (ADDF), USA (#201809-2016862), the AD Strategic Fund and the Alzheimer's Association (#ADSF-21-831376-C, #ADSF-21-831381-C and #ADSF-21-831377-C), the Bluefield Project, the Olav Thon Foundation, the Erling-Persson Family Foundation, Stiftelsen för Gamla Tjänarinnor, Hjärnfonden, Sweden (#FO2022-0270), the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement no. 860197 (MIRIADE), the European Union Joint Programme—Neurodegenerative Disease Research (JPND2021-00694) and the UK Dementia Research Institute at UCL (UKDRI-1003).

### CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

M.V. has received payments for lectures on symposia sponsored by Pfizer Inc. and Bavarian Nordic and transport fees for speakers for the ESCMID 3rd postgraduate encephalitis course and 2nd zoonosis course. V.G. has received the Pfizer Independent Research Grant ID#53233947, fees for expert opinions from State Health Care Accreditation Agency under the Ministry of Health, Lithuanian Ministry of Health and the State Forensic Medicine Service, transport fees for speakers from ESCMID and sponsored participation in the 8th ESWI Influenza Conference 2021. J.P. has received the Pfizer Independent Research Grant ID#53233947. A.M. received grants for the Independent Investigator Initiated Research (Project Code/PO/Tracking Number W1236259; Grant ID#53233947); Pfizer R&D Investigator-Initiated Research program (<https://www.pfizer.com/science/collaboration/investigator-initiated-research>) for the scientific project 'A prospective study on the long-term outcome and pathogenesis of tick-borne encephalitis'. D.B. reports no conflicts of interest. H.Z. has served at scientific advisory boards and/or as a consultant for Abbvie, Acumen, Alektor, Alzinova, ALZPath, Annexon, Apellis, Artery Therapeutics, AZTherapies, CogRx, Denali, Eisai, Nergven, Novo Nordisk, Optoceutics, Passage Bio, Pinteon Therapeutics, Prothema, Red Abbey Labs, reMYND, Roche, Samumed, Siemens Healthineers, Triplet Therapeutics and Wave, has given lectures in symposia sponsored by Collectricon, Fujirebio, Alzecure, Biogen and Roche, and is a co-founder of Brain Biomarker Solutions in Gothenburg AB (BBS), which is a part of the GU Ventures Incubator Program (outside submitted work). K.B. reported personal fees from Abcam, Axon, Biogen, JOMDD/Shimadzu, Lilly, MagQu, Novartis, Roche Diagnostics and Siemens outside the submitted work and being cofounder of Brain Biomarker Solutions in Gothenburg AB, which is a part of the GU Ventures Incubator Program. L.L. is affiliated to the Stockholm County Committee of Health Care but has received no payments. M.S. is co-author of the Swedish national guidelines for viral CNS infections and has received an ESCMID study group grant in 2020.

### DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

### ORCID

Malin Veje  <https://orcid.org/0000-0001-5487-0616>

Jolita Pakalნიე  <https://orcid.org/0000-0002-3252-3901>

Daniel Bremell  <https://orcid.org/0000-0002-6137-911X>

### REFERENCES

- European Centre for Disease Prevention and Control. Tick-borne encephalitis. In: ECDC, ed. *Annual Epidemiological Report for 2020*. ECDC; 2022. Accessed March 8, 2023. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Tick-borne-encephalitis-annual-epidemiological-report-2022.pdf>
- Mickienė A, Laiškonis A, Günther G, Vene S, Lundkvist Å, Lindquist L. Tickborne encephalitis in an area of high endemicity in Lithuania: disease severity and long-term prognosis. *Clin Infect Dis*. 2002;35(6):650-658. doi:10.1086/342059
- Gelpi E, Preusser M, Garzuly F, Holzmann H, Heinz FX, Budka H. Visualization of central European tick-borne encephalitis infection in fatal human cases. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2005;64(6):506-512. doi:10.1093/jnen/64.6.506
- Ruzek D, Avšič Županc T, Borde J, et al. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res*. 2019;164:23-51. doi:10.1016/j.antiviral.2019.01.014
- Saksida A, Jakopin N, Jelovšek M, et al. Virus RNA load in patients with tick-borne encephalitis, Slovenia. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(7):1315-1323. doi:10.3201/eid2407.180059
- Lenhard T, Ott D, Jakob NJ, et al. Predictors, neuroimaging characteristics and long-term outcome of severe European tick-borne encephalitis: a prospective cohort study. *PLoS One*. 2016;11(4):e0154143.
- Khalil M, Teunissen CE, Otto M, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(10):577-589. doi:10.1038/s41582-018-0058-z
- Kellermann I, Kleindienst A, Hore N, Buchfelder M, Brandner S. Early CSF and serum S100B concentrations for outcome prediction in traumatic brain injury and subarachnoid hemorrhage. *Clin Neuro Neurosurg*. 2016;145:79-83. doi:10.1016/j.clineuro.2016.04.005
- Uphaus T, Bittner S, Gröschel S, et al. NFL (neurofilament light chain) levels as a predictive marker for long-term outcome after ischemic stroke. *Stroke*. 2019;50(11):3077-3084. doi:10.1161/strokeaha.119.026410
- Westman G, Aurelius E, Ahlm C, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers of brain injury, inflammation and synaptic autoimmunity predict long-term neurocognitive outcome in herpes simplex encephalitis. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(8):1131-1136. doi:10.1016/j.cmi.2020.09.031
- Bridel C, van Wieringen WN, Zetterberg H, et al. Diagnostic value of cerebrospinal fluid neurofilament light protein in neurology: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2019;76(9):1035-1048. doi:10.1001/jamaneurol.2019.1534
- Mattila OS, Ashton NJ, Blennow K, et al. Ultra-early differential diagnosis of acute cerebral ischemia and hemorrhagic stroke by measuring the prehospital release rate of GFAP. *Clin Chem*. 2021;67(10):1361-1372. doi:10.1093/clinchem/hwab128
- Baldacci F, Lista S, Palermo G, Giorgi FS, Vergallo A, Hampel H. The neuroinflammatory biomarker YKL-40 for neurodegenerative diseases: advances in development. *Expert Rev Proteomics*. 2019;16(7):593-600. doi:10.1080/14789450.2019.1628643
- Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med*. 2018;284(6):643-663. doi:10.1111/ijom.12816
- Petzold A, Groves M, Leis AA, Scaravilli F, Stokic DS. Neuronal and glial cerebrospinal fluid protein biomarkers are elevated after West Nile virus infection. *Muscle Nerve*. 2010;41(1):42-49. doi:10.1002/mus.21448
- Fortova A, Hönig V, Palus M, et al. Serum and cerebrospinal fluid phosphorylated neurofilament heavy subunit as a marker of neuroaxonal damage in tick-borne encephalitis. *J Gen Virol*. 2022;103(5). doi:10.1099/jgv.0.001743
- Czupryna P, Mroczko B, Pancewicz S, et al. Assessment of the tau protein concentration in patients with tick-borne encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(3):479-483. doi:10.1007/s10096-018-03447-1
- Czupryna P, Grygorczuk S, Pancewicz S, et al. Evaluation of NSE and S100B in patients with tick-borne encephalitis. *Brain Behav*. 2018;8(12):e01160. doi:10.1002/brb3.1160
- Studahl M, Rosengren L, Günther G, Hagberg L. Difference in pathogenesis between herpes simplex virus type 1 encephalitis






- and tick-borne encephalitis demonstrated by means of cerebrospinal fluid markers of glial and neuronal destruction. *J Neurol*. 2000;247(8):636-642. doi:10.1007/s004150070134
20. Rosengren LE, Wikkelsø C, Hagberg L. A sensitive ELISA for glial fibrillary acidic protein: application in CSF of adults. *J Neurosci Methods*. 1994;51(2):197-204. doi:10.1016/0165-0270(94)90011-6
  21. Gaetani L, Höglund K, Parnetti L, et al. A new enzyme-linked immunosorbent assay for neurofilament light in cerebrospinal fluid: analytical validation and clinical evaluation. *Alzheimers Res Ther*. 2018;10(1):8. doi:10.1186/s13195-018-0339-1
  22. Gisslén M, Price RW, Andreasson U, et al. Plasma concentration of the neurofilament light protein (NFL) is a biomarker of CNS injury in HIV infection: a cross-sectional study. *EBioMedicine*. 2016;3:135-140. doi:10.1016/j.ebiom.2015.11.036
  23. Kvartsberg H, Lashley T, Murray CE, et al. The intact postsynaptic protein neurogranin is reduced in brain tissue from patients with familial and sporadic Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2019;137(1):89-102. doi:10.1007/s00401-018-1910-3
  24. Slunge D, Boman A, Studahl M. Burden of tick-borne encephalitis, Sweden. *Emerg Infect Dis*. 2022;28(2):314-322. doi:10.3201/eid2802.204324
  25. Jurga AM, Paleczna M, Kadluczka J, Kuter KZ. Beyond the GFAP-astrocyte protein markers in the brain. *Biomolecules*. 2021;11(9). doi:10.3390/biom11091361
  26. Kaiser R. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in southern Germany 1994–98: a prospective study of 656 patients. *Brain*. 1999;122(Pt 11):2067-2078.
  27. Czupryna P, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B, et al. Assessment of the YKL-40 concentration in patients with tick-borne encephalitis. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022;13(2):101895. doi:10.1016/j.ttbdis.2022.101895
  28. Simrén J, Weninger H, Brum WS, et al. Differences between blood and cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein levels: the effect of sample stability. *Alzheimers Dement*. 2022;18(10):1988-1992. doi:10.1002/alz.12806
  29. Ashton NJ, Suárez-Calvet M, Karikari TK, et al. Effects of pre-analytical procedures on blood biomarkers for Alzheimer's pathophysiology, glial activation, and neurodegeneration. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2021;13(1):e12168. doi:10.1002/dad2.12168
  30. Lindblom P, Wilhelmsson P, Fryland L, et al. Tick-borne encephalitis virus in ticks detached from humans and follow-up of serological and clinical response. *Ticks Tick-Borne Dis*. 2014;5(1):21-28. doi:10.1016/j.ttbdis.2013.07.009
  31. Golovljova I, Vene S, Sjölander KB, Vasilenko V, Plyusnin A, Lundkvist Å. Characterization of tick-borne encephalitis virus from Estonia. *J Med Virol*. 2004;74(4):580-588. doi:10.1002/jmv.20224
  32. Halbgebauer S, Steinacker P, Verde F, et al. Comparison of CSF and serum neurofilament light and heavy chain as differential diagnostic biomarkers for ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2022;93(1):68-74. doi:10.1136/jnnp-2021-327129

#### SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

**How to cite this article:** Veje M, Griška V, Pakalnienė J, et al. Serum and cerebrospinal fluid brain damage markers neurofilament light and glial fibrillary acidic protein correlate with tick-borne encephalitis disease severity—a multicentre study on Lithuanian and Swedish patients. *Eur J Neurol*. 2023;30:3182-3189. doi:10.1111/ene.15978

## Long-term neurological and neurocognitive impairments after tick-borne encephalitis in Lithuania - a prospective study

Vytautas Griška<sup>a</sup> , Aistė Pranckevičienė<sup>b</sup> , Jolita Pakalnienė<sup>a</sup> , Diana Gabrijolavičiūtė<sup>b</sup>,  
Malin Veje<sup>c,d</sup> , Marie Studahl<sup>c,d</sup>, Jacob Ahlberg<sup>e</sup>, Lilly Schwieler<sup>e</sup>, Lars Lindquist<sup>f</sup> and Aukse Mickienė<sup>a</sup> 

<sup>a</sup>Department of Infectious Diseases, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania; <sup>b</sup>Department of Health Psychology, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania; <sup>c</sup>Department of Infectious Diseases, Institute of Biomedicine, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden; <sup>d</sup>Department of Infectious Diseases, Region Västra Götaland, Sahlgrenska University Hospital, Gothenburg, Sweden; <sup>e</sup>Institution of Physiology and Pharmacology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; <sup>f</sup>Department of Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

### ABSTRACT

**Background:** The aim of this study was to characterise long-term neurological and neurocognitive sequelae after tick-borne encephalitis (TBE) in adults.

**Methods:** 98 prospective consecutive TBE patients, classified by disease severity, were included. Immediate outcomes were evaluated with Glasgow Outcome Scale (GOS) and Rankin Scale (RS). After 6 and 18 months, long-term disability was evaluated using Modified Rankin Scale (MRS) and neurocognitive assessment was performed with Matrics Consensus Cognitive Battery (MCCB), measuring processing speed, attention/vigilance, working memory, verbal learning, visual learning, reasoning/problem solving and social cognition. The MCCB results were compared to healthy age, gender and education-matched controls.

**Results:** Mild, moderate, and severe TBE was diagnosed in 53.1%, 38.8%, and 8.2% of cases, respectively. At discharge, 25.5% of the patients had major or moderate impairments (GOS) and various levels of disability in 34.7% (RS). Up to 18 months from the onset of TBE, over 20% remained with slight to moderate disability (MRS). GOS, RS and MRS scores correlated with disease severity. At 6 months after the onset, TBE patients scored significantly lower than controls in processing speed, verbal, and visual learning. Two latter domains were significantly more impaired in patients with mild TBE. Patients aged 18-39 performed significantly worse in attention/vigilance and working memory, whereas aged 60+ in verbal learning. A year later, significant improvement was observed in six of seven cognitive domains.

**Conclusions:** Long-term neurological sequelae persist in a substantial proportion of TBE patients with significant impairment in several cognitive domains, especially in younger patients and even after mild TBE.

### KEYWORDS


Neuroinfection  
Post-encephalitic syndrome  
Neuropsychological testing  
Matrics Consensus Cognitive Battery  
Arbovirus

### ARTICLE HISTORY

Received 19 January 2024  
Revised 17 April 2024  
Accepted 19 April 2024

### CONTACT

Vytautas Griška  
 [vytautas.griska@lsmu.lt](mailto:vytautas.griska@lsmu.lt)  
 Department of Infectious Diseases, Lithuanian University of Health Sciences, Baltijos str. 120, LT-47116, Kaunas, Lithuania

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/23744235.2024.2346793>.

© 2024 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.

## Introduction

Tick-borne encephalitis (TBE) is one of the most important viral vector-borne central nervous system (CNS) infections in Europe, with 3734 cases reported in the EU/EEA in 2020 (0.9/100,000). The leading countries are Lithuania (24.3/100,000), Slovenia (8.9/100,000), Czechia (7.9/100,000) and Latvia (7.8/100,000) [1]. Despite tick bites being the most common route of transmission, alimentary route through unpasteurised milk products also remains relevant. Even though a high proportion of infections are suspected to be asymptomatic [2,3], TBE can manifest as meningitis, meningoencephalitis, meningoencephalomyelitis or myeloradiculitis and can affect spinal and cranial nerves [4–6]. Meningoencephalitis is the most frequent form, observed in around 44–64% of cases [5,7,8]. Studies on long-term sequelae have been performed since late 1990s clearly showing long-term impact of TBE [4–6]. It is known that patients with TBE develop not only objective neurological signs but also subjective symptoms and neurocognitive impairment [7]. Previous prospective research indicates that neurological and neuropsychological sequelae persist in 40–46% of the patients one year after the disease [4,5]. Although several studies aimed to evaluate neurocognitive consequences of TBE in more detail, data is based on low sensitivity cognitive screening instruments and patients' self-report rather than comprehensive neuropsychological assessment [5,7,9]. To date the full spectrum of neurocognitive impairment after TBE and its dynamics over time using thorough neurocognitive assessment tools remained unexamined.

The aim of the present study was to characterise the long-term neurological and neurocognitive sequelae after TBE in adults by employing established neuropsychological tests in addition to previously used outcome measurements.

## Materials and methods

### Tick-borne encephalitis patients

All consecutive TBE patients  $\geq 18$  years of age admitted to the Department of Infectious Diseases of Lithuanian University of Health Sciences between June 1<sup>st</sup>, 2018 and May 31<sup>st</sup>, 2019 were included. The inclusion criteria were: clinical signs of CNS infection, CSF cell count  $\geq 5/\text{mm}^3$ , and positive TBEV IgM and IgG in serum using ELISA (VIROTECH FSME/TBE, Virotech Diagnostics GmbH, Germany). Vaccinated TBEV IgG positive patients with CSF inflammation were excluded if intrathecal TBEV IgM antibody production

was not detected. Patients with suspected Lyme neuroborreliosis coinfection were tested for *Borrelia burgdorferi* antibodies in serum (Vidas LYM, bioMérieux, France) and CSF (IDEIA Lyme Neuroborreliosis, Oxoid Ltd., Ireland). Exclusion criteria were contraindications for lumbar puncture or patients declining participation. Patients were evaluated by three investigators (VG, JP, AM) and classified into three severity groups using pre-defined criteria. Mild disease was classified as producing primarily meningeal symptoms (fever, headache, neck stiffness, nausea and vomiting), moderate – manifesting with monofocal encephalitic symptoms (ataxia, dysphasia, tremor, single cranial nerve paralysis and/or moderate diffuse brain dysfunction (Glasgow Coma Scale (GCS) score 14–10)), and severe – presenting with multifocal encephalitic symptoms and/or GCS score  $\leq 9$ . Spinal nerve damage was defined as a separate clinical entity, independent from the presence and severity of encephalitic symptoms [5]. The residual impairments at discharge were graded according to Glasgow Outcome Scale (GOS) and Rankin Scale (RS) (Supplementary Tables 1 and 2). The patients were re-examined by the same investigators after 6 and 18 months after discharge. The long-term disability was graded according to the Modified Rankin Scale (MRS) (Supplementary Table 3) and in parallel, a wide spectrum of objective neurological signs and subjective symptoms were registered (Supplementary Table 4). At follow-ups, TBE patients were grouped by age, gender and education. Seven different age groups by decades and three groups by education level were created (Table 1).

