



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ
Katedra biomedicínské techniky

**Porovnání množství železa v mozku v oblasti basálních ganglií
a thalamu u pacientů s poruchou v REM spánku
a s Parkinsonovou chorobou**

**Comparison of brain iron levels in basal ganglia and
thalamus in patients with REM sleep disorder and
Parkinson's disease**

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika
Studijní obor: Přístroje a metody pro biomedicínu

Autor diplomové práce: Bc. Pavla Marousková
Vedoucí diplomové práce: Mgr. Radim Krupička, PhD.

Kladno 2020



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Marousková** Jméno: **Pavla** Osobní číslo: **456505**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra přírodovědných oborů**
Studijní program: **Biomedicínská a klinická technika**
Studijní obor: **Přístroje a metody pro biomedicínu**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Porovnání množství železa v mozku v oblasti basálních ganglií a thalamu u pacientů s poruchou v REM spánku a s Parkinsonovou chorobou

Název diplomové práce anglicky:

Comparison of brain iron levels in basal ganglia and thalamus in patients with REM sleep disorder and Parkinson's disease

Pokyny pro vypracování:

Cílem diplomové práce je kvantifikovat množství železa v oblasti bazálních ganglií a thalamu z QSM snímků a snímků z magnetické rezonance. Tyto výsledky následně porovnejte u pacientů s Parkinsonovou chorobou, u pacientů s poruchou v REM spánku a zdravých kontrol. V rámci diplomové práce se seznámte s metodikami zpracování obrazu z magnetické rezonance pomocí nástroje FSL. Navrhněte a implementujte skripty ve FSL pro automatickou segmentaci basálních ganglií a thalamu, koregistrujte T1 mprage obrazy s QSM mapami a vypočítejte susceptibilitu v segmentovaných oblastech. Při řešení spolupracujte s lékaři Neurologické Kliniky 1. lékařské fakulty UK a VFN.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Guangwei Du, et. al, Quantitative Susceptibility Mapping of the Midbrain in Parkinson's Disease, Movement Disorders, ročník 00, číslo -, 2015
- [2] Pyatigorskaya N.; Gallea C.; Garcia-Lorenzo D.; Vidailhet M.; Lehericy S., A review of the use of magnetic resonance imaging in Parkinson's disease, Therapeutic Advances in Neurological Disorders, ročník 7, číslo 4, 2014
- [3] Julio Acosta-Cabronero, Arturo Cardenas-Blanco, Matthew J. Betts, Michaela Butryn, Jose P. Valdes-Herrera, Imke Galazky and Peter J. Nestor, The whole-brain pattern of magnetic susceptibility perturbations in Parkinson's disease, BRAIN a Journal of Neurology, ročník 1, číslo 140, 2017

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

Mgr. Radim Krupička, Ph.D.

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

MUDr. Petr Dušek, Ph.D.

Datum zadání diplomové práce: **17.02.2020**

Platnost zadání diplomové práce: **19.09.2021**


doc. Ing. Lenka Lhotská, CSc.
podpis vedoucí(ho) katedry


prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.
podpis děkana(ky)

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem Porovnání množství železa v mozku a s Parkinsonovou chorobou vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně 19. 5. 2020

.....

Bc. Pavla Marousková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala panu Mgr. Radimu Krupičkovi, PhD. za odborné vedení diplomové práce, za čas strávený při konzultacích a za cenné a podnětné rady při řešení problematiky.

ABSTRAKT

Porovnání množství železa v mozku v oblasti basálních ganglií a thalamu u pacientů s poruchou v REM spánku a s Parkinsonovou chorobou

Nadměrná akumulace železa v mozku má za následek degeneraci dopaminergních neuronů, což vede k rozvoji neurodegenerativních onemocnění, jako je například Parkinsonova choroba. Jelikož k úbytku dopaminergních neuronů dochází o mnoho let dříve, než se projeví motorické příznaky PD, hledá se způsob, jak diagnostikovat toto onemocnění včas. Jedním z ukazatelů by mohlo být právě množství železa v určitých oblastech basálních ganglií.

V rámci diplomové práce bylo cílem navrhnout metodiku zpracování surových dat T1 vážených obrazů a QSM map tak, aby s nimi bylo možné pracovat ve zvolených programech a implementovat skripty pro automatickou segmentaci basálních ganglií a thalamů v softwaru FSL.

Následně kvantifikuje a porovnává hodnoty množství železa u pacientů trpících Parkinsonovou chorobou, pacientů s poruchou chování v REM spánku a zdravých kontrolních pacientů, a to v pěti různých oblastech zájmu.

Klíčová slova

Kvantitativní citlivostní mapování (QSM), Parkinsonova choroba, basální ganglia, akumulace železa, FSL software

ABSTRACT

Comparison of brain iron levels in the basal ganglia and thalamus for the REM sleep disorder and Parkinson's disease patients.

Increased levels of iron in the brain results in degeneration of dopaminergic neurons. The death of dopaminergic neurons leads to the development of neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease. Due to the loss of the dopaminergic neurons prior to appearance of the motoric symptoms of the PD there is an effort to find diagnostic method to discover the symptoms in advance. One of the indicators could be the changed levels of iron in certain areas of the basal ganglia and thalamus.

The aim is to suggest a methodology of processing raw data from T1 images and QSM maps. Therefore, it is possible to work with them in programs and implement automated segmentation scripts of the basal ganglia and thalamus in the FSL software.

Subsequently, the thesis presents quantification and comparison of iron levels of Parkinson's disease, REM sleep disorder patients and control group of healthy patients in five different region of interest.

Keywords

Quantitative susceptibility mapping (QSM), Parkinson's disease, The basal ganglia, iron accumulation, FSL software

Obsah

Seznam zkratk	9
1 Úvod	10
2 Přehled současného stavu	11
2.1 Parkinsonova choroba	11
2.2 Porucha chování v REM spánku	12
2.3 Železo v mozku	13
2.4 Magnetická rezonance	15
2.5 Magnetická susceptibilita mozkové tkáně.....	15
2.6 Kvantitativní citlivostní mapování	16
2.7 Nástroje pro zpracování snímků.....	18
2.7.1 The FIMBRE Software Library (FSL).....	18
2.7.2 Statistical parametric mapping (SPM).....	18
2.8 Automatická segmentace basálních ganglií a thalamu.....	19
3 Cíle práce	22
4 Metody	23
4.1 Výzkumný vzorek	23
4.2 Zpracování obrazových dat	23
4.2.1 Získání a předzpracování dat.....	23
4.2.2 Úprava primárních dat.....	24
4.2.3 Úprava a zpracování QSM map	24
4.3 Segmentace obrazu a kvantifikace železa	27
4.3.1 Segmentace basálních ganglií a thalamu	28
4.3.2 Úprava segmentovaných částí	29
4.3.3 Kvantifikace železa	31
4.4 Statistické zpracování výsledků	32
5 Výsledky	33
5.1 Thalamus, nucleus caudatus, globus pallidus, putamen.....	34
5.2 Substantia nigra	37
6 Diskuse	41

7 Závěr	45
Seznam použité literatury	46
Seznam obrázků	52
Seznam tabulek	53
Příloha A: Obsah přiloženého DVD	54

Seznam zkratek

Zkratka	Význam
AAM	Active Appearance Model (model aktivního vzhledu)
ANCOVA	Analýza kovariance
ASM	Modle aktivního tvaru
NOC	Kontrolní skupina pacientů
DGM	Jádra šedé hmoty
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
EEG	Elektroencefalografie
fMRI	Funkční magnetická rezonance
FSL	The FIMBRE software library
GABA	Metabolismus kyseliny gama-aminomáselné
GUI	Grafické uživatelské rozhraní
GP	Globus pallidus
GRE	Gradient-echo sekvence
MEG	Megaencefalografie
MPRAGE	Rychlá magnetizace
MRI	Magnetická rezonance
NC	Nucleus caudatus
PD	Parkinsonova choroba
PET	Pozitronová emisní tomografie
PN	Putamen
QSM	Kvantitativní citlivostní mapování
RBD	Porucha chování v REM spánku
REM	Rychlý pohyb oční
SPM	Statistické parametrické mapování
SPECT	Jednofotonová emisní tomografie
SE	Spin echo sekvence
SN	Substantia nigra
TE	Time-echo
TH	Thalamus
TR	Repetiční čas

1 Úvod

Parkinsonova choroba je neurodegenerativní onemocnění, kterým trpí především lidé starší 60 let. Onemocnění však začíná mnohem dříve, než dochází k projevům motorické dysfunkce, kdy je teprve onemocnění diagnostikováno. Motorickým projevům choroby předchází nemotorické příznaky, které mohou nastat i o 10 let dříve. Předchozí studie zjistily, že 15-60 % pacientů s Parkinsonovou chorobou trpí právě poruchou chování v REM spánku, a jedná se tedy o hlavní nemotorický příznak. Z důvodu zatím neexistující léčby se klade velký důraz i na co nejdřívější diagnostiku tohoto onemocnění.

Diplomová práce se zaměřuje na kvantifikaci železa v basálních gangliích, thalamu a substantia nigra, kde je prokázána nadměrná akumulace železa u Parkinsonovy choroby. Železo je jedním z indikátorů nemoci a díky rozvoji zobrazovacích metod, především magnetické rezonance, je dnes možné množství železa v mozku měřit. Jednou z nejcitlivějších metod je takzvané magnetické susceptibilní mapování. Z těchto map je kvantifikováno železo u pacientů s Parkinsonovou chorobou, pacientů s poruchou chování v REM spánku a zdravých pacientů v této diplomové práci. Na základě množství železa v daných oblastech zájmu by tak mohlo být možné u pacientů včas rozpoznat nastupující Parkinsonovu chorobu.

První část se věnuje stručnému teoretickému přehledu, kde je představena Parkinsonova choroba, porucha chování v REM spánku, role železa v mozku a metody automatické segmentace. V další části jsou představeny cíle diplomové práce a podrobně je popsána metodika zpracování snímků z neurologické kliniky od převodu snímků přes jejich segmentaci až po kvantifikaci železa v basálních gangliích, thalamech a substantia nigra. Dále jsou uvedeny výsledky kvantifikace železa a diskuze získaných výsledků.

2 Přehled současného stavu

Tato kapitola se věnuje popisu současného stavu řešené problematiky. První kapitoly se věnují Parkinsonově chorobě, poruše chování během REM spánku a její souvislosti s Parkinsonovou chorobou. Další část je věnována akumulaci železa v mozku a možnosti jeho zobrazení pomocí magnetické rezonance. Poslední podkapitola se věnuje problematice automatické segmentace obrazu.

2.1 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba (PD) je komplexní neurologická porucha, která byla poprvé popsán již dvě století zpět. I přesto je v dnešní době problém toto onemocnění včas diagnostikovat. Parkinsonova choroba se považuje za pomalu progresivní neurodegenerativní onemocnění, které začíná již několik roků před tím, než je ho možné diagnostikovat. Dochází k s časnému odumírání dopaminergních neuronů v substantia nigra (SN) a celkový nedostatek dopaminu v bazálních gangliích pak vede k pohybovým dysfunkcím, jako je klidový třes, rigidita a posturální nestabilita. Onemocnění je však doprovázeno i několika nemotorickými příznaky, které mohou předcházet motorickým příznakům o více jak 10 let. [1]

Etiologie a rizikové faktory

Po Alzheimerově chorobě je Parkinsonova choroba druhým nejčastějším neurodegenerativním onemocněním. Celosvětově se četnost PD pohybuje mezi 10–18 případy na 100 000 lidí ročně, přičemž je jeho výskyt v Evropě a Severní a Jižní Americe častější než v Africe a asijských a arabských zemích. [1]

Věk je hlavním rizikovým faktorem a PD trpí 1–2 % populace starších 60 let. Výskyt onemocnění s věkem exponenciálně roste a předpokladem je, že s rostoucí střední délkou života a stárnoucí populací vzroste počet lidí s PD o 50 % do roku 2030. Dalšími rizikovými faktory je pohlaví a etnicita. Poměr výskytu onemocnění u žen a mužů je přibližně 2,28:3. Incidence v USA je nejčastější u lidí s hispánským původem, poté následují nehispanští běloši a nejmenší incidence je u Asiatů a černochů. U 5–10 % pacientů je známo, že mají monogenní formu a jedná se pouze o nongenní onemocnění.

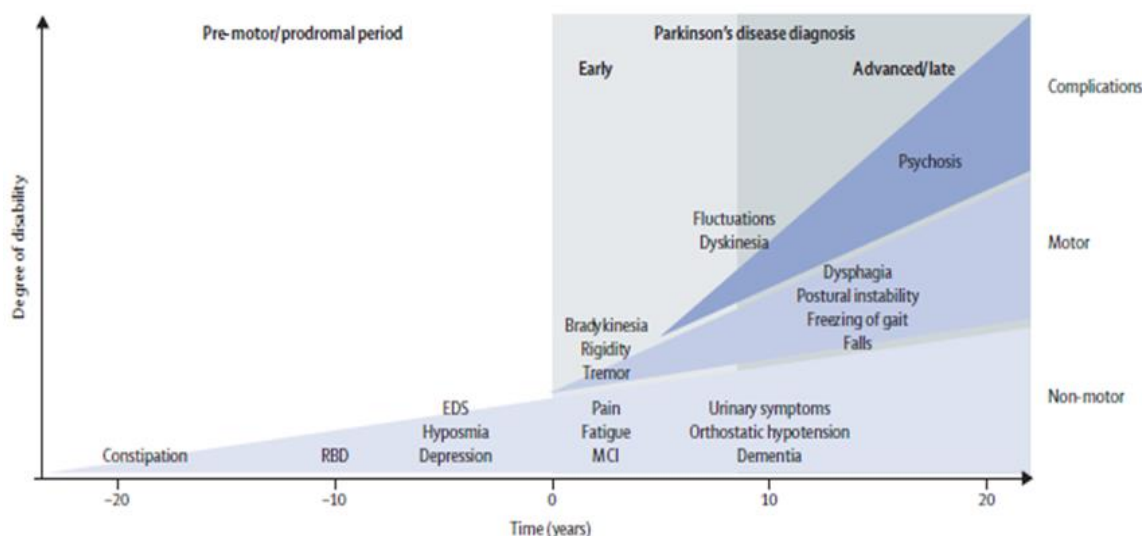
To znamená, že na vzniku onemocnění se mohou podílet jak genetické, tak enviromentální faktory. [1] [2]

2.2 Porucha chování v REM spánku

Onemocnění nazývané porucha chování v REM spánku (RBD) je charakteristické ztrátou atonie kosterního svalstva během fáze REM spánku. Místo toho dochází k výrazné motorické aktivitě, jako je kopání, rozhazování končetinami a další pohyby. [3] Onemocnění nejčastěji nastává v páté či šesté dekádě života a po padesátém roku života častěji u mužů než u žen. U mladších lidí nastává většinou v souvislosti s narkolepsií, užíváním antidepresiv nebo vývojovými poruchami. Jinak se jedná o onemocnění idiopatické a je silně spojeno s neurodegenerativními poruchami především synukleinopatiemi, jako je PD nebo demence s Lewyho těly. [4]