### Outcome measurements using Matrics Consensus Cognitive Battery

During both follow-up visits, neurocognitive functions were evaluated by a licenced psychologist using Matrics Consensus Cognitive Battery (MCCB) [10,11], measuring seven different cognitive domains: speed of processing, attention/vigilance, working memory, verbal learning, visual learning, reasoning/problem solving and social cognition. MCCB is based on ten neuropsychological tests: Trail Making Test, Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, The Hopkins Verbal Learning Test-Revised, Wechsler Memory Scale-III: Spatial Span, Letter-Number Span, Neuropsychological Assessment Battery®: Mazes, Brief Visuospatial Memory Test-Revised, Category Fluency: Animal Naming, Mayers-Salovey-Caruso Emotional Intelligence Test: Managing Emotions and Continuous Performance Test – Identical Pairs. An Overall Composite Score, which included all cognitive

**Table 1.** Distribution of demographics and clinical features between patients and healthy controls.

Demographic data/ Clinical features	TBE patients (full cohort) <i>N</i> = 98	TBE patients (follow-up 1) <i>N</i> = 77	TBE patients (follow-up 2) <i>N</i> = 61	Healthy controls <i>N</i> = 77
Age (average (SD), years)	52.12 (16.62)	52.51 (15.62)	54.28 (15.55)	51.53 (15.56)
Age distribution ( <i>N</i> , %)				
18–30 Years	12 (12.2%)	7 (9.1%)	4 (6.6%)	7 (9.1%)
31–40 Years	12 (12.2%)	11 (14.3%)	8 (13.1%)	11 (14.3%)
41–50 Years	18 (18.4%)	13 (16.9%)	10 (16.4%)	13 (16.9%)
51–60 Years	25 (25.5%)	22 (28.6%)	17 (27.9%)	22 (28.6%)
61–70 Years	18 (18.4%)	14 (18.2%)	12 (19.7%)	14 (18.2%)
71–80 Years	11 (11.2%)	9 (11.7%)	9 (14.8%)	9 (11.7%)
81–90 Years	2 (2.0%)	1 (1.3%)	1 (1.6%)	1 (1.3%)
Gender distribution ( <i>N</i> , %)				
Male	59 (60.2%)	46 (59.7%)	36 (59.0%)	46 (59.7%)
Female	39 (39.8%)	31 (40.3%)	25 (41.0%)	31 (40.3%)
Education distribution ( <i>N</i> , %)				
High school/lower	38 (38.8%)	26 (33.8%)	20 (32.8%)	26 (33.8%)
Vocational/Higher	41 (41.8%)	37 (48.0%)	28 (45.9%)	37 (48.0%)
University/College	16 (16.3%)	14 (18.2%)	13 (21.3%)	14 (18.2%)
Unknown	3 (3.1%)			
Disease severity ( <i>N</i> , %)				
Mild	52 (53.0%)	41 (53.2%)	31 (50.8%)	n/a
Moderate	38 (38.8%)	28 (36.4%)	22 (36.1%)	n/a
Severe	8 (8.2%)	8 (10.4%)	8 (13.1%)	n/a

domains was also analysed. The evaluation of each patient took one to one-and-a-half hours.

### Control subjects

For each TBE group at follow-ups, sets of matched healthy volunteers without history of neuroinfection or other relevant past/present health problems, as determined by detailed verbal interview, were tested using MCCB on a one-to-one ratio (Table 1). The majority of the controls were hospital and university personnel, mainly consisting of technical and supporting staff without specific medical education. 77 subjects were tested at a single time point.

### Ethics approval

The study was carried out according to the code of ethics of the World Medical Association (declaration of Helsinki) for experiments including humans [12] and was approved by Kaunas Regional Bioethics Committee (protocol number BE-2-45).

### Consent to participate

All participants gave written consent to use their data for scientific purposes.

### Statistical methods

IBM SPSS Statistics 22 and RStudio were used for statistical calculations.  $P < 0.05$  was considered statistically significant. The normality of variables was evaluated using Shapiro–Wilk criterion for continuous variables.

Comparison between groups was performed using Student's *t*-test, ANOVA for normally distributed variables and nonparametric Mann–Whitney *U* and Kruskal–Wallis tests for non-normally distributed variables. To measure the effect size for dependent variables Cohen's *d* was used. Correlations were determined using Spearman's criteria for non-normally distributed variables. *Post-hoc* analysis was performed using Tukey's test in ANOVA and Bonferroni method to adjust for multiple testing for nonparametric tests.

## Results

### Demographics and epidemiology

222 patients underwent a lumbar puncture for suspected neuroinfection, 177 displayed inflammatory changes in the CSF and were tested for TBE. In five vaccinated patients, breakthrough TBE was excluded by a negative intrathecal antibody test. 106 patients were confirmed as TBE cases, eight of them were excluded due to declination to participate ( $n = 5$ ); insufficient amount of CSF for analysis ( $n = 2$ ); unmet inclusion criteria ( $n = 1$ ). The gender and age distributions of the 98 included patients are displayed in Table 1. All patients were fully autonomous before the infection. 45.9% of the patients were active workers, 15.3% were unemployed but of active working age, 3.1% were students, and 31.6% retired. 45.9% of the patients noticed a tick bite prior to the disease. Out of those, 7 (7.1%) also reported ingesting unpasteurised milk, the remainder had tick exposure risk in nature. For 12.2% of the patients, ingestion of raw milk was the only identified risk factor.



### Clinical presentation in the acute phase

The disease manifested with biphasic course in 72.5% of the cases, monophasic – in 25.5%, and 2% could not specify. 52 patients (53.1%) were classified as experiencing a mild form (meningitis), 38 (38.8%) as having a moderate form (meningoencephalitis of moderate severity), and eight (8.2%) had severe encephalitis (Table 1). Twelve patients (12.2%) showed signs of spinal nerve damage, and twelve (12.2%) patients suffered from cranial nerve impairment; of those, three patients (3.1%) had both. Out of eight tested patients due to clinical suspicion, no coinfections with Lyme borreliosis were diagnosed. All symptoms with frequencies are listed in Table 2.

Median CSF cell count was  $67 \times 10^6/l$  (range  $5-782 \times 10^6/l$ ), with mononuclear leukocytes predominating in 81.6% of cases. Median CSF protein was 0.77 g/l (range 0.31–2.03 g/l), glucose – 2.86 mmol/l (range 2.19–4.39 mmol/l), and lactate – 1.6 mmol/l (range 1.2–3.8 mmol/l,  $n = 50$ ). Median WBC count in serum was  $10.4 \times 10^9/l$  (range  $4.8-22.1 \times 10^9/l$ ) and CRP – 5.65 mg/l (range 0.1–44.1 mg/l). Disease severity correlated with CSF protein (Spearman's Rho 0.296,  $p = 0.003$ ) and lactate (Spearman's Rho 0.387,  $p = 0.006$ ).

Eight patients (8.2%) were treated in the ICU and three of them (3.1%) required mechanical ventilation. Average

duration of hospitalization was 10 days (median – 9, range 3–69), average ICU stay – 11 days (median – 3, range 1–50). None of the patients died during the acute phase of the disease. 56.1% of the patients were discharged home, 40.8% required either outpatient ( $n = 11$ ) or inpatient ( $n = 29$ ) rehabilitation. At discharge, 5.1% were classified as having severe, and 20.4% – as moderate impairments on GOS. 4.1% remained with moderately severe disability, 6.1% with moderate disability and 24.5% had minor disability on RS. The RS and GOS evaluations correlated with disease severity (Spearman's Rho –0.651 and 0.522 respectively,  $p < 0.001$ , Figure 1). At discharge, 45.9% of the patients had objective neurological signs, most commonly ataxia and tremor (Table 2a), 77.8% of them also had subjective complaints. 25.5% of the patients complained of having only subjective symptoms at discharge, most commonly headache and decreased concentration (Table 2b).

### Long term outcome of tick-borne encephalitis

77 patients (78.6%) came for the first follow-up visit, median time since discharge was 154 days (range 87–299 days). 61 patients (62.2%) returned for the second follow-up, median time since discharge was 541 days (range 453–765 days). There was no difference between TBE

**Table 2.** Neurological signs and subjective symptoms during the acute phase, discharge and both follow-ups.

a) Objective signs	Acute phase $N = 98$ $N$ (%)	Discharge $N = 98$ $N$ (%)	1 <sup>st</sup> Follow-up $N = 77$ $N$ (%)	2 <sup>nd</sup> Follow-up $N = 61$ $N$ (%)
At least one neurological sign	87 (88.8)	45 (45.9)	28 (36.4)	24 (39.3)
Fever	98 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Nausea/vomiting	60 (61.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Neck stiffness	32 (32.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Disturbance of consciousness	15 (15.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Tremor	38 (38.8)	22 (22.4)	18 (23.4)	18 (29.5)
Ataxia	50 (51.0)	22 (22.4)	9 (11.7)	6 (9.8)
Sensory disorders	7 (7.1)	1 (1.0)	8 (10.4)	6 (9.8)
Spinal nerve damage	12 (12.2)	12 (12.2)	8 (10.4)	7 (11.5)
Cranial nerve damage	12 (12.2)	8 (8.2)	5 (6.5)	4 (6.6)
<i>N. oculomotorius</i>	5 (5.1)	2 (2.0)	1 (1.3)	0 (0.0)
<i>N. vestibulocochlearis</i>	4 (4.1)	4 (4.1)	4 (5.2)	4 (6.6)
<i>N. facialis</i>	2 (2.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>N. hypoglossus</i>	1 (1.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Cerebellar syndrome	24 (24.5)	5 (5.1)	4 (5.2)	3 (4.9)
Dysphasia	7 (7.1)	4 (4.1)	2 (2.6)	1 (1.6)
Central paresis	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.6)	2 (3.3)
Bulbar syndrome	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.3)	1 (1.6)
Bladder dysfunction	2 (2.0)	2 (2.0)	1 (1.3)	2 (3.3)
Sexual dysfunction	–	–	3 (3.9)	3 (4.9)
b) Subjective symptoms	Acute phase $N = 98$ $N$ (%)	Discharge $N = 98$ $N$ (%)	1 <sup>st</sup> Follow-up $N = 77$ $N$ (%)	2 <sup>nd</sup> Follow-up $N = 61$ $N$ (%)
At least one subjective symptom	98 (100.0)	60 (61.2)	56 (72.7)	41 (67.2)
Dysexecutive syndrome	16 (16.3)	3 (3.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
Decreased memory	12 (12.2)	6 (6.1)	33 (42.9)	26 (42.6)
Increased irritability	–	–	28 (36.4)	18 (29.5)
Headache	93 (94.9)	26 (26.5)	28 (36.4)	18 (29.5)
Sleep disturbances	–	–	25 (32.5)	24 (39.3)
Decreased concentration	29 (29.6)	14 (14.3)	23 (29.9)	15 (24.6)
Decreased stress tolerance	–	–	19 (24.7)	11 (18.0)
Emotional instability	–	–	15 (19.5)	7 (11.5)
Behavior disorders	7 (7.1)	2 (2.0)	1 (1.3)	0 (0.0)

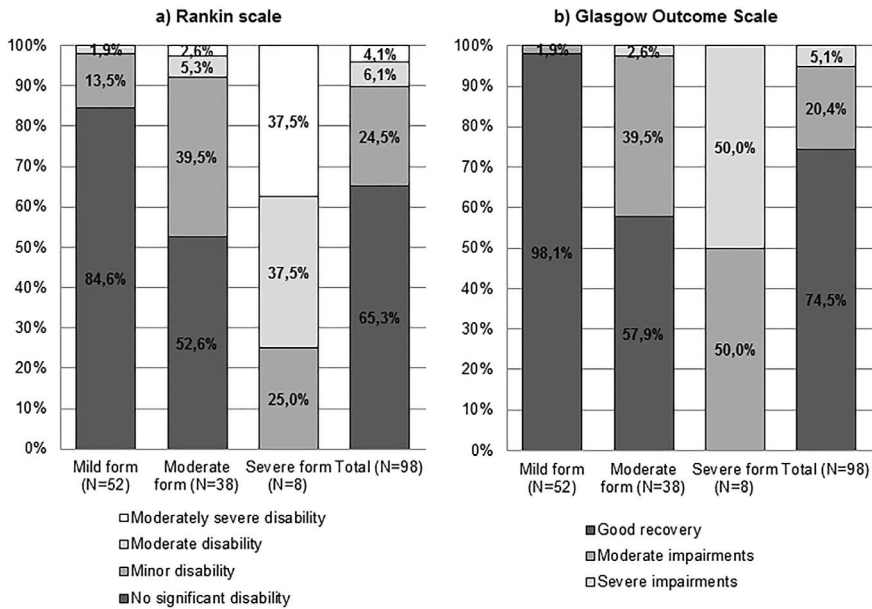


Figure 1. Rankin Scale (a) and Glasgow Outcome Scale (b) during discharge depending on disease severity.

patients who returned for follow-ups and those who did not in terms of TBE severity ( $p = 0.256$ ), neurological symptoms at discharge ( $p = 0.417$ ), subjective symptoms ( $p = 0.348$ ), GOS ( $p = 0.909$ ), RS ( $p = 0.989$ ) or age ( $p = 0.782$ ). However, patients with higher levels of education were more likely to return for the follow-up visits ( $p = 0.024$ ).

#### First follow-up

During the first follow-up, 36.4% ( $n = 28$ ) of the patients had objective neurological signs, most frequently tremor and ataxia (Table 2a), and all of them reported subjective symptoms. Two patients displayed signs of central paresis, which was not noted during the acute phase. Imaging studies revealed signs of intracranial bleeding/hemosiderin deposits; however, the role of TBE for these findings is unclear. 36.4% ( $n = 28$ ) of the patients reported only subjective symptoms, most common being decreased memory, increased irritability and headaches (Table 2b). 6.5% ( $n = 5$ ) of the TBE cases who came for the first follow-up remained with moderate disability, and 15.6% ( $n = 12$ ) with a slight disability on MRS. MRS correlated with the disease severity during the acute stage (Spearman's Rho 0.362,  $p < 0.001$ ).

#### Second follow-up

On the second follow-up, 67.2% ( $n = 41$ ) of the patients still reported subjective symptoms, most commonly memory impairment, sleep disturbances and headaches (Table 2b). 39.3% ( $n = 24$ ) still had objective neurological signs, most frequent being tremor and spinal nerve damage (Table 2a). 4.9% ( $n = 3$ ) remained with moderate disability and 18% ( $n = 11$ ) with slight disability on MRS. MRS still correlated with the disease severity during the acute stage (Spearman's Rho 0.415,  $p < 0.001$ ).

#### Assessment of neurocognitive functioning using Matrix Consensus Cognitive Battery

The majority of MCCB test results did not show evidence of non-normality ( $p > 0.05$ ). Only scores of verbal learning during the second follow-up departed from normality ( $W = 0.961$ ,  $p < 0.01$ ), however skewness and kurtosis did not exceed 1, thus parametric tests were chosen for analysis of cognitive scores.

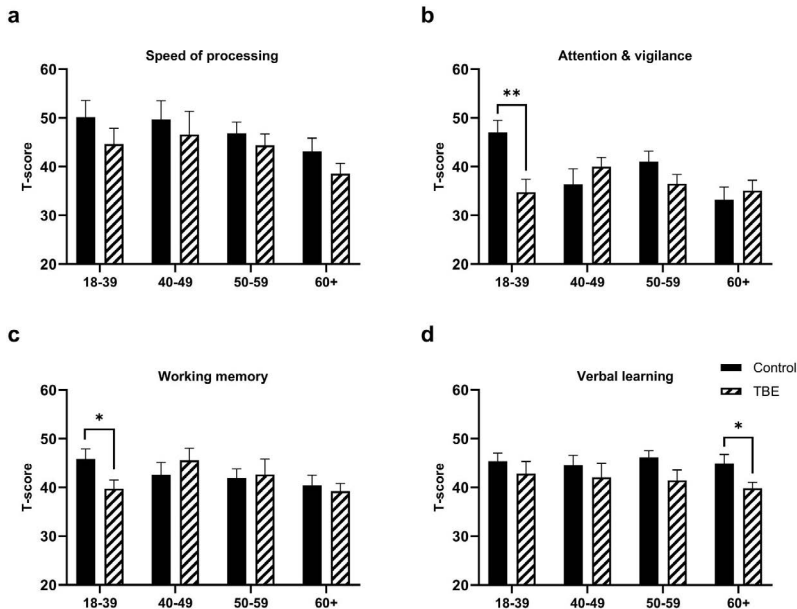
During the first follow-up, TBE patients scored significantly lower than healthy controls in three cognitive domains: speed of processing, verbal learning, and visual learning (Supplementary Table 5). A similar trend was observed for attention/vigilance, but the difference was

not statistically significant (Supplementary Table 5). Analysis within different age groups was performed using Mann–Whitney  $U$  test and it revealed that the youngest TBE patients performed most poorly compared to healthy controls in six out of seven domains (Figures 2 and 3). The difference was significant for attention/vigilance ( $p = 0.004$ , Figure 2(b)) and working memory ( $p = 0.03$ , Figure 2(c)). The eldest age group scored significantly lower in the verbal learning domain ( $p = 0.03$ , Figure 2(d)). After  $p$ -value adjustment using the Bonferroni method, significance remained for attention/vigilance in the youngest group ( $p = 0.014$ ). The effect of illness severity on cognitive functioning, controlling for age effect, was evaluated; two age groups were formed based on age median ( $\leq 53$  and  $> 53$  years). As the number of patients with severe encephalitis was small, groups of moderate and severe disease were merged and compared to mild TBE and healthy controls. The impairment of verbal learning ( $p = 0.001$ ) and visual learning ( $p = 0.019$ ), were significantly related to illness severity in the acute phase (Table 3). However, Tukey's *post-hoc* tests showed no significant differences between mild and moderate/severe disease groups in verbal learning ( $p = 0.274$ ) and visual learning ( $p = 0.188$ ), significant