Porucha chování v REM spánku a Parkinsonova choroba

Výskyt RBD u pacientů trpících PD se odhaduje na 15–60 %, což z RBD činí účinný prediktor PD oproti jiným prodromálním markerům, jako je ztráta čichu, zácpa či deprese, kterou trpí až 25 % populace. Tyto zmíněné obtíže nemohou tedy být považovány za spolehlivé prediktory z důvodu jejich nízké specifčnosti. V roce 1996 byla RBD zavedena jako prediktor PD, kdy se u 38 % pacientů s RBD vyvinula PD po jejich čtyřletém sledování. A po prodloužení sledování na 16 let se vyvinula PD nebo demence u 81 % sledovaných pacientů s RBD. Z dalších longitudinálních studií po prvních pěti letech sledování se u 45–47 % pacientů s RBD vyvinula PD, demence s Lewyho těly, mnohočetná systémová atrofie nebo byl zaznamenán výskyt parkinsonismu. Po prodloužení jedné ze studií se procento pacientů zvýšilo na 66 % po 7,5 letech sledování. [5]



Obrázek 2.1: Graf znázorňující nástup symptomů PD v čase od začátku onemocnění. Rok 0 na časové ose znázorňuje, kdy byla PD diagnostikována. [1]

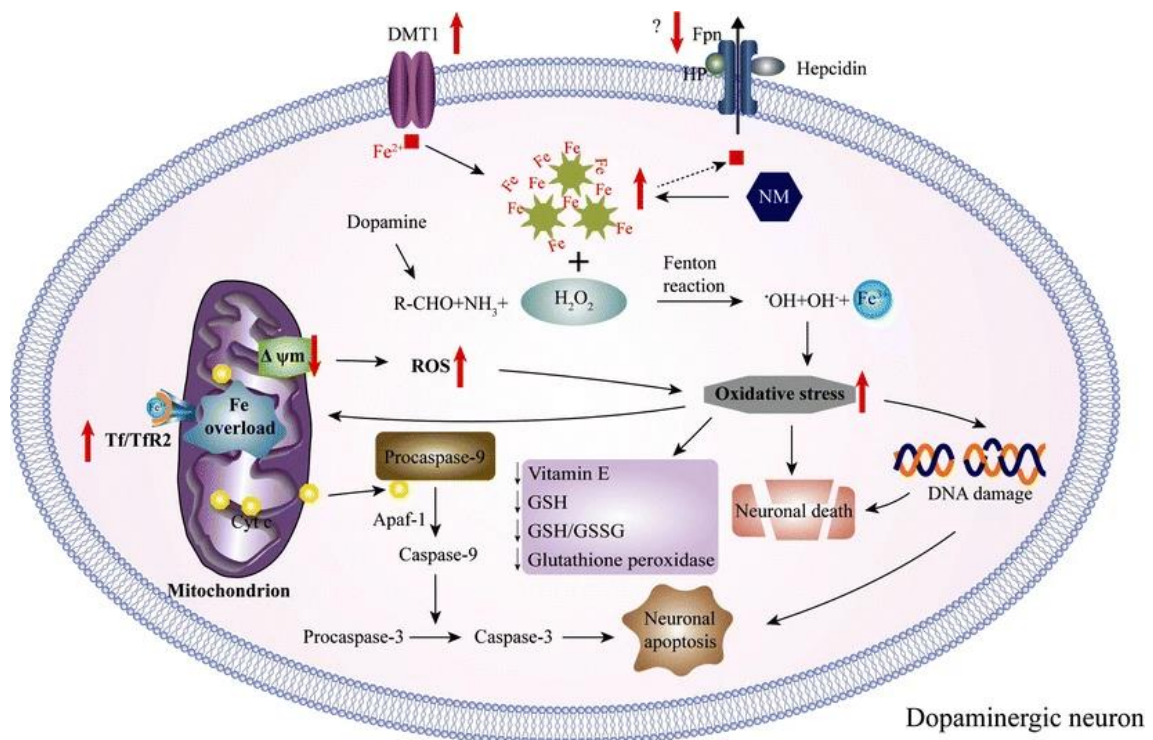
2.3 Železo v mozku

Množství železa v dospělém lidském těle se pohybuje okolo 3,5–4 g [6]. Jedná se o nejvíce zastoupený stopový kov ve zdravém lidském mozku a jeho hladina roste lineárně s věkem do 20 let, pak zůstává konstantní a od 60 roku života se opět začíná zvyšovat. Většina železa se v mozku vyskytuje v neaktivní formě – železité železo Fe^{3+} , které je uloženo ve sférické skořápce proteinového ferritinu, a asi 5 % se nachází ve formě aktivní – železné železo Fe^{2+} . V mozku je železo nepostradatelné pro mnoho procesů, jako je transport, skladování a aktivace kyslíku, dále při syntéze metabolismu neurotransmiterů včetně dopaminu a noradrenalinu. Při syntéze funguje jako kofaktor pro klíčové enzymy. Mozek za normálních podmínek vůbec nereaguje na změny periferního železa, a to díky existenci hemoencefalické bariéry. Přesná homeostáza železa v mozku je udržována pomocí regulujících proteinů, transportéry železa a transportními receptory. Tato funkce je důležitá pro udržení zdravé funkce mozku. Pokud však dojde k narušení křehké homeostázy železa v mozku, může dojít k závažným komplikacím v důsledku buď nedostatku, nebo přebytku železa. [6] [7]

Akumulace železa s věkem

Železo se zvyšuje především v SN, putamen, globus pallidus, nucleus caudatus a kůrách během stárnutí a přispívá tomu několik faktorů. Jedná se o propustnost

hemoencefalické bariéry, zánětlivé stavy, redistribuci železa v mozku a změny homeostázy železa. Skladování železa v mozku v nadměrném množství může vést k oxidačnímu stresu. Ten je vyvolán vysokou koncentrací nevázaného nebo volného železa při interakci s peroxidem vodíku při Fetonově reakci, což má za následek tvorbu hydroxylových volných radikálů. Volné radikály způsobují pak poškození molekul, které může vést k selhání některých biologických funkcí, k modifikacím proteinů, a nakonec i k smrti neuronů, čímž dochází k neurodegeneraci. [6] [8]



Obrázek 2.2: Schéma vzniku oxidačního stresu v nigralní dopaminergní buňce indukovaného železem. Zvýšené intracelulární železo může katalyzovat přeměnu H₂O₂ pomocí Fentonovy reakce na vysoce reaktivní radikál OH, což vede ke zvýšenému oxidačnímu poškození. [9]

Akumulace železa a Parkinsonova choroba

Basální ganglia, ve kterých dochází s věkem k akumulaci železa, jsou hlavní místa, kde také může docházet k nadměrné akumulaci železa u neurodegenerativních poruch. Hlavním regionem u PD je SN, kde se železo ukládá v myelizovaných dopaminergních neuronech. [2] [6] První studie zabývající se nadměrným ukládáním železa u PD byla provedena na začátku minulého století [6]. Hlavní otázkou bylo, zda zvýšení železa v SN znamená včasnou událost, která způsobuje neurodegeneraci, nebo

se jedná o důsledek onemocnění. S postupujícím výzkumem se ukazuje, že nadměrná akumulace železa je počátkem, který vede k degeneraci neuronů. Akumulace železa v SN je výsledkem kombinace zvýšeného importu a sníženého vyplavování a redistribuce intracelulárního železa. [9]

2.4 Magnetická rezonance

Magnetická rezonance (MRI) je neinvazivní zobrazovací technika využívající pro tvorbu 3D anatomických obrazů neionizující záření. Využívá se pro diagnostiku, detekci i monitorování léčby a průběhu různých nemocí [10]. Vyšetření pomocí MRI se pro diagnostiku PD využívá oproti technikám PET a SPECT v klinické praxi méně. Až s rozvojem strukturálního a funkčního zobrazování získává i MRI své místo v diagnostice PD. Existuje několik biomarkerů, které lze pomocí MRI detekovat. V neuroimagingu jsou biomarkery měřítky odvozenými z obrazů a reflektují tak přítomnost onemocnění nebo mohou sloužit k včasné diagnostice. [11]

Pro zobrazování železa pomocí MRI se využívají $R2^*$ a QSM techniky. Tyto techniky se jeví jako vhodné nástroje pro studium patologie železa in vivo u lidí trpících PD. Problémem těchto technik je, že může dojít ke zkreslení dat díky přítomnosti vápníku, lipidů či myelinu v zobrazovaných oblastech. [12]

2.5 Magnetická susceptibilita mozkové tkáně

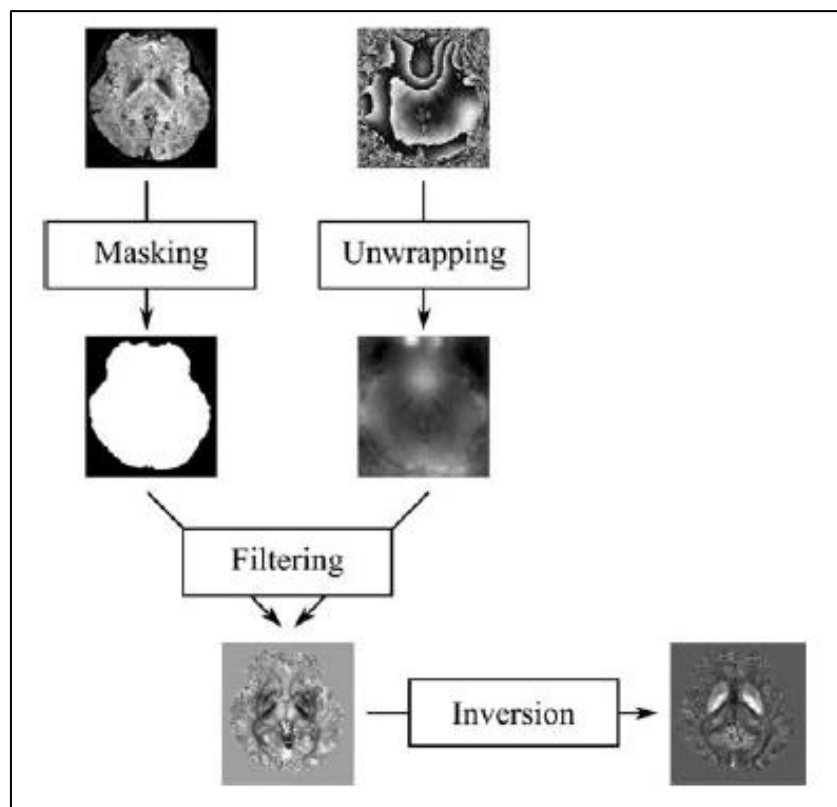
Magnetická citlivost je fyzikální veličina, která popisuje změnu magnetizace materiálu v odezvě na aplikované vnější magnetické pole. Magnetická susceptibilita materiálu závisí na jeho složení a pochází z točení a pohybu jader a elektronů molekul, které materiál tvoří. Hodnoty mohou být jak pozitivní, tak negativní a záleží na tom, zda se magnetizace materiálu vyrovnává s vnějším polem nebo proti němu.

Tkáň lidského mozku se skládá ze 70–85 % vody a díky tomu tkáň mozku vykazuje slabou susceptibilitu, která se pohybuje od -9,2 do -8,8 ppm. Právě přítomnost a změny železa a myelinu v tkáni, které mají významně vyšší hodnotu susceptibility než voda, mění hodnotu susceptibility v různých regionech mozkové tkáně. [8]

2.6 Kvantitativní citlivostní mapování

Kvantitativní citlivostní mapování (quantitative susceptibility mapping = QSM) slouží pro kvantifikaci prostorové distribuce magnetické susceptibility biologických tkání. Pro tvorbu QSM map se využívá fázových obrazů GRE sekvence nebo asymetrického spin echa sekvence (SE). Častěji se používá GRE sekvence, protože je rychlejší než SE sekvence. U GRE sekvencí se využívá toho, že fázové posuvy jsou zde primárním výsledkem nehomogenity pole. [13]

GRE sekvence odráží magnetizaci vzorku a tím pádem i jeho magnetickou susceptibilitu. S narůstajícím časem ozvěny (time-echo = TE) je silně ovlivňována citlivost GRE sekvence, zároveň se ale zhoršuje i poměr fázového signálu k šumu. Stanovený TE pro optimální fázový kontrast se rovná tkáňovému efektivnímu příčnému relaxačnímu času $T2^*$. Dále je pro tvorbu QSM map potřeba použít GRE sekvence s více ozvěnami, protože jedna ozvěna nedokáže optimálně odrážet změnu magnetického pole ve všech tkáních. Po získání velikosti a fázových obrazů je potřeba izolovat fázový posuv způsobený susceptibilitou, a nikoliv chemický posunem či polem přijímací cívky. Získaná velikost slouží pro tvorbu masky mozku požadovaného objemu, do kterého je požadovaná fáze filtrována po rozbalení fázového obrazu. Posledním krokem při tvorbě QSM map je vyřešení problému inverzního dipólu. Existuje několik metod, jak lze tento problém řešit. Buď dochází k opakovanému měření objektu po otočení vzhledem k magnetickému poli, nebo se využívá regularizace. [14] [15]



Obrázek 2.3: Postup vzniku QSM mapy [14]

QSM mapa je užitečným nástrojem při diagnostice a léčbě PD kvůli své citlivosti na změny hladiny železa. (Studie in vivo ukázaly, že hodnoty železa detekované pomocí QSM mapy jsou u pacientů s PD vyšší, než které byly naměřeny u zdravých kontrol.) Ze studií vyplývá, že QSM mapa je při rozlišení mezi pacienty a zdravými kontrolami citlivější než měření $R2^*$ a mnohem lépe dokáže kvantitativně hodnotit abnormální depozici železa u PD [4]. Tento fakt odráží především to, že QSM mapa odráží kvantitativní citlivost lokálních tkání oproti $R2^*$, která kombinuje příčnou relaxaci a nehomogenity lokálního pole indikované $R2^*$ [12]. Tato tomografická schopnost je jedinečná a zatím žádná další zobrazovací technika neumožňuje takové 3D mapování citlivosti uvnitř objektu s měřicím zařízením umístěným mimo objekt. [14] [16]

2.7 Nástroje pro zpracování snímků

Tato podkapitola stručně popisuje nástroje, které byly použity pro zpracování MRI snímků v této diplomové práci.