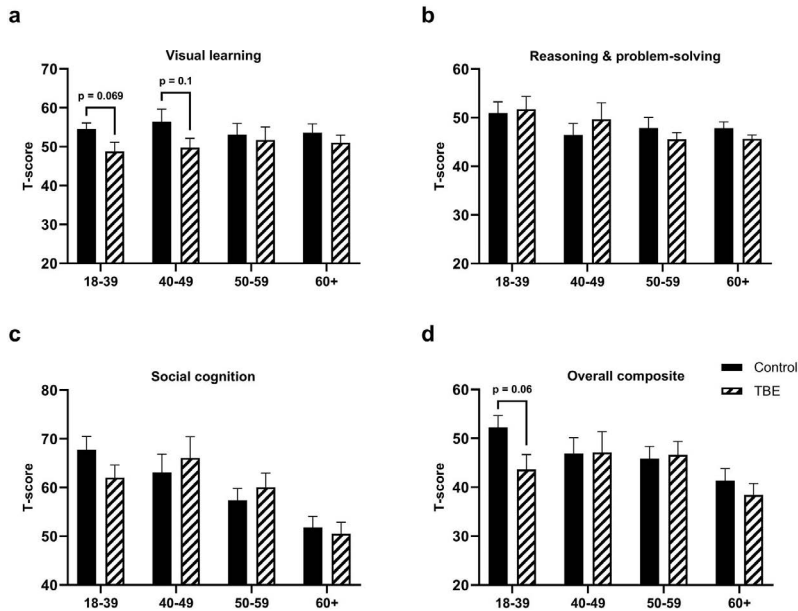
difference was observed only between healthy controls and mild TBE (verbal learning  $p = 0.002$ ; visual learning  $p = 0.022$ ). Illness severity also showed a trend to affect both speed of processing ( $p = 0.06$ ) and working memory ( $p = 0.079$ ) (Table 3). *Post-hoc* analysis using Tukey's test revealed that patients with moderate/severe disease differed significantly in speed of processing from healthy controls ( $p = 0.027$ ) but not from patients with mild TBE ( $p = 0.272$ ). Tukey's *post-hoc* tests showed no significant differences between mild and moderate/severe disease groups in working memory domain ( $p = 0.362$ ).

Neurocognitive functioning significantly improved from the first to the second follow-up (Table 4). Significant positive change was observed in six out of seven domains, with an exception of the social cognition (Table 4). At the second follow-up TBE patients did not differ in any cognitive domain from healthy controls (Supplementary Table 5). Similar results were observed when different age groups were compared. Disease severity no longer had an effect on cognitive functioning during the second follow-up.

Presence of remaining subjective symptoms at the second follow-up predicted slower processing speed



**Figure 2.** Comparison of different cognitive domains between tick-borne encephalitis (TBE) patients and healthy controls depending on age, 6 months after TBE (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).



**Figure 3.** Comparison of different cognitive domains and Overall composite score between tick-borne encephalitis (TBE) patients and healthy controls depending on age, 6 months after TBE (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

**Table 3.** Comparison of neurocognitive domains according to the severity of TBE at the time of first (6 months after the acute phase) follow-up controlling for age effect.

Cognitive domain	Healthy controls		Mild TBE		Moderate/Severe TBE		Statistics		
	M	SE	M	SE	M	SE	F	$p$	Partial $\eta^2$
Speed of processing	46.62	1.45	43.48	2.02	40.42	2.23	2.87	0.06	0.04
Attention / vigilance	39.10	1.21	35.42	1.80	35.43	2.03	2.06	0.13	0.03
Working memory	42.35	1.07	38.83	1.50	43.46	1.65	2.59	0.08	0.03
Verbal learning	45.38	0.91	39.35	1.30	43.35	1.40	7.22	0.00	0.09
Visual learning	54.12	1.25	47.99	1.75	52.69	1.94	4.09	0.02	0.05
Reasoning and problem solving	48.38	0.94	47.38	1.32	47.00	1.46	0.39	0.68	0.01
Social cognition	58.36	1.37	58.37	2.04	57.96	2.22	0.01	0.99	0.00
Overall composite score	45.78	1.32	41.46	2.13	43.58	2.29	1.57	0.21	0.02

Selected results from ANOVA analysis. M-Estimated marginal mean. SE: standard error. Detailed analysis of between-subjects effects can be found in Supplementary Table 6.

**Table 4.** Changes in TBE patients' neurocognitive functioning from 1<sup>st</sup> to 2<sup>nd</sup> follow-up. Paired sample  $t$ -test.

Cognitive domain	N	1 <sup>st</sup> Follow-up			2 <sup>nd</sup> Follow-up		Statistics		
		M	SD	M	SD	$t$	$df$	Sig. (2-tailed)	Cohen's $d$
Speed of processing	61	42.87	12.41	45.82	12.64	-4.38	60	0.00	-0.56
Attention / vigilance	49	37.29	8.60	40.12	10.70	-2.60	48	0.01	-0.37
Working memory	60	41.33	9.65	45.30	9.70	-4.27	59	0.00	-0.55
Verbal learning	60	41.25	7.71	45.80	8.82	-5.53	59	0.00	-0.71
Visual learning	60	50.57	10.71	57.85	9.42	-6.72	59	0.00	-0.87
Reasoning and problem solving	60	47.87	8.20	49.97	8.12	-2.79	59	0.01	-0.36
Social cognition	53	57.15	13.12	56.87	13.93	0.23	52	0.82	0.03
Overall composite score	45	43.58	11.94	49.58	11.91	-8.20	44	0.00	-1.22

independently from patients' age ( $M = 42.93$ ,  $SD = 11.61$  and  $M = 51.75$ ,  $SD = 12.88$  in patients with and without subjective symptoms, respectively  $F(1) = 5.91$ ,  $p < 0.05$ ,

partial  $\eta^2 = 0.09$ ), and lower social cognition ( $M = 53.95$ ,  $SD = 11.49$  and  $M = 64.00$ ,  $SD = 15.53$  in patients with and without subjective symptoms, respectively  $F(1) = 5.41$ ,

$p < 0.05$ , partial  $\eta^2 = 0.09$ ). Specifically, reported irritability was related to lower social cognition scores and memory complaints – to slower processing speed (Partial correlation controlling for age  $r = 0.318$ ,  $df = 42$ ,  $p = 0.036$ , and  $r = 0.331$ ,  $df = 42$ ,  $p = 0.028$ , respectively).

## Discussion

In this study, we have shown that several cognitive domains remained impaired after TBE for a prolonged period of time, even though there was a tendency for significant improvement over time. This raises high concern as decreased cognitive functioning may lead to life quality impairment, and, as already known from previous studies, causes increased health care use, sick leave and even early retirement, leading to significant societal costs [13,14].

Our data confirms that TBE mainly affects middle-aged working people, is usually transmitted by an unnoticed tick bite, and the course of the disease is usually biphasic. The distribution of clinical forms matched previous studies and there is a lack of correlation between routine CSF analytes and outcomes [5,6,8]. During the acute phase, a large number of patients are affected by severe neurological impairment – limb paresis, cranial nerve involvement, alteration of consciousness, etc. The severity of the acute disease puts a significant burden on hospitals due to prolonged in-hospital stays, with almost 10% of patients requiring expensive and protracted ICU treatment.

For this research, we used GOS and RS for the first time to classify the outcome and disability after TBE. Our results show that GOS and RS may be useful for characterising TBE's short-term outcomes because their measurements are consistent with the immediate outcomes of other TBE studies that employed different methodologies [5]. The continued application of these scales in future TBE studies would provide researchers with the ability to compare outcomes of different neuroinfections or non-infectious neurological diseases and to evaluate the importance of TBE in the context of all CNS diseases.

We classified long-term sequelae and disability at two time-points using two distinct methods: first, registering objective neurological signs and subjective symptoms, second – using MRS. We discovered that even after 1.5 years, 7 out of 12 patients presenting with pareses of the limbs during the acute phase remain with significant loss of function of the affected limb. Additionally, in a substantial part of the cohort, tremor and ataxia

persisted. Subjective symptoms mainly consisted of headaches, sleep disturbances and problems with concentration, memory and emotional state. However, despite long-lasting neurological signs and subjective complaints, only a small percentage (4.9%) of the patients fall into the moderate disability category using MRS. None of the follow-up patients showed severe impairment on MRS, which was reported to occur in up to 10% of patients in a previous Lithuanian study [5]. This discrepancy may be due to a smaller proportion of severe cases in the present cohort, or an increase in the accessibility and effectiveness of physical rehabilitation. Also, a quite substantial part of the subjects was lost to follow-up, even though all severe TBE cases returned for the visits. Additionally, sequelae classification previously used in our centre included both moderate and moderately severe disability (as specified on MRS) as severe sequelae, whereas slight disability on MRS was an equivalent of moderate sequelae and those results remain proportionate [5]. Moreover, we observed a phenomenon when the amount and types of subjective complaints changed over time but the shift did not affect the patient's MRS score. Taking all of these findings into account, we do not believe that MRS is an ideal tool to use solely in TBE patients' long-term sequelae evaluation, as it does not reflect subtle persisting symptoms, including impaired cognition, which affects life quality in other ways than physical disability. However, its use paired with neurocognitive evaluation is feasible.