2.7.1 The FIMBRE Software Library (FSL)

The FIMBRE Software Library byl poprvé vydán v roce 2000 členy skupiny FIMBRE (Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain) z Oxfordské univerzity, která vznikla roku 1998. Jedná se o software, který obsahuje obrazovou analýzu a statistické nástroje pro funkční, strukturální a difúzní MRI zobrazování mozku. FSL je naprogramován v C++ a pomocí skriptů v prostředí podobném Unixu. Hlavními důvody použití byly především rychlost, modularita a přenositelnost softwaru. Dříve existovaly kompilátory pro nejběžnější operační systémy, avšak pro platformu Microsoft Windows to dnes již není možné z důvodu změn ve freewarovém programu „Cygwin“, který se pro spuštění FSL používal. Uživatelům Windows se doporučuje spouštět FSL ve virtuální realitě se systémem Linux uvnitř Windows.

Dnes FSL obsahuje přes 230 individuálních nástrojů a 23 GUI, z nichž uživatelé nejčastěji využívají nástroje pod zkratkami FEAT, MELODIC, FABBER, BET, FAST, FIRST, FLIRT, FNITR, FSL-VBM a další. Tento software je volně dostupný pro nekomerční použití. [17]

2.7.2 Statistical parametric mapping (SPM)

Statistické parametrické mapování se obecně používá k identifikaci funkčně specializovaných mozkových odpovědí a je nejrozšířenějším přístupem k charakterizaci funkční anatomie a změn způsobených onemocněním.

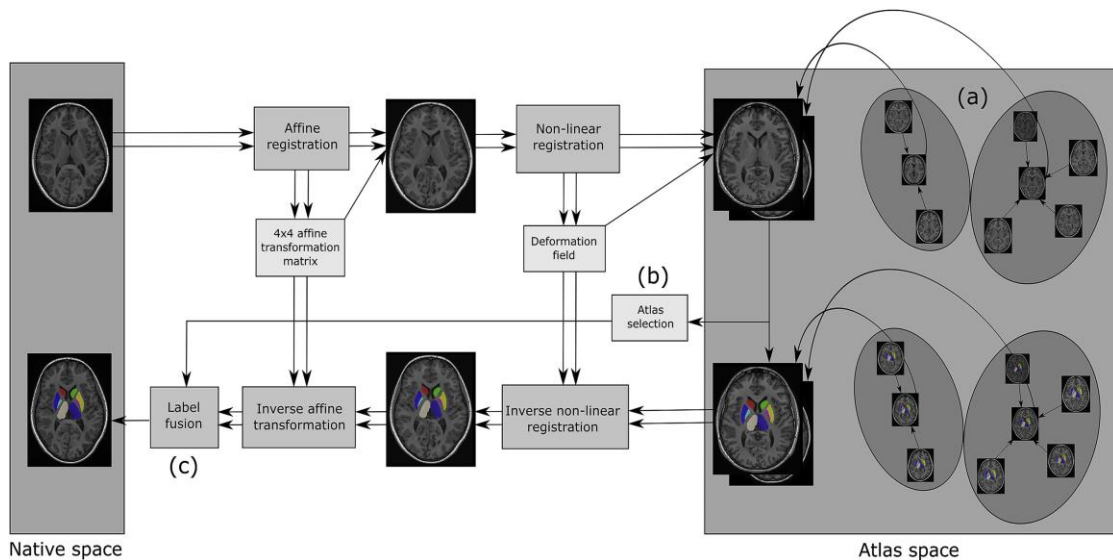
SPM je název softwaru, který se zabývá analýzou funkčních neuroimagingových dat, byl navržen Karlem J. Fristonem v roce 1994 a je volně dostupný. Software představuje implementaci teoretických konceptů statistického parametrického mapování v kompletním analytickém balíčku jako sadu funkcí a podprogramů MATLAB. Poslední aktualizovaná verze je SPM12 dostupná od roku 2014 a je určena pro analýzu fMRI, SPECT, PET, EEG a MEG. [18] [19]

2.8 Automatická segmentace basálních ganglií a thalamu

Basální ganglia a thalamus se řadí k jádrům šedé hmoty (DGM) a jsou centrem pro řadu nervových obvodů, které jsou propojeny s mnoha místy mozkové kůry. Tyto struktury mají důležitou roli při učení, plánování, paměti, provádění behaviorálních reakcí, iniciaci pohybu, prostorové lokalizaci a senzomotorické koordinaci. Mnoho patologických stavů ovlivňuje DGM, jako je roztroušená skleróza, také zde dochází k neurodegeneraci, jako je Huntigtonova choroba, Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba a další. Tyto důvody vedly k potřebě segmentovat jádra šedé hmoty.

Metody automatické segmentace lze rozdělit na: metoda založená na pravděpodobnostním atlasu a metoda založená na vlastnostech tkáních. [20] V současnosti se kvantifikace QSM map v anatomických strukturách opírá o ruční definici zájmových oblastí anebo je založena na automatizovaném mapování mozku na dostupné atlasy mozků. Ruční definice zájmových oblastí je velice časově náročná a je ovlivněna hodnotitelem, zatímco automatická segmentace těchto struktur přináší množství technických výzev, které také mohou omezovat přesnost segmentace. V současné době se metoda založená na atlasech používá nejčastěji a většina z nich je založena na kontrastu T1 vážených obrazů. [21]

Základem metody založené na atlasu pro segmentaci DGM je jeden nebo více označených obrazů. Při použití více atlasů se na základě podobnosti vyberou specifické atlasy, spojí se a vytvoří finální segmentaci. Existují i různá paradigmatata registrace umožňující deformace atlasu tak, aby se vyhovělo anatomickým změnám a segmentace zájmových oblastí byla správná. [20] [22]



Obrázek 2.4: Vývojový diagram multi-atlasové metody: a) sružení atlasů pro minimalizaci registrací na atlasy na nezbytný počet, b) výběr atlasu buď binárního, nebo průběžně váženého na základě podobnosti s cílem, c) fúze transformovaných atlasových značek z více atlasů [21].

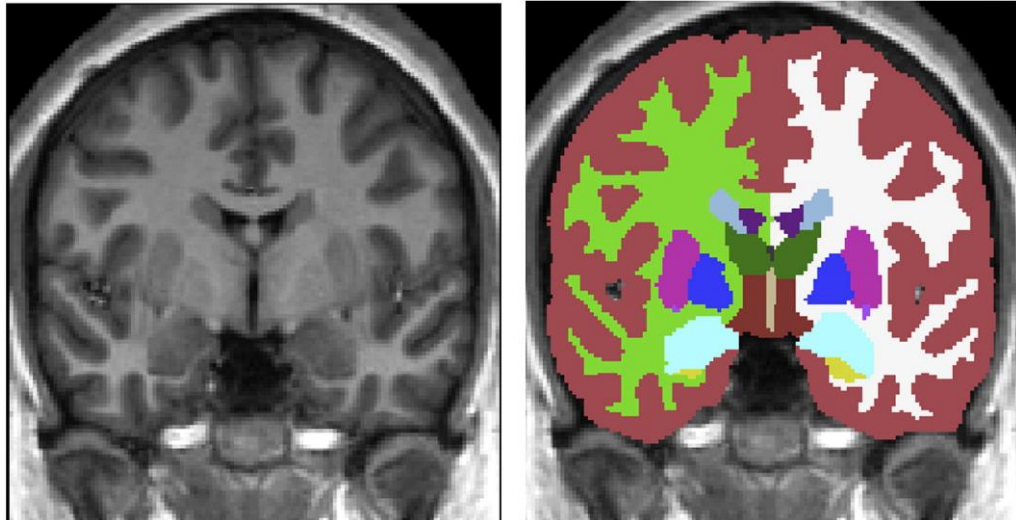
Další metoda založená na vlastnostech tkání využívá algoritmy zpracování obrazu nebo algoritmy strojového učení. Algoritmy spoléhají především na obrazové vlastnosti, jako je intenzita obrazu nebo struktura DGM, i přesto většinou vyžaduje prostorovou informaci (viz níže segmentační nástroj FIRST). Metody využívající strojové učení v současné době úspěšně využívají tzv. hluboké učení nejčastěji s využitím konvolučních sítí. Pro učení využívají sadu obrazových dat, ve kterých jsou obvykle expertem označené hledané struktury. Konvoluční neuronové sítě dokáží najít relativní příznaky a při použití hlubokých neuronových sítí úspěšněji segmentovat jednotlivé struktury než ostatní metody strojového učení. [20]

FIRST

Tento segmentační nástroj využívá principy modelu Active Appearance Model (AAM) umístěného do bayesovského rámce. AAM je rozšíření rámce modelu aktivního tvaru (ASM), který modeluje distribuci odpovídajících anatomických bodů (vrcholy/kontrolní body) a poté parametrizuje střední tvar a nejpravděpodobnější variace tohoto tvaru v tréninkové sadě.

Distribuce intenzity je modelována jako vícerozměrný Gaussian a je parametrizována svým průměrem a vlastními vektory (variační režimy). AAM vzájemně propojuje modely tvarů a intenzit s váhovou maticí odhadnutou z tréninkové sady.

Prizpůsobení tvarů novým obrazům se provádí minimalizováním rozdílu na druhou mezi predikovanými intenzitami vzhledem k deformaci tvaru a pozorovanými intenzitami obrazu. Bayesovský rámec je výhodný, protože přirozeně umožňuje, aby pravděpodobnostní vztahy mezi tvary různých struktur a mezi tvarem a intenzitou byly využity a prozkoumány, přičemž přirozeně také zohlední omezené množství tréninkových dat. [23]



Obrázek 2.5: Vlevo T1 vážený obraz a vpravo zobrazená manuální segmentace DGM oblastí z tréninkové sady [23]

Rámec AAM využívaný softwarem FIRST zde zarovnává předem trénované povrchy sítí DGM v cílovém obrazu ve dvoukrokovém procesu – globální lineární zarovnání následované regionálním afinním zarovnáním. To umožňuje použití tohoto přístupu pro širokou škálu klinických aplikací. [20] Obsahuje 336 ručně označených T1 vážených MRI snímků a umožňuje provést segmentaci 15 různých subkortikálních struktur [23].

3 Cíle práce

Cílem diplomové práce bylo vytvořit postup ke kvantifikaci množství železa v basálních gangliích a thalamech u pacientů s diagnózou poruchy chování v REM spánku. Kvantifikací železa ve vhodných oblastech mozku by u pacientů s RBD bylo možné odhalit časný nástup Parkinsonovy choroby. K dosažení cíle bylo potřeba stanovit si jednotlivé kroky. Ze všeho nejdřív bylo nutné nastudovat danou problematiku, seznámit se se současným stavem výzkumu v této oblasti a s nástrojem zvaným FSL. Prvním dílčím cílem bylo zpracování MRI snímků získaných z Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze. Pro diplomovou práci byly poskytnuty T1 a T2 vážené obrazy celého mozku a QSM mapy celého mozku generované z GRE sekvence s více ozvěnami. Dalším dílčím cílem byla oprava a koregistrace QSM map s T1 váženými obrazy, navrhnutí a implementace skriptů ve FSL pro automatickou segmentaci stanovených oblastí v mozku z T1 vážených obrazů a následné vytvoření postupu pro výpočet množství železa z QSM map v basálních gangliích a thalamech. Posledním dílčím cílem bylo porovnání zjištěných hodnot množství železa mezi pacienty s RBD, pacienty s PD a zdravými kontrolami.

4 Metody

Tato kapitola se zabývá popisem metod použitých pro zpracování snímků a v podkapitolách je detailně popsán postup od zpracování obrazových dat přes kvantifikaci množství železa až po statistické zpracování dat získaných od jednotlivých skupin.

Zpracování dat se provádělo v programu MATLAB od společnosti MathWorks s využitím knihovny SPM12 a v softwaru FSL. MATLAB i FSL jsou určeny pro práci s MRI snímky, jak je uvedeno výše v diplomové práci.

4.1 Výzkumný vzorek

Výzkumný vzorek se skládal ze tří skupin. První skupina obsahovala 30 pacientů trpících PD, z toho 5 žen a 25 mužů ve věku $55,7 \pm 12,4$ let. Druhou skupinu tvořili pacienti trpící RBD, těch bylo 24, z toho 1 žena a 23 mužů ve věku $65,7 \pm 9,5$ let. Poslední skupina se skládala z 32 zdravých kontrolních pacientů, z toho byli 2 ženy a 30 mužů ve věku $64,9 \pm 8$ let. Výzkumný vzorek použitý při kvantifikaci železa v substantia nigra se skládal z menšího výběru pacientů. Použitá data nám poskytla Neurologická klinika 1. LF UK a VFN již anonymizovaná a každý pacient se nacházel pod přiřazeným názvem složeným z názvu skupiny a čísla.

4.2 Zpracování obrazových dat

V této kapitole se zabývám popisem jednotlivých kroků při zpracování T1 vážených obrazů a QSM map, aby je bylo možné použít pro automatickou segmentaci a kvantifikaci železa v určených oblastech zájmu. Kapitola je rozdělena do tří podkapitol.

4.2.1 Získání a předzpracování dat

T1 vážené obrazy byly vytvořeny pomocí 3D T1-vážené magnetizace připravené rychlé gradace (MPRAGE) s $TR/TE = 2200\text{ms}/2,43\text{ ms}$; doba inverze (TI) = 900 ms; úhel otočení (FA) = 8° , rozlišení voxelu = $1 \times 1 \times 1\text{ mm}^3$, 176 řezů, doba skenování 4:16 min.

QSM mapy byly rekonstruovány z akvizice 3D multi-gradientních ech (GRE) s $TR/TEs = X/X$ ms, rozlišení voxelu = $0,5 \times 0,5 \times 2$ mm³. Fázové obrazy byly rekonstruovány offline pomocí přístupu virtuální referenční cívký [24]. QSM rekonstrukce probíhala v následujících krocích:

- (i) kontinuální rozbalení pomocí Laplacianu;
- (ii) odstranění pozadí pole s proměnnou sférickou střední hodnotou (počáteční poloměr 25 mm; poloměr hranice mozku 1 mm; bez dekonvoluce);
- (iii) nelineární MEDIN inverze s $\lambda = 500$ nm [25].