Consequently, our main focus was to evaluate and specify the neurocognitive impairment after TBE, and to elucidate what exactly comprises the term 'post-encephalitic syndrome', which has not been achieved despite multiple and extensive studies [4–6,8,15]. A recent study of over 500 TBE cases in Germany revealed that half of the adult patients report persisting sequelae after 18 months, including fatigue (17.0%), weakness (13.4%) and concentration deficit (13.0%) [13], whereas Veje et al. discovered that even several years after the acute disease (median time to follow-up – 5.5 years,  $N = 92$ ), TBE survivors still reported more memory, executive functions, vigilance and physical complaints compared to healthy controls [7]. Both of these studies were, however, based on self-reports. In a study by Gustaw-Rothenberg [9], 40 patients with severe TBE were evaluated using a variety of neuropsychological tests to determine the type and degree of cognitive impairment. 55% of the patients met the criteria for mild cognitive impairment; however the researchers used relatively low-volume cognitive evaluation tools. An extended

evaluation by Quist-Paulsen et al. provided data that cognition is impaired in encephalitis patients more than in aseptic meningitis, but the research did not focus on different aetiologies, including TBE [16]. Studies using high-quality tools in the paediatric population by Schmolck et al. showed that children with TBE were more likely to have attention and psychomotor speed issues [17], Engman et al. found difficulties with perception, memory, emotion, and executive function [18], whereas Ullman et al. also discovered working memory deficits [19].

In our study, we selected to employ the MCCB test battery, which was originally developed for cognition assessment in clinical studies of schizophrenia. In recent years MCCB battery was also used in studies focusing on other disorders, including bipolar disorder, depression or alcohol use disorder [20–22]. Some tests from the battery, interchangeably with other similar types of tests, have been previously used in other studies on various types of encephalitis [16,23]. The battery is relatively short, comprehensive and constructed to be sensitive to change in course of the treatment, which makes it appealing for longitudinal design studies. MCCB is unique because it also includes a social cognition scale, which is still highly under-researched phenomenon although it is acknowledged that social cognition might be affected by various neurological disorders or acquired brain lesions and is significantly related to long-term functioning and quality of life [10,11,24,25].

Our findings show that some neurocognitive domains, such as processing speed, verbal learning and visual learning were affected in TBE patients when compared to healthy controls. It is worth noting that young patients were the most affected compared to other age groups, scoring lower in almost all cognitive domains and most significantly in attention/vigilance and working memory domains. It is alarming that TBE appears to disproportionately affect the most productive part of the population in terms of intellectual and physical contributions. While a decrease in the speed of processing for the most severe patients was quite predicted, a rather unexpected finding was that patients with mild disease had lower scores on memory-related domains when compared to patients with moderate/severe disease, although statistical significant difference was not confirmed by post-hoc analysis. This implies that even mild types of TBE may cause possible metabolic CNS changes that may result in long-term damage and persistent cognitive/memory issues. Similar findings were reported by Günther et al. – in their study, 28% of TBE patients with

mild disease reported symptoms after one year, and decreased memory and concentration problems were the most common complaints [4]. Mickienė et al. also displayed this phenomenon in ~30% of mild TBE patients [5]. According to Veje et al. disease severity was linked to short-term memory, motivation, balance, fatigue, and learning difficulties, whereas long-term memory was significantly impaired independently from disease severity [7]. The exact mechanisms of cognitive impairment remains unknown, however, Quist-Paulsen et al. in their research on encephalitis of other aetiologies speculated that it might be related to the kynurenine pathway activation, which is also known to be affected during TBE [16,26]. This pathway generates metabolites that might impair communication between neurons and harm cognitive function, particularly memory and learning [27]. While this is a promising area of research, more studies are needed to confirm a clear link between the kynurenine pathway and cognitive problems in TBE patients. The observed improving cognition over time most likely results from the overall healing process of the brain and neuroplasticity, which is expected to last up to a year after TBE as reported in previous studies [5,15].

Despite objectively improved cognition, measured by MCCB, a part of the cohort still complained of persisting subjective symptoms after 1.5 years. The presence of any remaining subjective symptoms at the second follow-up predicted slower processing speed and lower social cognition scores on MCCB. However, when analysing more specific complaints separately, subjective memory complaints were related to slower processing speed but not to memory scores. Weak association between subjective symptoms and objective results, obtained by neuropsychological assessment, is a known phenomenon which may reflect limited patients' abilities to recognise and communicate their cognitive difficulties as well as the inability of objective tests to grasp subtle cognitive difficulties that become apparent only in complex daily life situations. These findings reveal that both objective assessment and subjective complaints are important when evaluating the sequelae of the disease and developing strategies for rehabilitation and later care [28]. Sadly, to the best of our knowledge, only some case studies addressed neuropsychological rehabilitation challenges after TBE [29]. Further research should be directed towards cognition improvement methods used in other areas such as age-related dementia and their feasibility for post-encephalitic syndrome.

The main advantages of this study were that it was a prospective study, included all consecutive patients and was performed in a study centre with experience on TBE research. We aimed to evaluate neurocognitive sequelae not only qualitatively, but also quantitatively and compare the results to a healthy control cohort. We have achieved this goal, however the discrepancy between MCCB test results and overall recovery of the patients led us to believe that even such a thorough and detailed instrument as MCCB can hardly be used alone and, for a comprehensive and complete assessment of the patients' recovery process, should be paired with the time-tested subjective symptoms evaluation. The limitations of our study were a relatively small percentage of severe cases and a quite substantial amount of subjects lost to follow-up, COVID-19 restrictions being the most unexpected reason. During the follow-ups, the TBE cohort was tested primarily before the widespread of COVID-19, whereas the control group was evaluated during the COVID-19 pandemic and part of them might have had clinical or asymptomatic COVID-19 infection which is now also known to impact cognitive functions in some cases [30]. Unfortunately, COVID-19-related data was not collected from the control group.

In conclusion, long-term neurological sequelae persist in a substantial proportion of TBE patients with significant impairment in several cognitive domains, especially in younger patients and even in mild TBE. While a significant increase in neurocognitive performance over time provides an optimistic picture, a timely intervention might be significant to shorten that period. It is crucial to begin developing individualised neuropsychological rehabilitation programs in addition to the existing physical rehabilitation and to continue the research determining the pathogenesis of development and persistence of these symptoms for possible future creation of pharmacological measures.

### Disclosure statement

M. S. and A. M. have received a Grant from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Study Group for Infectious Diseases of the Brain (ESGIB). A. M. has received a Grant for the Independent Investigator Initiated Research from Pfizer R&D Investigator-Initiated Research Program, received sponsorship for participation in the international scientific conferences by MSD, Pfizer, Abbvie, Janssen, received payments for lectures at local scientific conferences and consultation fees from GSK, Sanofi, Pfizer, E-visit. M. S. has received Grants from the Swedish state under the agreement between the Swedish government and the country councils, the ALF agreement. M. V. has received speaker honoraria from Pfizer and

Bavaria Nordic, support for attending medical meetings from Pfizer. V. G. has received sponsored participation in a medical conference by Sanofi-Aventis. A. P., J. P., D. G., L. L., L. S. and J. A. did not have any conflicts of interest to disclose.

### Funding

This study was financed by Grant for the Independent Investigator (am) Initiated Research (Project Code/PO/Tracking Number WI236259; Grant ID#53233947); Pfizer R&D Investigator-Initiated Research Program ([https://www.pfizer.com/research/rd\\_partnering/investigator-initiated-research2](https://www.pfizer.com/research/rd_partnering/investigator-initiated-research2)) for the scientific project 'A prospective study on the long-term outcome and pathogenesis of tick-borne encephalitis' (the funder had no role in protocol design, had no opportunity to comment on it; no access to any data; no role in analysis or interpretation; no opportunity to preview results/findings; no opportunity to contribute to, preview or comment on manuscripts and presentations arising from this work), and Grant from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Study Group for Infectious Diseases of the Brain (A. M., M.S.).

### ORCID

Vytautas Griška  <http://orcid.org/0009-0000-9534-5578>  
 Aistė Pranckevičienė  <http://orcid.org/0000-0002-8180-3504>  
 Jolita Pakalniėnė  <http://orcid.org/0000-0002-3252-3901>  
 Malin Veje  <http://orcid.org/0000-0001-5487-0616>  
 Auksė Mickienė  <http://orcid.org/0000-0002-4998-1319>

### Data availability statement

The participants of this study did not give written consent for their data to be shared publicly, so due to the sensitive nature of the research supporting data is not available.