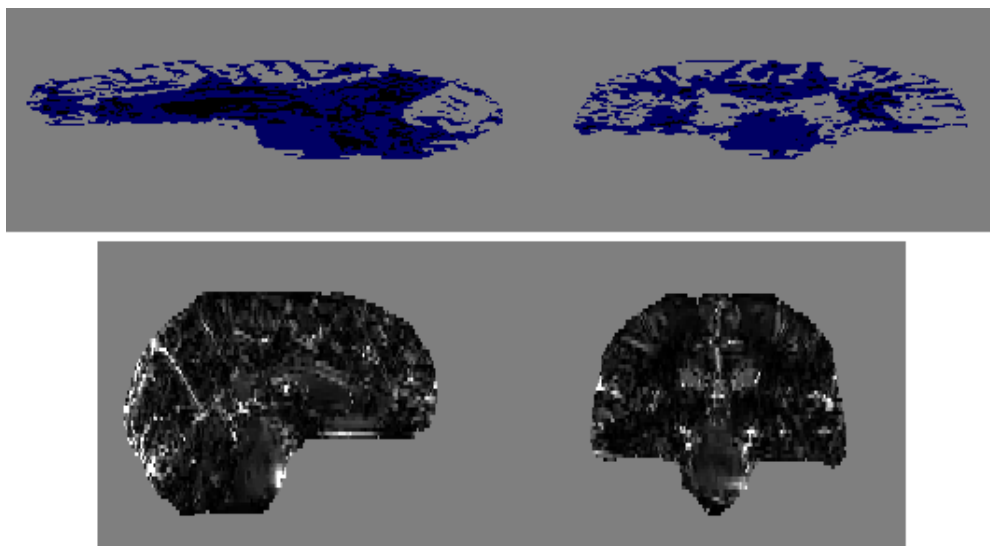
4.2.2 Úprava primárních dat

Data od každého pacienta byla poskytnuta ve formátu s příponou .tar. Tento soubor slouží pro uložení velkého množství dat, v tomto případě se jedná o jednotlivé snímky z MRI sekvencí v DICOM formátu (Digital Imaging and Communications in Medicine). DICOM formát je standardem pro ukládání a přenos informací v lékařském zobrazování a pro manipulaci s nimi [26]. Pro rozbalení souborů ve formátu .tar byl použit volně dostupný software 7-zip, který vytvořil novou složku obsahující velké množství jednotlivých snímků v DICOM formátu.

Aby bylo možné s obrazy pracovat v programech MATLAB a FSL, bylo nutné snímky v nově vzniklé složce převést z formátu DICOM do formátu .nii, který je kompatibilní právě s těmito programy. Pro tento převod byl použit software dcm2nii. Tento převod dat z formátu .tar do .nii byl proveden ze dvou důvodů. Za prvé z důvodu kompatibility s používanými programy a za druhé jsem získala z velkého množství jednotlivých řezů jeden soubor obsahující všechny řezy QSM map a T1 vážených obrazů celého mozku.

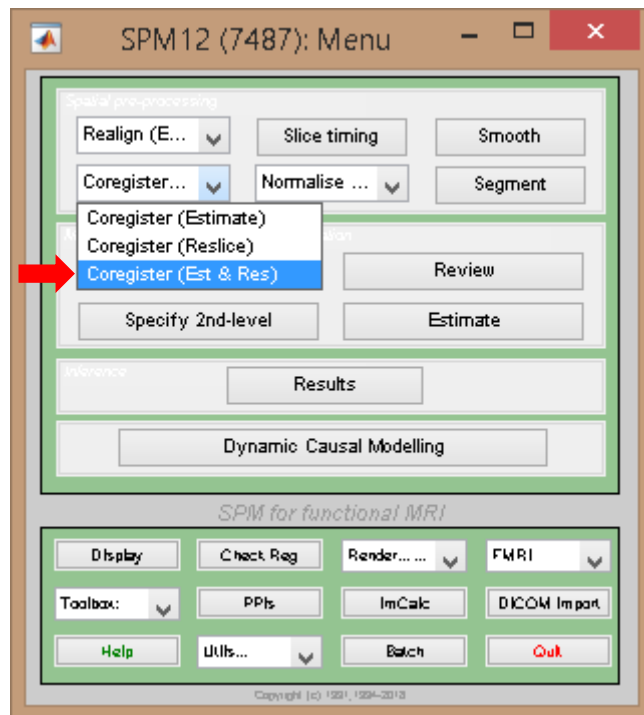
4.2.3 Úprava a zpracování QSM map

Po zobrazení QSM map a T1 vážených obrazů bylo zjištěno, že je třeba opravit tvar QSM mapy do správného anatomického tvaru mozku. Pro tuto opravu byl použit skript *opravaqsm.m* v MATLAB.



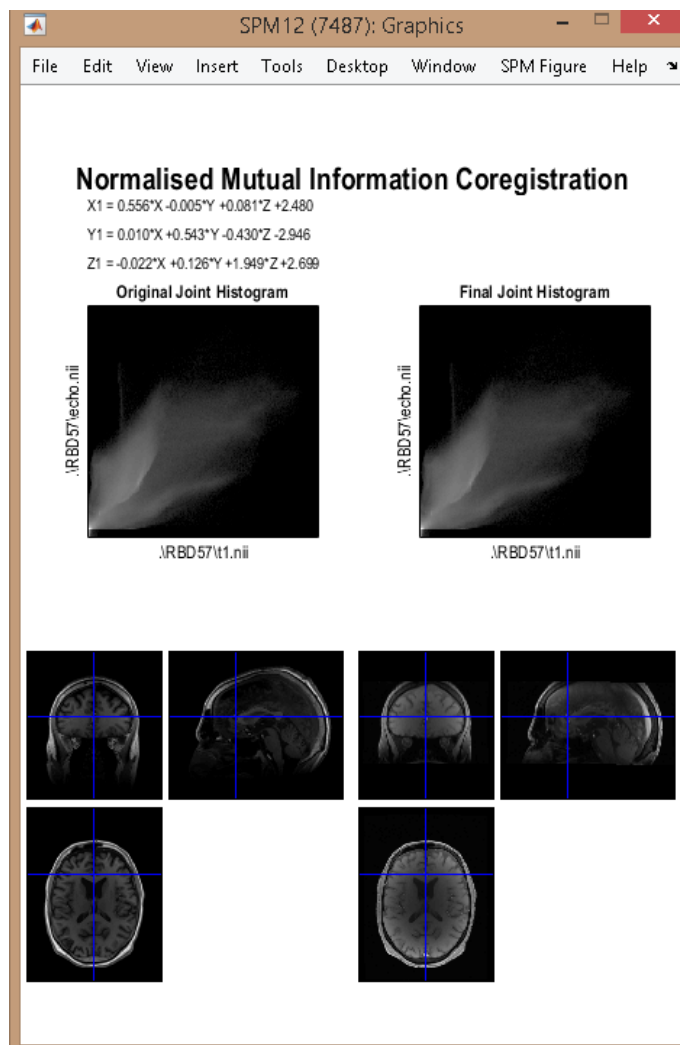
Obrázek 4.1: Ukázka QSM mapy před a po opravě v MATLAB. Rekonstruovaná QSM mapa z GRE ve špatném anatomickém tvaru nahoře (modře zobrazená) a opravená QSM mapa do správného anatomického tvaru mozku dole. Vlevo zobrazená sagitální rovina, vpravo zobrazená koronární rovina.

Dalším krokem byla koregistrace QSM map na T1 vážený obraz pomocí prvního echa T2* mapy. Koregistraci jsem provedla v SPM12. Tento krok byl důležitý z toho důvodu, aby byly obrazy prostorově zarovnány a anatomické oblasti mozku na obou obrazech si vzájemně odpovídaly. V SPM12 je umožněno při koregistraci rovnou provést i reslicing, aby se i jednotlivé řezy obou obrazů shodovaly.



Obrázek 4.2: Ukázka programu SPM12 s výběrem koregistrace [18]

Registrační model, který SPM12 používá, je založen na práci Collignon et al. [27]. Je však upraven tak, aby poskytoval hladší průběh funkce. Jako referenční snímek jsem použila T1 vážený obraz, jako zdrojový snímek jsem použila první echo T2* mapy a jako “další“ obraz byla přidána QSM mapa. Referenční obraz je obraz, u kterého se předpokládá, že zůstane nehybný a slouží k tomu, aby se podle něj zdrojový obraz srovnal tak, aby si přesně odpovídaly. “Další“ obraz musí zůstat v souladu se zdrojovým obrazem a dojde také k jeho zarovnání. Na konci registrace se zobrazí matice afinní transformace voxelu po voxelu, histogramy obrázků v původní orientaci, referenční, tedy T1 vážený obraz, a registrovaný obraz, tedy první echo T2* mapy. Registrované, nově vzniklé obrazy se uloží pod stejným názvem jako původní, pouze s přidáním písmene ‘r’ na začátek názvu. [18]



Obrázek 4.3: Výstup z koregistrace. Shora dolů se na obrázku nachází: matice affíní transformace voxelu po voxelu, histogramy obrazů (původní a výsledný), vlevo referenční obraz T1 a vpravo nově registrované echo T2*. [18]

4.3 Segmentace obrazu a kvantifikace železa

V této kapitole popisují, jak byla provedena segmentace basálních ganglií a thalamů a jaké úpravy bylo potřeba provést na segmentovaných maskách. Poslední podkapitola se zabývá kvantifikací železa.

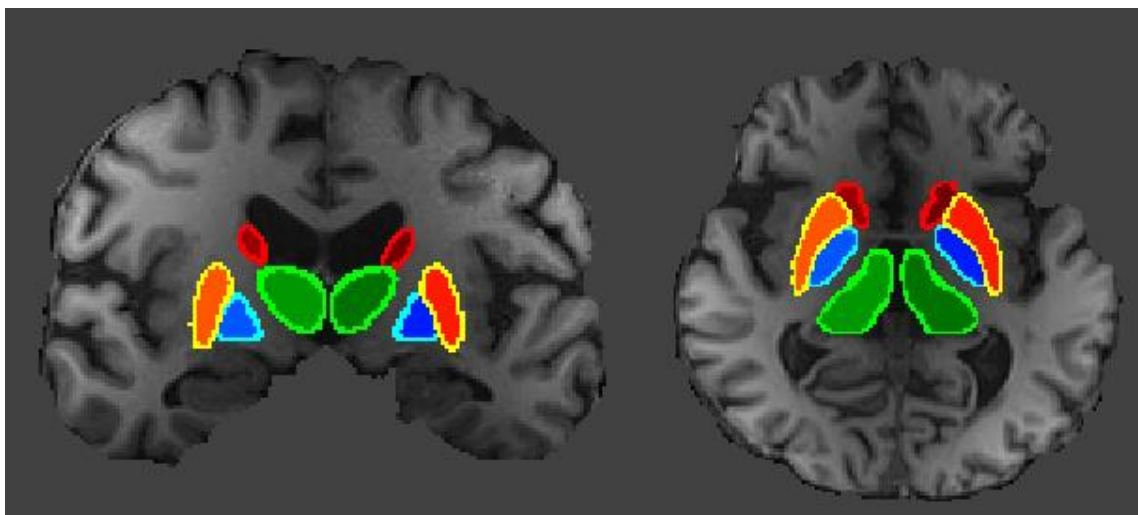
4.3.1 Segmentace basálních ganglií a thalamu

Po zpracování snímků do požadovaného formátu jsem v programu FSL pomocí nástroje FIRST provedla automatickou segmentaci thalamů a basálních ganglií, jež zahrnují nucleus caudatus, putamen a globus pallidus.

Nástroj FIRST je segmentační nástroj. Tvary používaných modelů jsou konstruovány z ručně segmentovaných obrazů poskytnutých Centrem pro Morfometrickou Analýzu (CMA), MGH, Boston. Při segmentaci z T1 vážených obrazů hledá FIRST na základě daných modelů lineární kombinace tvarových variačních módů pro nejpravděpodobnější tvarovou instanci vzhledem k pozorovaným intenzitám v T1 váženém obrazu. Využila jsem skript *run_first_all*. Tento skript umožňuje segmentaci všech 15 subkortikálních struktur, pokud nedojde k upřesnění požadavku. Obsahuje všechny nižší úrovně obslužných programů, kdy nastavení počtu módů a korekce hranic budou vyladěny tak, aby byly optimální pro každou jednotlivou strukturu. Poslední fáze skriptu zajišťuje, že nedochází k překrývání struktur v 3D obrazu. Skript generuje jak objemové výstupy (nifti), tak síťový výstup (vtk). [28] Přesné znění námi použitého skriptu pro segmentaci je:

```
run_first_all -d -i <t1> -o <T1> -s <R_Thal,L_Thal,  
R_Caud,L_Caud,R_Pall,L_Pall,R_Puta,L_Puta>
```

Ve skriptu *-d* zajišťuje, že po provedení segmentace nezmizí soubory obsahující jednotlivě segmentované zvolené subkortikální oblasti a nezůstane pouze soubor obsahující všechny segmentované oblasti, *-i* označuje referenční obrázek, ze kterého je prováděna segmentace, *-o* zajišťuje označení nově vzniklých obrazů a pomocí *-s* se specifikuje, které podporované subkortikální oblasti mají být segmentovány. Výsledných souborů je hned několik, pro diplomovou práci jsem využila soubory s koncovkou *nii.gz*. Soubory nesly následující pojmenování: *T1R_Thal_first.nii.gz*, *T1L_Thal_first.nii.gz* a obdobně pro zbývající oblasti, jejichž zkratky jsou uvedeny výše.



Obrázek 4.4: Segmentované oblasti basálních ganglií a thalamů pomocí nástroje FIRST zobrazené na T1 váženém obrazu, který byl použit jako referenční obraz pro segmentaci. Thalamy jsou zeleně označené, globus pallidus modře označený, putameny do žluta označené a caudata jsou označená červeně. Vlevo zobrazená koronární rovina, vpravo zobrazená transverzální rovina.

4.3.2 Úprava segmentovaných částí

Dalším krokem bylo vytvoření masek ze segmentovaných oblastí, které jsou potřebné pro určení míst pro kvantifikaci železa z QSM mapy. Pro tento krok jsem použila ve FSL nástroj zvaný *fslmaths*. Jedná se o obecný kalkulátor pro obrazy, kterým lze provádět velké množství operací s obrazy. V této diplomové práci jsem ho využila pro tvorbu binárních masek. Přesné znění skriptu použité pro tvorbu binární masky je:

```
fslmaths <T1R_Thal_first> -thr 0.5 -bin <T1R_Thal_bin>
```

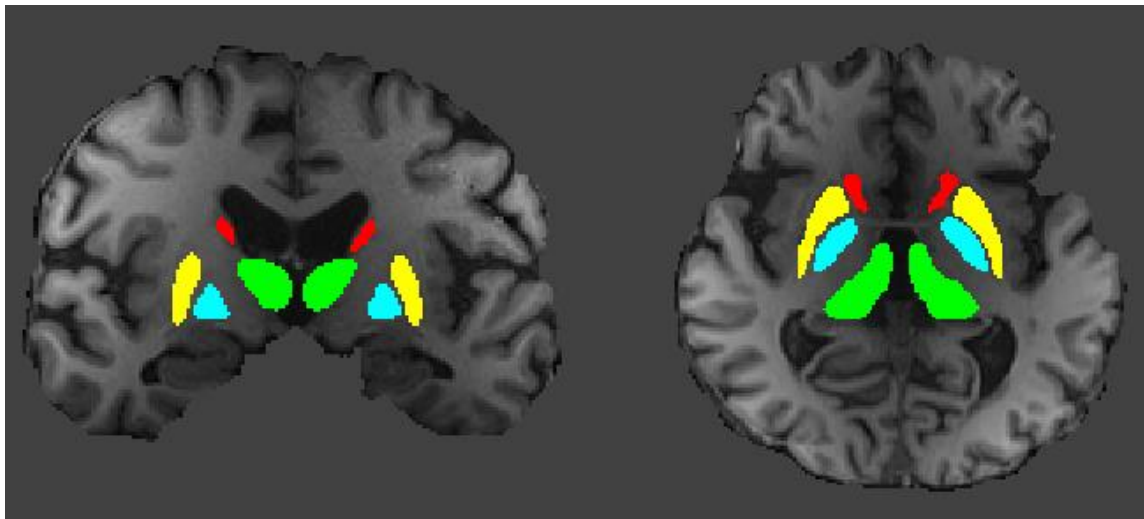
Nejdříve se tedy zadává referenční obraz, ze kterého chceme vytvořit obraz binární, pomocí *-thr* určujeme práh významnosti, zde stanoven na 50 %. Tento práh určuje, kterému z voxelů obrazu, jež nabývají hodnot mezi 0 až 1, bude přiřazena hodnota 1 nebo 0 a zda tak bude daný voxel tvořit masku nebo ne. Možnost *-bin* slouží k specifikaci, že má být segmentovaný obraz převeden na binární. Obrazy se ukládají pod názvy: *T1R_Thal_bin* a pro další oblasti opět obdobným způsobem.

Při kontrole segmentů basálních ganglií a thalamů jsem zjistila, že hranice oblastí byly větší, než jsem očekávala, a nacházely se v těsné blízkosti jiných oblastí s podobnou

intenzitou. Eroze je základní morfologická operace, která využívá vektorového rozdílu. Používá se ke zjednodušení obrazu a je dána tímto vztahem [29]:

$$I \ominus B = \{d \in E^2 : d + b \in X \text{ pro } \forall b \in B\} \quad (4.1)$$

Z toho důvodu jsem provedla erozi, abychom eliminovali možné zkreslení výsledků při kvantifikaci železa. Erozi masek jsem provedla v MATLAB pomocí skriptu *eroze.m*.



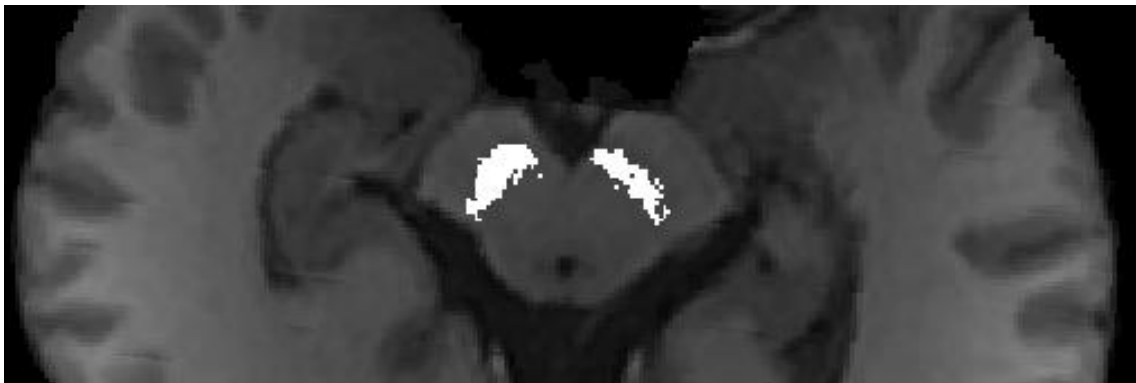
Obrázek 4.5: Erodované segmentované oblasti pomocí skriptu v MATLAB. Barevné značení basálních ganglií a thalamů stejně jako na obrázku 3.1. Vlevo zobrazená koronární rovina, vpravo zobrazená transverzální rovina.

Masky pro oblast substantia nigra

Poslední oblastí zájmu je substantia nigra. Segmentace této oblasti není v této době ve FSL možná. Již hotové masky jsem převzala z diplomové práce Kvantifikace neuromelaninu v substantia nigra v neuromelanin-senzitivní MRI snímcích, autor: Martin Lang [30]. Segmentace substantia nigra zde byla provedena použitím ruční anatomické lokalizace a použitím prahové hodnoty intenzity signálu pro korekci hodnot nepříslušících oblastí substantia nigra po manuální lokalizaci [30]. Tyto masky byly segmentovány z neuromelanin-senzitivních snímků zarovnaných s T1 váženými obrazy. Jednalo se o tytéž T1 vážené obrazy, ze kterých jsem segmentovala zbylé oblasti zájmu a koregistrovala jsem na ně QSM mapy dle T2* echa. Aby masky substantia nigra

odpovídaly správným oblastem na QSM mapách, bylo potřeba provést u QSM map tzv. reslicing.

Pro reslicing QSM map do tří vrstev podle neuromelanin-senzitivních snímků jsem použila funkci `Realign(Reslice)` v SPM12. Z neuromelanin-senzitivních snímků byly segmentovány masky pro substantia nigra a byly také zarovnané na T1 vážené obrazy, proto byly použity jako vzor pro reslicing koregistrovaných QSM map na T1 vážený obraz. Nově vzniklé QSM mapy se uložili pod názvem `resrqsm`.



Obrázek 4.6: Masky substantia nigra zobrazené v transverzální rovině v 1.vrstvě

4.3.3 Kvantifikace železa

Poslední krok pro kvantifikaci železa v basálních gangliích, thalamech a substantia nigra byl proveden ve FSL pomocí nástroje zvaného `fslstats`, který se využívá pro výpočty různých hodnot od maximálních, minimálních intenzit přes medián, průměr až po odchylky. Použitý skript vypadal takto:

```
fslstats <rqsm> -k <T1R_Thal_binE> -p 50
```

Pod názvem `rqsm` se nachází koregistrovaná QSM mapa, kterou jsem použila ke kvantifikaci železa, `-k` specifikuje masku, která vytyčuje oblast, kde chceme železo kvantifikovat, a pomocí `-p 50` vypočítáme mediánovou hodnotu intenzity v oblasti zájmu, kterou nám maska označuje.

4.4 Statistické zpracování výsledků

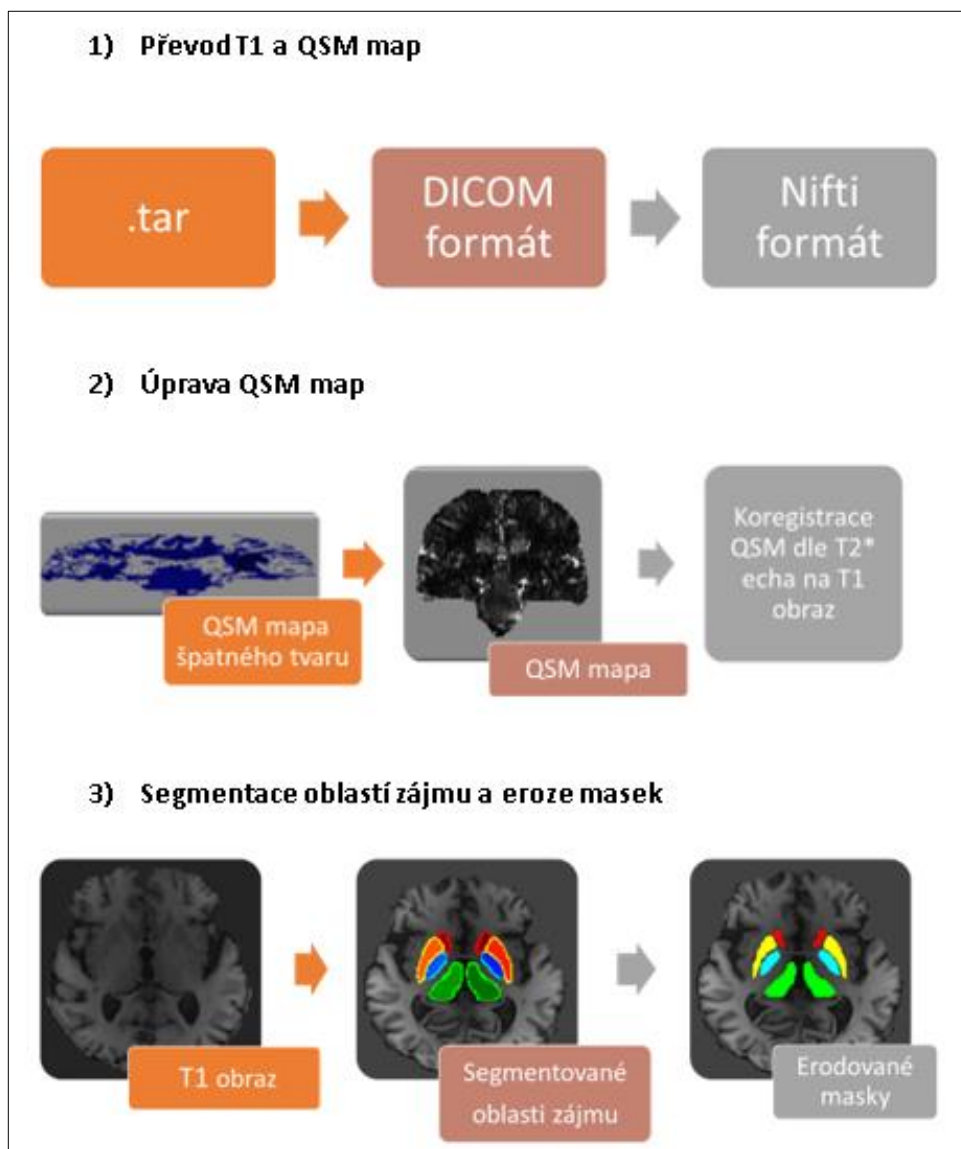
Data jsou statisticky zpracována v programu MATLAB a MS Excelu. Pro kvantifikaci železa jsem vybrala mediánovou hodnotu množství železa obsaženého v oblastech zájmu z důvodu menší pravděpodobnosti zkreslení dat než při měření průměrné hodnoty.

Normální rozdělení dat jsem testovala pomocí jednovýběrového Kolmogrova-Smirnova testu. V MATLAB je tento test pod názvem funkce *kstest*. Meziskupinové porovnání jsem provedla pomocí Mann-Whitneyova U-testu a pomocí analýzy kovariance ANCOVA s přizpůsobením k věku probandů. Pro Mann-Whitneyův U-test slouží funkce *ranksum* a pro analýzu ANCOVA funkce *aoctool* v MATLAB. Statistická hladina významnosti byla zvolena 0,05, a pokud p-hodnota vyšla méně než 0,05, znamená to, že se jedná o signifikantní rozdíl mezi hodnotami výzkumných skupin.

Také jsem provedla korelaci věku a naměřených hodnot pomocí Spearmanovy korelační analýzy. V MATLAB k různým korelacím slouží funkce *corr* s upřesněním parametrů. Korelační koeficient R může nabývat hodnot -1 až 1. Pokud $R = 1$ nebo -1 , jedná se o dokonalou, tedy velmi silnou korelaci mezi testovanými daty, a čím více se R blíží k nule, tím slabší korelace mezi testovanými daty existuje.

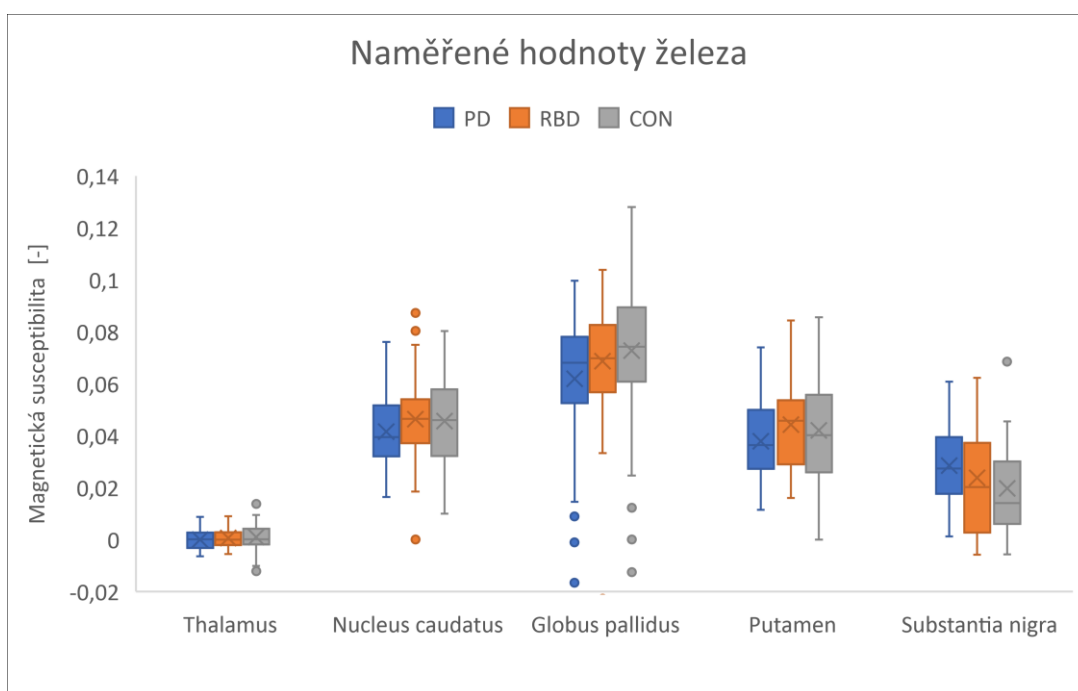
5 Výsledky

Hlavním výsledkem diplomové práce je vytvoření postupu a kvantifikace železa u pacientů s PD, RBD a kontrol (CON) a vzájemné porovnání hodnot mezi těmito skupinami. Detailně popsané kroky z kapitoly 3 jsou shrnuty ve schématu na obrázku 5.1. Výsledky kvantifikace železa jsou uvedeny níže.



Obrázek 5.1: Schéma znázorňující jednotlivé kroky práce potřebné pro kvantifikaci železa v basálních gangliích a thalamech

Výsledky kvantifikace železa jsou prezentovány box-plot grafem na obrázku 5.2, který ukazuje naměřené množství železa v jednotlivých oblastech zájmu každé zkoumané skupiny.



Obrázek 5.2: Box-plot graf porovnávající naměřené mediánové hodnoty železa jednotlivých skupin v oblastech zájmu. Křížek znázorňuje průměrnou hodnotu, vodorovná čára medián.

5.1 Thalamus, nucleus caudatus, globus pallidus, putamen

Prvními prezentovanými výsledky kvantifikace železa jsou mediánové hodnoty magnetické susceptibility z oblastí thalamu (TH), nucleus caudatus (NC), globus pallidus (GP) a putamen (PN). Pro tyto oblasti jsem měla k dispozici větší výzkumný vzorek oproti oblasti substantia nigra (SN). Tabulka 5.1 uvádí podrobné informace o výzkumné skupině a tabulka 5.2 uvádí naměřené hodnoty magnetické susceptibility v oblastech zájmu.