### References

- [1] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Tick-borne encephalitis. Annual epidemiological report for 2020 [cited 2022 Dec 13]. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tick-borne-encephalitis-annual-epidemiological-report-2020>.
- [2] Gustafson R, Svenungsson B, Forsgren M, et al. Two-year survey of the incidence of lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in a high-risk population in Sweden. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1992;11(10):894–900. doi: 10.1007/BF01962369.
- [3] Gustafson R, Svenungsson B, Gardulf A, et al. Prevalence of tick-borne encephalitis and lyme borreliosis in a defined Swedish population. *Scand J Infect Dis*. 1990;22(3):297–306. doi: 10.3109/00365549009027051.
- [4] Günther G, Haglund M, Lindquist L, et al. Tick-borne encephalitis in Sweden in relation to aseptic meningoencephalitis of other etiology: a prospective study of clinical course and outcome. *J Neurol*. 1997;244(4):230–238. doi: 10.1007/s004150050077.

- [5] Mickiene A, Laiskonis A, Günther G, et al. Tick-borne encephalitis in an area of high endemicity in Lithuania: disease severity and long-term prognosis. *Clin Infect Dis*. 2002;35(6):650–658. doi: [10.1086/342059](https://doi.org/10.1086/342059).
- [6] Kaiser R, Kaiser DR. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in Southern Germany 1994–98A prospective study of 656 patients. *Brain*. 1999;122(11):2067–2078. doi: [10.1093/BRAIN/122.11.2067](https://doi.org/10.1093/BRAIN/122.11.2067).
- [7] Veje M, Nolskog P, Petzold M, et al. Tick-borne encephalitis sequelae at long-term follow-up: a self-reported case-control study. *Acta Neurol Scand*. 2016;134(6):434–441. doi: [10.1111/ane.12561](https://doi.org/10.1111/ane.12561).
- [8] Haglund M, Günther G. Tick-borne encephalitis – pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine*. 2003;21(suppl 1):S11–S18. doi: [10.1016/S0264-410X\(02\)00811-3](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(02)00811-3).
- [9] Gustaw-Rothenberg K. Cognitive impairment after tick-borne encephalitis. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008;26(2):165–168. doi: [10.1159/000150443](https://doi.org/10.1159/000150443).
- [10] Nuechterlein KH, Green MF, Kern RS, et al. The MATRICS consensus cognitive battery, part 1: test selection, reliability, and validity. *Am J Psychiatry*. 2008;165(2):203–213. doi: [10.1176/APPI.AJP.2007.07010042](https://doi.org/10.1176/APPI.AJP.2007.07010042).
- [11] Kern RS, Nuechterlein KH, Green MF, et al. The MATRICS consensus cognitive battery, part 2: co-norming and standardization. *Am J Psychiatry*. 2008;165(2):214–220. doi: [10.1176/APPI.AJP.2007.07010043](https://doi.org/10.1176/APPI.AJP.2007.07010043).
- [12] WMA. Declaration of Helsinki – ethical principles for medical research involving human subjects. Published 1964. <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>.
- [13] Nygren TM, Pilic A, Böhmer MM, et al. Recovery and sequelae in 523 adults and children with tick-borne encephalitis in Germany. *Infection*. 2023;51(5):1503–1511. doi: [10.1007/s15010-023-02023-w](https://doi.org/10.1007/s15010-023-02023-w).
- [14] Slunge D, Boman A, Studahl M. Burden of tick-borne encephalitis, Sweden. *Emerg Infect Dis*. 2022;28(2):314–322. doi: [10.3201/EID2802.204324](https://doi.org/10.3201/EID2802.204324).
- [15] Haglund M, Forsgren M, Lindh G, et al. A 10-year follow-up study of tick-borne encephalitis in the Stockholm area and a review of the literature: need for a vaccination strategy. *Scand J Infect Dis*. 1996;28(3):217–224. doi: [10.3109/00365549609027160](https://doi.org/10.3109/00365549609027160).
- [16] Quist-Paulsen E, Ormaasen V, Kran AMB, et al. Encephalitis and aseptic meningitis: short-term and long-term outcome, quality of life and neuropsychological functioning. *Sci Rep*. 2019;9(1):16158. doi: [10.1038/s41598-019-52570-2](https://doi.org/10.1038/s41598-019-52570-2).
- [17] Schmolck H, Maritz E, Kletzlin I, et al. Neurologic, neuropsychologic, and electroencephalographic findings after European tick-borne encephalitis in children. *J Child Neurol*. 2005;20(6):500–508. doi: [10.1177/08830738050200606](https://doi.org/10.1177/08830738050200606).
- [18] Engman ML, Lindström K, Sallamba M, et al. One-year follow-up of tick-borne central nervous system infections in childhood. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(6):570–574. doi: [10.1097/INF.0B013E31824F23C0](https://doi.org/10.1097/INF.0B013E31824F23C0).
- [19] Ullman H, Fowler Å, Wickström R. Erratum to “increased working memory related fMRI signal in children following tick borne encephalitis”. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016;20(4):688. doi: [10.1016/j.ejpn.2016.04.018](https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2016.04.018).
- [20] Jones BDM, Fernandes BS, Husain MI, et al. A cross-sectional study of cognitive performance in bipolar disorder across the lifespan: the cog-BD project. *Psychol Med*. 2023;53(13):6316–6324. doi: [10.1017/S0033291722003622](https://doi.org/10.1017/S0033291722003622).
- [21] Shi J, Guo H, Liu S, et al. Subcortical brain volumes relate to neurocognition in first-episode schizophrenia, bipolar disorder, major depression disorder, and healthy controls. *Front Psychiatry*. 2021;12:747386. doi: [10.3389/fpsy.2021.747386](https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.747386).
- [22] Cheng F, Cui S, Zhang C, et al. Association between cognitive function and early life experiences in patients with alcohol use disorder. *Front Psychiatry*. 2020;11:792. doi: [10.3389/fpsy.2020.00792](https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00792).
- [23] Eckerström M, Nilsson S, Zetterberg H, et al. Cognitive impairment without altered levels of cerebrospinal fluid biomarkers in patients with encephalitis caused by varicella-zoster virus: a pilot study. *Sci Rep*. 2020;10(1):22400. doi: [10.1038/s41598-020-79800-2](https://doi.org/10.1038/s41598-020-79800-2).
- [24] Maggio MG, Maresca G, Stagnitti MC, et al. Social cognition in patients with acquired brain lesions: an overview on an under-reported problem. *Appl Neuropsychol Adult*. 2022;29(3):419–431. doi: [10.1080/23279095.2020.1753058](https://doi.org/10.1080/23279095.2020.1753058).
- [25] Duclos H, Desgranges B, Eustache F, et al. Impairment of social cognition in neurological diseases. *Rev Neurol*. 2018;174(4):190–198. doi: [10.1016/j.neuro.2018.03.003](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2018.03.003).
- [26] Holtze M, Mickiené A, Atlas A, et al. Elevated cerebrospinal fluid kynurenic acid levels in patients with tick-borne encephalitis. *J Intern Med*. 2012;272(4):394–401. doi: [10.1111/j.1365-2796.2012.02539.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2012.02539.x).
- [27] Stone TW, Darlington LG. The kynurenine pathway as a therapeutic target in cognitive and neurodegenerative disorders. *Br J Pharmacol*. 2013;169(6):1211–1227. doi: [10.1111/BPH.12230](https://doi.org/10.1111/BPH.12230).
- [28] Pranckeviciene A, Deltuva VP, Tamasauskas A, et al. Association between psychological distress, subjective cognitive complaints and objective neuropsychological functioning in brain tumor patients. *Clin Neurol Neurosurg*. 2017;163:18–23. doi: [10.1016/j.clineuro.2017.10.007](https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2017.10.007).
- [29] Ripamonti E, Gaffuri M, Molteni F. Cognitive, neuropsychiatric, and motor profile in post tick-borne flaviviral encephalomyelitis. *Neurol Sci*. 2020;41(12):3759–3760. doi: [10.1007/s10072-020-04531-1](https://doi.org/10.1007/s10072-020-04531-1).
- [30] Ceban F, Ling S, Lui LMW, et al. Fatigue and cognitive impairment in post-COVID-19 syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2022;101:93–135. doi: [10.1016/j.bbi.2021.12.020](https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.12.020).



# PRIEDAI

## *1 priedas (1). Informuoto asmens sutikimo forma*

Informuoto asmens sutikimo forma, versija Nr. 2, data: 2018 - 09 - 14

---

### SUTIKIMAS DALYVAUTI BIOMEDICININIAME 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>1</sup>.

Supratau, kad asmuo, dėl kurio dalyvavimo biomediciniame tyrime aš duodu sutikimą, gali bet kada pasitraukti iš tyrimo, nenurodydamas priežasčių.<sup>2</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.

Aš sutinku, kad mano nuasmeninti kraujo ėminiai būtų naudojami ateityje etiškai patvirtintuose tyrimuose ir būtų saugomi 5 metus.