Tabulka 5.1: Přehledová tabulka probandů pro oblasti zájmu TH, NC, GP, PN

Skupiny	Celkový počet	Ženy/Muži	Věk
PD	30	5/25	55,7 ± 12,4
RBD	24	1/23	65,7 ± 9,5
NOC	32	2/30	64,9 ± 8

Tabulka 5.1 udává informace o výzkumném vzorku, který se skládá ze tří skupin – pacienti s Parkinsonovou chorobou označení jako „PD“, pacienti s poruchou chování v REM spánku označení jako „RBD“ a zdravé kontroly označené jako „CON“. Věk je zde uveden jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka.

Tabulka 5.2: Naměřené mediánové hodnoty železa v TH, NC, GP, NP

Oblast zájmu	Magnetická susceptibilita		
	PD	RBD	CON
TH	0,00005 ± 0,0031	0,0004 ± 0,0039	0,0009 ± 0,0059
NC	0,0415 ± 0,0138	0,0474 ± 0,0161	0,0456 ± 0,0154
GP	0,0618 ± 0,0263	0,0687 ± 0,0218	0,0727 ± 0,0263
PN	0,0378 ± 0,0154	0,0443 ± 0,0164	0,0420 ± 0,0202

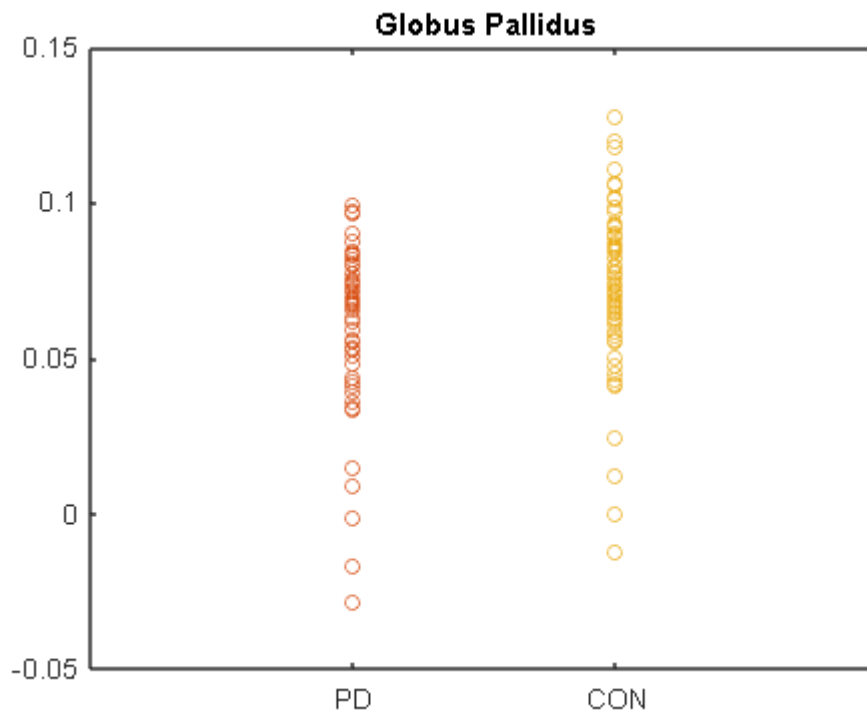
V tabulce se nacházejí průměrné naměřené mediánové hodnoty magnetické susceptibility železa v oblastech zájmu tří skupin pacientů. Naměřená data jsou tu reprezentována pomocí aritmetického průměru ± směrodatná odchylka.

Naměřené hodnoty magnetické susceptibility železa jsem porovnála pomocí dvou testů. První porovnání jsem udělala pomocí Mann-Whitneova U-testu vždy mezi dvěma skupinami – PDxRBD, PDxCON a RBDxCON, abych zjistila, zda se naměřené hodnoty v jednotlivých skupinách statisticky liší. Pomocí analýzy kovariance ANCOVA s přihlédnutím k věku jednotlivých probandů jsem porovnála naměřené hodnoty všech tří skupin najednou, a to z důvodu, že se železo po 60. roce života začíná fyziologicky ukládat v oblastech zájmu. Výsledky U-testu a analýzy ANCOVA jsou uvedeny v tabulce 5.3.

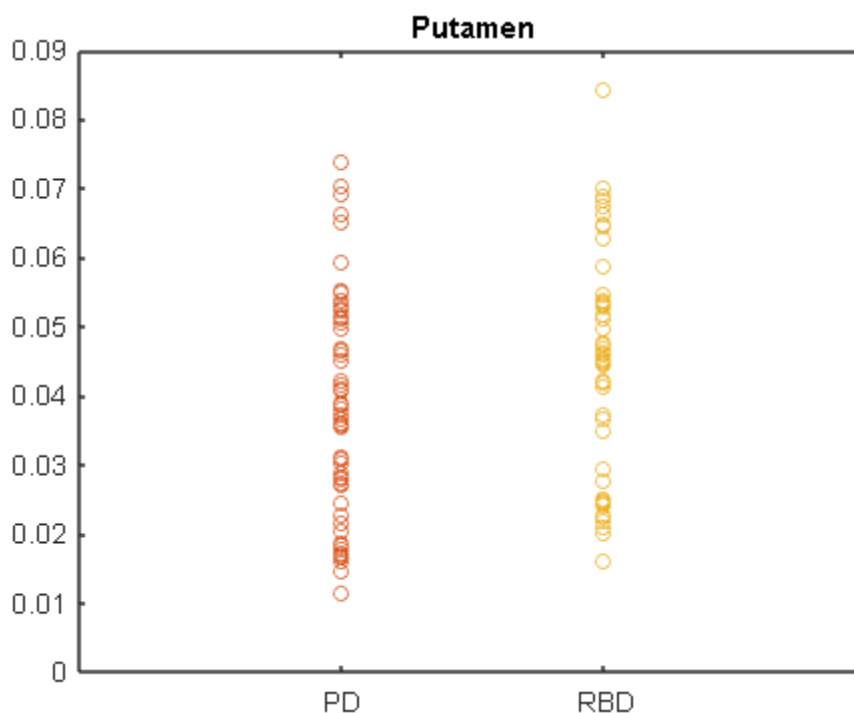
Tabulka 5.3: Výsledky Mann-Whitney U-testu a analýzy kovariance ANCOVA

Oblast zájmu	Mann–Whitney U-test (p-hodnota)			ANCOVA (p-hodnota)
	PD x RBD	PD x CON	RBD x CON	PD x RBD x NOC
TH	0,739	0,443	0,713	0,169
NC	0,071	0,108	0,781	0,271
GP	0,306	0,022*	0,268	0,102
NP	0,046*	0,321	0,615	0,476

V tabulce je uveden parametr p-hodnoty Mann-Whitney U-testu a analýzy ANCOVA. Symbol * značí statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) hodnot magnetické susceptibility mezi danými skupinami.



Obrázek 5.3: Graf hodnot magnetické susceptibility v GP u skupin PD a CON, mezi kterými vyšel signifikantní rozdíl.



Obrázek 5.4: Graf hodnot magnetické susceptibilitě v PN u skupin PD a RBD, mezi kterými vyšel signifikantní rozdíl.

5.2 Substantia nigra

V této části jsou reprezentovány výsledky kvantifikace železa v oblasti substantia nigra. V tabulce 5.4 jsou údaje o výzkumném vzorku pro oblast SN. Jedná se o vybranou skupinu lidí z výzkumného vzorku z tabulky 5.1, protože neuromelanin-senzitivní obrazy nebyly k dispozici pro všechny probandy z prvního výzkumného vzorku.

Tabulka 5.4: Přehledová tabulka probandů pro oblast zájmu SN

Skupiny	Celkový počet	Ženy/Muži	Věk
PD	19	3/16	58,6 ± 9,8
RBD	17	1/16	69,05 ± 6
CON	24	0/24	65,4 ± 7,5

Tabulka 5.4 udává informaci o výzkumném vzorku, který se skládá ze tří skupin – pacienti s Parkinsonovou chorobou označení jako „PD“, pacienti s poruchou chování v REM spánku označení jako „RBD“ a zdravé kontroly označené jako „CON“. Věk je zde uveden jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka.

Masky pro substantia nigra jsou tvořeny ze tří vrstev. V tabulce 5.5 jsou uvedeny naměřené hodnoty magnetické susceptibility, a to jak v jednotlivých vrstvách, tak celková mediánová hodnota ze všech tří vrstev.

Tabulka 5.5: Naměřené mediánové hodnoty v oblasti SN

Substantia nigra	Magnetická susceptibilita		
	PD	RBD	CON
1. vrstva	0,0118 ± 0,019	0,0051 ± 0,027	-0,00063 ± 0,015
2. vrstva	0,0343 ± 0,019	0,0326 ± 0,027	0,0253 ± 0,024
3. vrstva	0,0309 ± 0,021	0,0269 ± 0,024	0,0235 ± 0,021
Celková hodnota	0,0285 ± 0,015	0,0237 ± 0,022	0,0198 ± 0,018

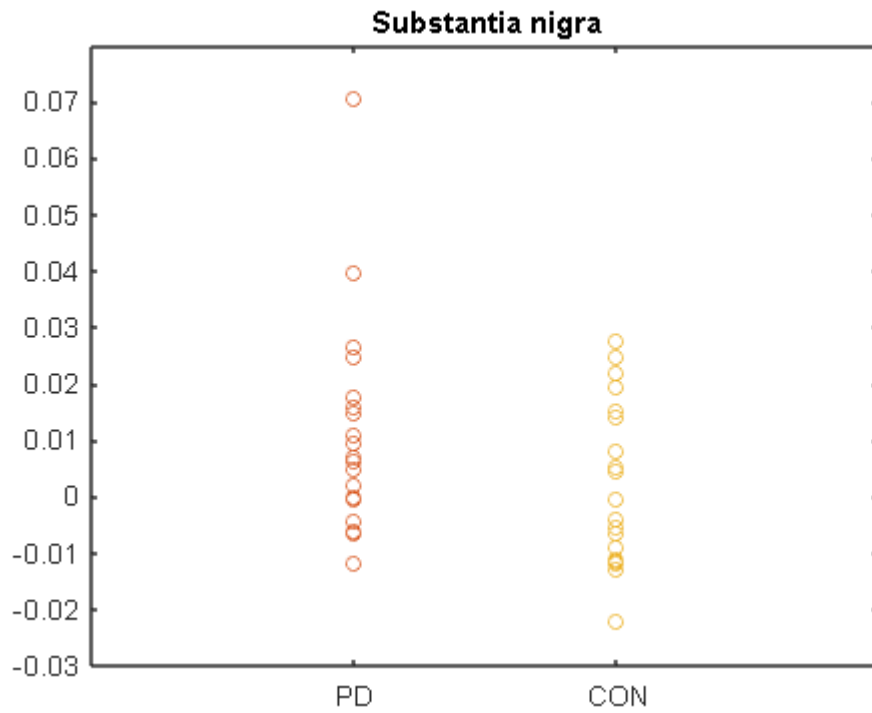
V tabulce se nachází průměrné naměřené mediánové hodnoty magnetické susceptibility železa v substantia nigra tří skupin ve třech různých vrstvách a průměr celkové hodnoty. Naměřená data jsou tu reprezentována pomocí aritmetického průměru ± směrodatná odchylka.

K porovnání naměřených mediánových hodnot jak v jednotlivých vrstvách, tak pro celkovou mediánovou hodnotu ze všech tří vrstev jsem použila opět Mann-Whitney U-test a analýzu kovariance ANCOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.6.

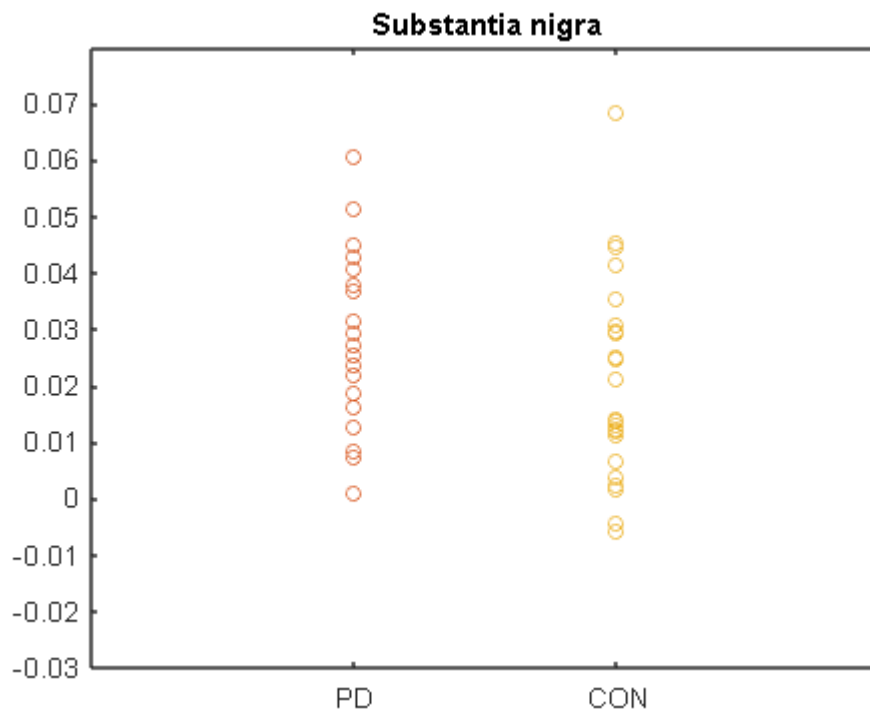
Tabulka 5.6: Výsledky hodnocení naměřených hodnot pomocí testu Mann-Whitney U-test a analýzy kovariance ANCOVA

Substantia nigra	Mann–Whitney U-test (p-hodnota)			ANCOVA (p-hodnota)
	PD x RBD	PD x CON	RBD x CON	PD x RBD x CON
1. vrstva	0,08	0,03*	0,84	0,21
2. vrstva	0,75	0,13	0,41	0,83
3. vrstva	0,28	0,21	0,99	0,84
Celková hodnota	0,45	0,09	0,53	0,67

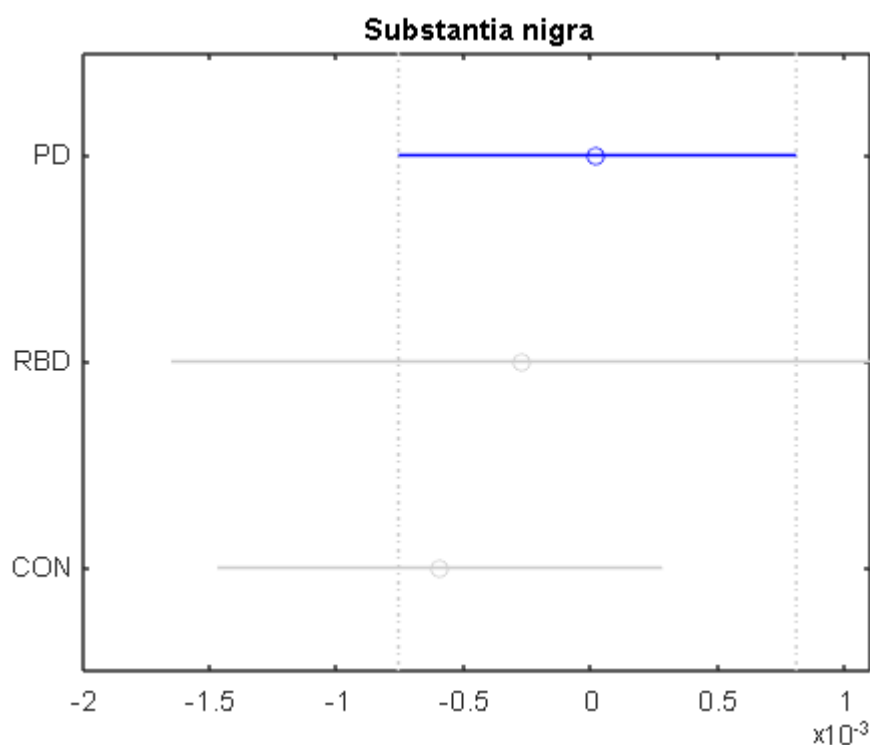
V tabulce je uveden parametr p-hodnoty Mann-Whitney U-testu a analýzy ANCOVA. Symbol * značí statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) hodnot magnetické susceptibility mezi danými skupinami.



Obrázek 5.5: Graf znázorňující naměřené hodnoty v 1. vrstvě SN u skupin PD a CON, mezi kterými vychází signifikantní rozdíl.



Obrázek 5.6: Graf znázorňující naměřené celkové mediánové hodnoty v SN u skupin PD a NOC, kde se p-hodnota blíží k hranici signifikantního rozdílu



Obrázek 5.7: Graf znázorňující naměřené celkové hodnoty u všech tří zkoumaných skupin

Také jsem pomocí Spearmanova korelačního testu jsem porovnala naměřené hodnoty v jednotlivých oblastech zájmu u jednotlivých pacientů s jejich věkem. Výsledky Spearmanovy korelace jsou v tabulce 5.6.

Tabulka 5.6: Výsledky Spearmanova korelačního testu

Oblast zájmu	Spearmanův korelační test		
	R(p-hodnota)		
	PD	RBD	CON
TH	0,2(0,06)	-0,06(0,7)	0,3(0,03)
CN	0,2(0,16)	0,2(0,17)	0,4(0,003)
GP	0,05(0,73)	0,3(0,02)	0,2(0,2)
NP	$0,1 \cdot 10^{-3}(0,47)$	0,3(0,06)	0,4(0,002)
SN	$0,9 \cdot 10^{-3}(0,99)$	-0,12(0,66)	-0,3(0,85)

V tabulce je uveden parametr R a p-hodnota Spearmanova korelačního testu. R hodnota nabývá hodnot od -1 do 1. Čím více se blíží hodnota R nule, tím méně korelují naměřené hodnoty s věkem. Naopak čím blíže je R hodnotně 1, jedná se o kladnou silnou korelaci veličin, a čím blíže je R hodnotě -1, jedná se o zápornou silnou korelaci veličin.

6 Diskuse

Výsledkem diplomové práce je stanovení postupu zpracování a úprav klinických obrazů T1 a QSM map z magnetické rezonance tak, aby bylo možné kvantifikovat množství železa v oblastech zájmu – thalamech, nucleus caudatus, globus pallidus, putamen. Jednotlivé kroky tohoto postupu jsou detailně popsány v kapitole 4 a stručný přehled tohoto postupu je zaznamenán na obrázku 5.1. Tento postup byl následně aplikován na T1 vážené obrazy a QSM mapy pacientů s Parkinsonovou chorobou, pacientů s poruchou chování v REM spánku a zdravých kontrolních pacientů. Klinická data těchto pacientů nám poskytla Neurologická klinika 1. LF a VFN. Výsledné hodnoty kvantifikace získané použitím uvedeného postupu v kapitole 3 na klinická data se nachází v kapitole 5, kde jsou i statisticky vyhodnoceny.

V rámci diplomové práce se většina kroků vedoucích ke kvantifikaci železa v QSM mapách provádí, dle požadavku zadání, v programu FSL. Některé kroky však nebylo možné ve FSL provést, proto bylo využito programu MATLAB a knihovny SPM12. Například úprava QSM map do správného anatomického tvaru byla provedena pomocí skriptu v MATLAB a pro lepší výsledek koregistrace QSM map na T1 vážené obrazy se využilo funkce z SPM12. Pro segmentaci basálních ganglií a thalamů jsem využila nástroj automatické segmentace FIRST v programu FSL, který umí provést subkortikální segmentaci. Problémem těchto segmentovaných masek však bylo, že byly větší než dané oblasti zájmu. Tento problém jsem vyřešila následnou erozí masek v programu MATLAB tak, aby správně ohraničovaly zvolené oblasti zájmu. Původní i erodované masky jsou zobrazeny na obrázku 4.4 a obrázku 4.5. Automatickou segmentaci oblasti substantia nigra není možné provést v programu FSL, a proto byly masky pro tuto oblast převzaty z diplomové práce [30].

Z box-plot grafu na obrázku 5.1, který znázorňuje naměřené mediánové hodnoty magnetické susceptibility železa v oblastech zájmu, je vidět trend naměřených hodnot v substantia nigra, kdy skupina pacientů s PD má nejvyšší hodnoty, skupina zdravých kontrolních pacientů má nejnižší hodnoty a skupina pacientů s RBD se nachází mezi nimi. V ostatních oblastech se buď hodnoty jednotlivých skupin od sebe mnoho neodlišují, nebo jsou naměřené hodnoty magnetické susceptibility železa u pacientů s PD nižší než u pacientů s RBD a CON.

Statistické zpracování a porovnání naměřených hodnot vždy mezi dvěma skupinami ukázalo, že signifikantní rozdíl vyšel mezi skupinami PD a CON ($p = 0,02$)

u oblasti GP a mezi skupinami PD a RBD ($p = 0,046$) u oblasti PN, ten však považujeme za hraniční. Graf na obrázku 5.3 znázorňuje naměřené hodnoty u skupin PD a CON v oblasti GP. Z grafu je patrné, že větší množství železa se nachází u skupiny CON než u pacientů trpících PD. Stejný trend je z průměrných hodnot uvedených v tabulce 5.2 vidět i u PN, NC a TH.

Můj výsledek u oblasti GP vychází opačně než u studie [31], ale pro oblast PN se výsledky shodují. Ve studiích [32] a [33] bylo v oblastech GP a PN u pacientů s PD také naměřeno nižší množství železa než u CON. Tento fakt je v souladu také se studií [34], která uvádí, že u pacientů s PD dochází ke zvýšené buněčné metabolické aktivitě v těchto jádrech a zvýšené aktivitě GABAergické dráhy z PN do GP. Narušení metabolismu GABA má pak za následek snížení železa v těchto oblastech [33]. Stejně výsledky vychází i u studie [35], ale opak u studie [36]. Obě tyto studie využívaly ke kvantifikaci železa QSM mapy.

Při statistickém porovnání hodnot v substantia nigra je z tabulky 5.6 patrné, že signifikantní rozdíl vychází pouze v první vrstvě mezi skupinou PD a CON ($p = 0,03$). K signifikantnímu rozdílu se blíží i porovnání hodnot magnetické susceptibility železa mezi skupinami PD a RBD ($p = 0,08$) v první vrstvě substantia nigra a také porovnání celkové hodnoty za všech tří vrstev mezi skupinami PD a CON ($p = 0,09$). U pacientů trpících PD byla v SN naměřena průměrná celková hodnota magnetické susceptibility 0,0285. U pacientů s RBD, kteří mají předpoklad rozvoje PD, byla naměřena průměrná celková hodnota 0,0237 a leží tedy někde mezi pacienty s PD a CON, u které byla naměřena průměrná celková hodnota 0,0198. Tento trend je vidět ve všech třech vrstvách, ve kterých bylo železo v substantia nigra měřeno, a je v souladu s výsledky studií [16] [31] [32] [33] [36] [37].

V rámci vyhodnocení naměřených dat jsem zohlednila i věk probandů, protože v průběhu stárnutí dochází k fyziologickému ukládání železa v mozku [6], a proto jsem při statistickém vyhodnocení použila i analýzu kovariance ANCOVA a Spearmanův korelační test. Pomocí analýzy ANCOVA jsem nezjistila žádný signifikantní rozdíl mezi skupinami a ani nedošlo ke změnám trendu v porovnání skupin při zohlednění věku. Tento výsledek jsem si potvrdila ještě pomocí Spearmanova korelačního testu, jehož výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.6. Byla provedena korelace věku a naměřených hodnot magnetické susceptibility železa v oblastech zájmu. Korelační koeficient R nevyšel u žádné oblasti zájmu větší než 0,4 a to ukazuje na slabou korelaci, u některých oblastí dokonce až na velmi slabou korelaci mezi věkem a magnetickou susceptibilitou železa.

Toto zjištění, tj. že nevychází korelace mezi množstvím železa a věkem, potvrzují i výše zmíněné studie.

Zřejmě největší limitací této práce je menší výzkumný vzorek, který ovlivňuje hlavně vyhodnocení dat. Rozdíly v hodnotách magnetické susceptibility železa se u menších vzorků nemusí projevit tak výrazně jako ve studiích, kde byl k dispozici větší výzkumný vzorek.

Z mých výsledků se jako vhodná oblast pro hodnocení rozvoje PD u pacientů s RBD jeví především substantia nigra, kde se potvrdil očekávaný trend v množství železa u jednotlivých skupin. Zde však vidíme, jak je diplomová práce limitována malým výzkumným vzorkem, protože se v celkové naměřené hodnotě ani v jednom porovnání mezi skupinami nepotvrdil takový signifikantní rozdíl, jaký byl očekáván. Usuzuji tak z p-hodnoty = 0,09, která se při porovnání skupin PD a CON pomocí Mann-Whitneyova testu signifikantnímu rozdílu blíží. Další oblastí, která by se na první pohled jevila pro diagnostiku PD jako vhodná, je oblast GP. Při hlubším vhledu do tohoto tématu však zjistíme, že jsou v různých studiích uváděny různé výsledky a názory na danou problematiku, a je jí tedy třeba i nadále podrobněji zkoumat. Na výše zmíněné nedostatky by bylo vhodné se v budoucnu zaměřit.

Naopak oblast TH má tak nízké naměřené hodnoty z QSM map, že se pro tuto techniku kvantifikace železa nejeví jako vhodná pro vyhodnocování množství železa u diagnostiky PD. V tomto případě by bylo ještě dobré zkusit vypočítat zvlášť hodnoty v pulvinaru, což je zadní část thalamu. V pulvinaru na rozdíl od zbytku thalamu narůstá se stárnutím množství železa. Jako celek však vykazuje nízké množství, a proto mohou být změny v množství hůře detekovány [38]. Na tuto segmentaci bohužel nezbyl v diplomové práci prostor.

Navzdory využití spolehlivého a ověřeného nástroje FIRST pro automatickou segmentaci subkortikálních struktur zde vidíme limitaci v nutnosti následné eroze masek. V tomto případě totiž dochází k tomu, že i když lékař shledá masky pro použití ke kvantifikaci železa jako vhodné, nemusí hranice masek stoprocentně korespondovat s oblastmi na QSM mapách, a po erozi je proto nutná jejich vizuální kontrola. Jen tak zjistíme, zda při tomto procesu nedošlo k nežádoucí velké degradaci masky.

Abnormální metabolismus železa vyvolává oxidační stresovou reakci. To vede přes agregaci α -synkuleinu k úmrtí právě dopaminergních neuronů v SN, což je již patologický znak PD [36]. Jelikož pacienti trpící RBD jsou ohroženi rozvojem PD, mohla by kvantifikace železa v oblasti SN vést k včasnému rozpoznání nastupující PD

u pacientů s touto nemocí. A právě v tom spatřujeme význam této diplomové práce. Je totiž nesporné, že díky neinvazivnímu a vcelku nenáročnému vyšetření pomocí MRI a následné kvantifikaci železa v oblasti SN u pacientů trpících RBD by bylo možné spolehlivě sledovat předpokládaný vývoj PD a případně včas PD diagnostikovat ještě před nástupem motorických příznaků.

7 Závěr

Diplomová práce se zabývala kvantifikací železa u pacientů s Parkinsonovou chorobou, pacientů s poruchou chování v REM spánku a zdravých kontrolních pacientů. Dílčím cílem diplomové práce bylo vytvoření postupu pro zpracování a úpravu QSM map a T1 vážených obrazů, jehož kroky vedly ke kvantifikaci železa v oblastech basálních ganglií a v thalamech. Prvním krokem bylo zpracování poskytnutých klinických dat tak, aby s nimi bylo možné pracovat v programu FSL a MATLAB. Bylo potřeba opravit QSM mapy do správného anatomického tvaru a následně je koregistrovat na T1 vážené obrazy. Druhým krokem bylo provedení automatické segmentace basálních ganglií a thalamů a jejich následná eroze tak, aby odpovídaly správné velikosti dané oblasti zájmu. Nakonec byla provedena kvantifikace železa.

Posledním cílem bylo porovnat naměřené hodnoty magnetické susceptibility železa u jednotlivých skupin. Výsledky kvantifikace odpovídají trendům prezentovaným ve sledovaných studiích, a to kromě oblasti globus pallidus, kde jsem našla jak studie potvrzující trend v námi naměřených hodnotách železa, tak studie, které tento trend vyvracejí.

Všechny stanovené cíle byly splněny. Kvantifikaci by bylo dobré provést na větším množství pacientů. I tak výsledky kvantifikace železa v jednotlivých oblastech považuji za uspokojivé. Výsledný trend hodnot jsem očekávala a substantia nigra se jeví jako oblast, která by mohla být spolehlivým ukazatelem při rozvoji PD u pacientů trpících RBD.