Taip

Ne

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	MMMM-mm-dd 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

---

<sup>1</sup> Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda pats asmuo

<sup>2</sup> Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda kitas asmuo

## *1 priedas (2). Informuoto asmens sutikimo forma*

Informuoto asmens sutikimo forma, versija Nr. 2, data: 2018 - 09 - 14

---

<u>vardas</u>	<u>pavardė</u>	<u>pareigos tyrime</u>	<u>parašas</u>	<i>MMMM-mm-dd</i> <u>pasirašymo data</u>	<u>._.</u> <u>pasirašymo laikas</u>
---------------	----------------	----------------------------	----------------	---	--

## *2 priedas. Simptomų registracijos ir klasifikacijos forma ūmios ligos fazės metu*

### **PART 3. CLINICAL ASSESSMENT ON ACUTE STAGE**

#### **SYMPTOMS**

	Prodromal stage	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Interval between tick bite and first symptoms (eg. fever) in days	.....		
Duration of prodromal stage in days	.....		
Duration of asymptomatic interval in days	.....		
Interval between tick bite and onset of neurological symptoms in days	.....		

#### **MAXIMUM VALUE OF SEVERITY DURING HOSPITAL STAY**

How many times was the patient classified by the investigator? <input type="checkbox"/> 1 time <input type="checkbox"/> 2 times <input type="checkbox"/> 3 or more
--

SYMPTOM		SEVERITY OF TBE ON THE ACUTE STAGE	
Fever > 37°C	<input type="checkbox"/>		
Headache	<input type="checkbox"/>	<b>Mild form (Meningitis)</b>	<input type="checkbox"/>
Nausea, vomiting	<input type="checkbox"/>	Spinal nerve paralysis	<input type="checkbox"/>
Nuchal rigidity	<input type="checkbox"/>	Cranial nerve paralysis	<input type="checkbox"/>
Kernig's sign	<input type="checkbox"/>		
Disturbance of consciousness	<input type="checkbox"/>	<b>Moderate form (Encephalitis of moderate severity)</b>	<input type="checkbox"/>
GCS		Spinal nerve paralysis	<input type="checkbox"/>
Ataxia	<input type="checkbox"/>	Cranial nerve paralysis	<input type="checkbox"/>
Tremor	<input type="checkbox"/>		
Dysphasia	<input type="checkbox"/>	<b>Severe form (Severe Encephalitis)</b>	<input type="checkbox"/>
Seizures	<input type="checkbox"/>	Spinal nerve paralysis	<input type="checkbox"/>
specify (localized, generalized)		Cranial nerve paralysis	<input type="checkbox"/>
Abnormal movements (except for convulsions)	<input type="checkbox"/>		
Cerebellar syndrome (F-N, K test)	<input type="checkbox"/>	<b>Definitions:</b>	
Hallucinations	<input type="checkbox"/>	<b>Mild disease</b> is defined as causing primarily meningeal symptoms (fever, headache, rigidity of the neck, nausea, vomiting).	
Memory disorders	<input type="checkbox"/>		
Decreased concentration	<input type="checkbox"/>		
Dysexecutive syndrom	<input type="checkbox"/>	<b>Moderate disease</b> is defined as the presence of monofocal encephalitic symptoms (ataxia, dysphasia, tremor, single cranial nerve paralysis) and/or moderate diffuse brain dysfunction (Glasgow Coma Scale (GCS) score 14-10).	
Behavior disorders	<input type="checkbox"/>		
Central paresis	<input type="checkbox"/>	<b>Severe disease</b> is considered as the presence of multifocal encephalitic symptoms and/or GCS ≤9.	
Sensory disorders			
specify (topography)			
Cranial nerve paralysis,	<input type="checkbox"/>		
specify			
Bulbar syndrom	<input type="checkbox"/>		
Spinal nerve paralysis/myelitis symptoms	<input type="checkbox"/>		
motor deficit, specify (topography)			
grade (5 – normal strength, 0 – complete paresis)			
sensor deficit,	<input type="checkbox"/>		
specify (topography)			
Bladder dysfunction	<input type="checkbox"/>		
Rectal dysfunction	<input type="checkbox"/>		

**3 priedas. Subjektyvių ir objektyvių neurologinių simptomų registracijos forma stebėjimo vizitų metu**

SYMPTOM	FOLLOW-UP 1 (DD/MM/YY)	FOLLOW-UP 2 (DD/MM/YY)
Headache	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
occasional	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
> 15 days/month	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
constant for > 3 months	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Decreased concentration	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Decreased stress tolerance	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Increased irritability	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Decreased memory	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Emotional instability	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sleep disturbance	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Behavior disorders	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ataxia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tremor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dysphasia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Seizures	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
specify (localized, generalized)		
Abnormal movements (except for convulsions)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cerebellar syndrome (F-N, K test)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Central paresis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sensory disorders		
specify (topography)		
Cranial nerve paralysis,	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
specify		
Bulbar syndrom	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Spinal nerve paralysis/myelitis symptoms	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
motor deficit, specify (topography)		
grade (5 – normal strength, 0 – complete paresis)		
sensor deficit,	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
specify (topography)		
Bladder dysfunction	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bowel dysfunction	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sexual dysfunction	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

If incomplete recovery:	FOLLOW-UP 1 (DD/MM/YY)		FOLLOW-UP 2 (DD/MM/YY)	
Objective neurological sequelae	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No
Subjective symptoms	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No

Version 1; 22-03-2018

# CURRICULUM VITAE

<b>Name, Surname</b>	<b>Vytautas Griška</b>
<b>Date of birth:</b>	1990 10 02
<b>E-mail:</b>	vytautas.griska@lsmu.lt
<b>Phone:</b>	+370 682 06234
<b>Research interests:</b>	CNS infections, tick-borne diseases, zoonoses
<b>Education</b>	
2019–2023	Doctoral (PhD) studies at Lithuanian University of Health Sciences, Department of Infectious Diseases
2015–2019	Residency studies in infectious diseases, specialist's qualification at Lithuanian University of Health Sciences, Department of Infectious Diseases
2009–2015	Master's degree in Medicine and medical doctor (MD) qualification at Lithuanian University of Health Sciences
<b>Professional experience</b>	
10/2020–present	Infectious diseases specialist at LUHS Kaunas Clinics
09/2019–present	Infectious diseases specialist at LUHS Kaunas Hospital
09/2019–present	Lecturer at Lithuanian University of Health Sciences, Department of Infectious Diseases
01/07/2016–31/08/2019	Assistant physician at Kaunas Clinical Hospital
01/08/2015–31/07/2019	Resident doctor at LUHS Kaunas Clinics, Kaunas Clinical Hospital
01/09/2014–31/01/2015	Internship at Klaipėda Republic Hospital.
<b>Scientific projects</b>	
2018–2020	“A study on long-term outcome and pathogenesis of tick-borne encephalitis”. Researcher.
2017–present	“European Network for Collaboration on Encephalitis Investigation and Follow-up (ENCEIF)”. Coordinated by University of Grenoble (France). Researcher.
2015–2016	“Tailoring immunization programmes for seasonal influenza (TIP FLU)”. Qualitative and quantitative study. Researcher.
<b>Courses</b>	
20-22/10/2021	2 <sup>nd</sup> ESCMID course on zoonosis. Sainte-Maxime, France.
26-28/06/2019	3 <sup>rd</sup> Encephalitis Course. Grenoble, France.
07/09/2018	Specific communication skills with vaccination clients. Parnu, Estonia.
08/09/2017	Communication skills with vaccination clients. Vilnius, Lithuania.
11-15/04/2016	3 <sup>rd</sup> School of Influenza. Siena, Italy.
<b>Memberships:</b>	
	Lithuanian Society for Infectious Diseases European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
<b>Languages:</b>	
	Lithuanian (native) English

## PADĒKA

Mokslinei vadovei prof. dr. Auksei Mickienei – už nuolatinį postūmį viską daryti dar truputį geriau.

Mokslinei konsultantei prof. dr. Aistei Pranckevičienei – už kantrų įvadą į naujas mokslo sritis.

Tyrėjams ir kitiems infekcinių ligų klinikos darbuotojams:

Doc. dr. Jolitai Pakalnienei – už dėmesį mažoms detalėms.

Gyd. Urtei Šutienei – už pagalbą dirbant su biologiniais mėginiais.

Gyd. Mariui Ogenskui – už pagalbą su didelės apimties duomenimis.

Administratorei Ievai Paškevičienei – už logistinių problemų sprendimus.

Gyd. E. Tamašauskienei – už lankstų darbo grafiką.

Laborantei Laimutei už pagalbą ir apmokymus dirbant su biologiniais mėginiais.

Visiems infekcinių ligų skyriaus gydytojams ir slaugytojoms – už pagalbą renkant biologinius mėginius.

Psichologėms:

Dianai Gabrijolavičiūtei

Laurai Šalčiūnaitei-Nikonovei

Tyrimo partneriams Stokholmo Karolinska Institute:

Prof. dr. Lars Lindquist

Dr. Lilly Schwieler

Jacob Ahlberg Weidenfors

Tyrimo partneriams Geteborgo Universitete:

Prof. dr. Marie Studahl

Dr. Malin Veje

Tėvams ir seneliams – už tai, kad nuo mažens skatino mokytis.

Treneriams – už išmokymą nepasiduoti sunkiu metu.

Monikai – už tai, kad palaikė visą nelengvą doktorantūros laikotarpį.