Seznam použité literatury

- [1] KALIA, Lorraine V a Anthony E LANG, 2015. Parkinson's disease. *The Lancet*. **386**(9996), 896-912. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61393-3. ISSN 01406736. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614613933>
- [2] WEINREB, Orly, Silvia MANDEL, Moussa B.H. YODIM a Tamar AMIT, 2013. Targeting dysregulation of brain iron homeostasis in Parkinson's disease by iron chelators. *Free Radical Biology and Medicine*. **62**(9996), 52-64. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.017. ISSN 08915849. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584913000270>
- [3] BOEVE, B. F., M. H. SILBER, C. B. SAPER, et al., 2007. Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease. *Brain*. **130**(11), 2770-2788. DOI: 10.1093/brain/awm056. ISSN 0006-8950. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/awm056>
- [4] ST LOUIS, Erik K., Bradley F. BOEVE, C. B. SAPER, et al., 2017. REM Sleep Behavior Disorder: Diagnosis, Clinical Implications, and Future Directions. *Mayo Clinic Proceedings*. **92**(11), 1723-1736. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.09.007. ISSN 00256196. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619617306882>
- [5] KIM, Yoon, Young Eun KIM, Eun Ok PARK, et al., 2018. REM sleep behavior disorder portends poor prognosis in Parkinson's disease: A systematic review. *Journal of Clinical Neuroscience*. **47**(11), 6-13. DOI: 10.1016/j.jocn.2017.09.019. ISSN 09675868. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0967586817316946>
- [6] ZUCCA, Fabio A., Juan SEGURA-AGUILAR, Emanuele FERRARI, et al., 2017. Interactions of iron, dopamine and neuromelanin pathways in brain aging and Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology*. **155**(11), 96-119. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2015.09.012. ISSN 03010082. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030100821500101X>

- [7] STÜBER, Carsten, David PITT, Yi WANG, et al., 2016. Iron in Multiple Sclerosis and Its Noninvasive Imaging with Quantitative Susceptibility Mapping. *International Journal of Molecular Sciences*. **17**(1), 96-119. DOI: 10.3390/ijms17010100. ISSN 1422-0067. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/1/100>
- [8] DUYN, Jeff H., John SCHENCK, Yi WANG, et al., 2017. Contributions to magnetic susceptibility of brain tissue. *NMR in Biomedicine*. **30**(4), 96-119. DOI: 10.1002/nbm.3546. ISSN 09523480. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/nbm.3546>
- [9] JIANG, Hong, Jun WANG, Jack ROGERS a Junxia XIE, 2017. Brain Iron Metabolism Dysfunction in Parkinson's Disease. *Molecular Neurobiology*. **54**(4), 3078-3101. DOI: 10.1007/s12035-016-9879-1. ISSN 0893-7648. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-016-9879-1>
- [10] Magnetic Resonance Imaging (MRI), *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering* [online]. [cit. 2020-03-28]. Dostupné z: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/magnetic-resonance-imaging-mri>
- [11] PYATIGORSKAYA, Nadya, Cécile GALLEA, Daniel GARCIA-LORENZO, Marie VIDAILHET a Stéphane LEHERICY, 2014. A review of the use of magnetic resonance imaging in Parkinson's disease. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. **7**(4), 206-220. DOI: 10.1177/1756285613511507. ISSN 1756-2856. Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1756285613511507>
- [12] DU, Guangwei, Tian LIU, Mechelle M. LEWIS, Lan KONG, Yi WANG, James CONNOR, Richard B. MAILMAN a Xuemei HUANG, 2016. Quantitative susceptibility mapping of the midbrain in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. **31**(3), 317-324. DOI: 10.1002/mds.26417. ISSN 08853185. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mds.26417>
- [13] WANG, Yi a Tian LIU, 2015. Quantitative susceptibility mapping (QSM): Decoding MRI data for a tissue magnetic biomarker. *Magnetic Resonance in Medicine*. **73**(1), 82-101. DOI: 10.1002/mrm.25358. ISSN 07403194. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mrm.25358>

- [14] Quantitative Susceptibility Mapping: Contrast Mechanisms and Clinical Applications, 2015. *Tomography*. **1**(1), 3-17. DOI: 10.18383/j.tom.2015.00136. ISSN 2379-1381.
- [15] DEISTUNG, Andreas, Ferdinand SCHWESER a Jürgen R. REICHENBACH, 2017. Overview of quantitative susceptibility mapping. *NMR in Biomedicine*. **30**(4). DOI: 10.1002/nbm.3569. ISSN 09523480. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/nbm.3569>
- [16] BARBOSA, Jeam Haroldo Oliveira, Antonio Carlos SANTOS, Vitor TUMAS, Manju LIU, Weili ZHENG, E. Mark HAACKE a Carlos Ernesto Garrido SALMON, 2015. Quantifying brain iron deposition in patients with Parkinson's disease using quantitative susceptibility mapping, R2 and R2*. *Magnetic Resonance Imaging*. **33**(5), 559-565. DOI: 10.1016/j.mri.2015.02.021. ISSN 0730725X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0730725X15000600>
- [17] JENKINSON, Mark, Christian F. BECKMANN, Timothy E.J. BEHRENS, Mark W. WOOLRICH a Stephen M. SMITH, 2012. FSL. *NeuroImage*. **62**(2), 782-790. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.09.015. ISSN 10538119. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811911010603>
- [18] *SPM* [online], 2020. London, UK: The Wellcome Centre for Human Neuroimaging, UCL Queen Square Institute of Neurology [cit. 2020-04-08]. Dostupné z: <https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>
- [19] *SPM* [online], 2019. [cit. 2020-03-28]. Dostupné z: <https://en.wikibooks.org/wiki/SPM>
- [20] PAGNOZZI, Alex M., Jürgen FRIPP a Stephen E. ROSE, 2019. Quantifying deep grey matter atrophy using automated segmentation approaches: A systematic review of structural MRI studies. *NeuroImage* [online]. **201** [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2019.116018. ISSN 10538119. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811919305993>
- [21] LI, Xu, Lin CHEN, Kwame KUTTEN, et al., 2019. Multi-atlas tool for automated segmentation of brain gray matter nuclei and quantification of their magnetic susceptibility. *NeuroImage* [online]. **191**, 337-349 [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2019.02.016. ISSN 10538119. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811919301028>

- [22] DJAMANAKOVA, Aigerim, Andreia V. FARIA, John HSU, Can CERITOGU, Kenichi OISHI, Michael I. MILLER, Argye E. HILLIS a Susumu MORI, 2013. Diffeomorphic brain mapping based on T1-weighted images: Improvement of registration accuracy by multichannel mapping. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* [online]. **37**(1), 76-84 [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1002/jmri.23790. ISSN 10531807. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jmri.23790>
- [23] PATENAUDE, Brian, Stephen M. SMITH, David N. KENNEDY a Mark JENKINSON, 2011. A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation. *NeuroImage* [online]. **56**(3), 907-922 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.02.046. ISSN 10538119. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811911002023>
- [24] PARKER, Dennis L., Allison PAYNE, Nick TODD a J. Rock HADLEY, 2014. Phase reconstruction from multiple coil data using a virtual reference coil. *Magnetic Resonance in Medicine* [online]. **72**(2), 563-569 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1002/mrm.24932. ISSN 07403194. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mrm.24932>
- [25] ACOSTA-CABRONERO, Julio, Carlos MILOVIC, Hendrik MATTERN, Cristian TEJOS, Oliver SPECK a Martina F. CALLAGHAN, 2018. A robust multi-scale approach to quantitative susceptibility mapping. *NeuroImage* [online]. **183**, 7-24 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2018.07.065. ISSN 10538119. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811918306815>
- [26] DICOM Library: About DICOM [online], 2020. DICOM Library [cit. 2020-04-07]. Dostupné z: <https://www.dicomlibrary.com/dicom/>
- [27] COLLIGNON, A. a F. MAES, 1995. AUTOMATED MULTI-MODALITY IMAGE REGISTRATION BASED ON INFORMATION THEORY. *Information processing in medical imaging*. **3**(6), 12.
- [28] JENKINSON, Mark, FIRST. FSL [online]. Oxford,UK,FMRIB: Group Analysis, 2014 [cit. 2020-04-07]. Dostupné z: <https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FIRST>
- [29] *Morfologické operace* [online], 2010. Karel Horak, Computer Vision Group [cit. 2020-04-20]. Dostupné z: http://midas.uamt.feec.vutbr.cz/ZVS/Exercise10/content_cz.php

- [30] LANG, Martin, 2019. *Kvantifikace neuromelaninu v substantia nigra v neuromelanin-senzitivní MRI snímcích*. Kladno. Diplomová práce. ČVUT, Fakulta biomedicínského inženýrství.
- [31] SHAHMAEI, Vahid, Fariborz FAEGHI, Ahmad MOHAMMADBEIGI, Hasan HASHEMI a Farzad ASHRAFI, 2019. Evaluation of iron deposition in brain basal ganglia of patients with Parkinson's disease using quantitative susceptibility mapping. *European Journal of Radiology Open* [online]. **6**, 169-174 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1016/j.ejro.2019.04.005. ISSN 23520477. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352047719300206>
- [32] AZUMA, M., T. HIRAI, K. YAMADA, et al., 2016. Lateral Asymmetry and Spatial Difference of Iron Deposition in the Substantia Nigra of Patients with Parkinson Disease Measured with Quantitative Susceptibility Mapping. *American Journal of Neuroradiology* [online]. **37**(5), 782-788 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.3174/ajnr.A4645. ISSN 0195-6108. Dostupné z: <http://www.ajnr.org/cgi/doi/10.3174/ajnr.A4645>
- [33] KOSTA, P., M. I. ARGYROPOULOU, S. MARKOULA a S. KONITSIOTIS, 2006. MRI evaluation of the basal ganglia size and iron content in patients with Parkinson's disease. *Journal of Neurology* [online]. **253**(1), 26-32 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1007/s00415-005-0914-9. ISSN 0340-5354. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00415-005-0914-9>
- [34] LEVY, R., L.-N. HAZRATI, M.-T. HERRERO, et al., 1997. Re-evaluation of the functional anatomy of the basal ganglia in normal and Parkinsonian states. *Neuroscience* [online]. **76**(2), 335-343 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1016/S0306-4522(96)00409-5. ISSN 03064522. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452296004095>
- [35] MURAKAMI, Y., S. KAKEDA, K. WATANABE, et al., 2015. Usefulness of Quantitative Susceptibility Mapping for the Diagnosis of Parkinson Disease. *American Journal of Neuroradiology* [online]. **36**(6), 1102-1108 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.3174/ajnr.A4260. ISSN 0195-6108. Dostupné z: <http://www.ajnr.org/lookup/doi/10.3174/ajnr.A4260>

- [36] SUN, Junyan, Zhaoyu LAI, Jinghong MA, et al., 2020. Quantitative Evaluation of Iron Content in Idiopathic Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder. *Movement Disorders* [online]. **35**(3), 478-485 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1002/mds.27929. ISSN 0885-3185. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.27929>
- [37] AN, Hedi, Xiaoyan ZENG, Tengfei NIU, et al., 2018. Quantifying iron deposition within the substantia nigra of Parkinson's disease by quantitative susceptibility mapping. *Journal of the Neurological Sciences* [online]. **386**, 46-52 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1016/j.jns.2018.01.008. ISSN 0022510X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022510X1830008X>
- [38] Hagemeyer, J., Dwyer, M.G., Bergsland, N., Schweser, F., Magnano, C.R., Heininen-Brown, M., Zivadinov, R. (2013). Effect of age on MRI phase behaviour in the subcortical deep gray matter of healthy individuals. *American journal of neuroradiology*, *34*, 2144-51.

Seznam obrázků

brázek 2.1: Graf znázorňující nástup symptomů PD v čase od začátku onemocnění. Rok 0 na časové ose znázorňuje, kdy byla PD diagnostikována. [1]	13
Obrázek 2.2: Schéma vzniku oxidativního stresu v nigrální dopaminergní buňce indukovaného železem. Zvýšené intracelulární železo může katalyzovat přeměnu H_2O_2 pomocí Fentonovy reakce na vysoce reaktivní radikál OH, což vede ke zvýšenému oxidačnímu poškození. [9].....	14
Obrázek 2.3: Postup vzniku QSM [14].....	17
Obrázek 2.4: Vývojový diagram multi-atlasové metody: a) sdružení atlasů pro minimalizaci registrací na atlasy na nezbytný počet, b) výběr atlasu buď binárního, nebo průběžně váženého na základě podobnosti s cílem, c) fúze transformovaných atlasových značek z více atlasů [21].	20
Obrázek 2.5: Vlevo T1 vážený obraz a vpravo zobrazená manuální segmentace DGM oblastí z tréninkové sady [23].....	21
Obrázek 4.1: Ukázka QSM mapy před a po opravě v MATLAB. Rekonstruovaná QSM mapa z GRE ve špatném anatomickém tvaru nahoře (modře zobrazená) a opravená QSM mapa do správného anatomického tvaru mozku dole. Vlevo zobrazená sagitální rovina, vpravo zobrazená koronární rovina.	25
Obrázek 4.2: Ukázka programu SPM12 s výběrem koregistrace [18]	26
Obrázek 4.3: Výstup z koregistrace. Shora dolů se na obrázku nachází: matice afinní transformace voxelu po voxelu, histogramy obrazů (původní a výsledný), vlevo referenční obraz T1 a vpravo nově registrované echo T2*. [18].....	27
Obrázek 4.4: Segmentované oblasti basálních ganglií a thalamů pomocí nástroje FIRST zobrazené na T1 váženém obrazu, který byl použit jako referenční obraz pro segmentaci. Thalamy jsou zeleně označené, globus pallidus modře označený, putameny do žluta označené a caudata jsou označena červeně. Vlevo zobrazená koronární rovina, vpravo zobrazená transverzální rovina.	29
Obrázek 4.5: Erodované segmentované oblasti pomocí skriptu v MATLAB. Barevné značení basálních ganglií a thalamů stejné jako na obrázku 3.1. Vlevo zobrazená koronární rovina, vpravo zobrazená transverzální rovina.	30
Obrázek 4.6: Masky substantia nigra zobrazené v transverzální rovině v 1.vrstvě.....	31
Obrázek 5.1: Schéma znázorňující jednotlivé kroky práce potřebné pro kvantifikaci železa v basálních gangliích a thalamech	33

Obrázek 5.2: Box-plot graf porovnávající naměřené mediánové hodnoty železa jednotlivých skupin v oblastech zájmu. Křížek znázorňuje průměrnou hodnotu, vodorovná čára medián.	34
Obrázek 5.3: Graf hodnot magnetické susceptibility v GP u skupin PD a CON, mezi kterými vyšel signifikantní rozdíl.	36
Obrázek 5.4: Graf hodnot magnetické susceptibility v PN u skupin PD a RBD, mezi kterými vyšel signifikantní rozdíl.	37
Obrázek 5.5: Graf znázorňující naměřené hodnoty v 1. vrstvě SN u skupin PD a CON, mezi kterými vychází signifikantní rozdíl.	39
Obrázek 5.6: Graf znázorňující naměřené celkové mediánové hodnoty v SN u skupin PD a NOC, kde se p-hodnota blíží k hranici signifikantního rozdílu	39
Obrázek 5.7: Graf znázorňující naměřené celkové hodnoty u všech tří zkoumaných skupin.....	40

Seznam tabulek

Tabulka 5.1: Přehledová tabulka probandů pro oblasti zájmu TH, NC, GP, PN	35
Tabulka 5.2: Naměřené mediánové hodnoty železa v TH, NC, GP, NP	35
Tabulka 5.3: Výsledky Mann-Whitney U-testu a analýzy kovariance ANCOVA.....	36
Tabulka 5.4: Přehledová tabulka probandů pro oblast zájmu SN.....	37
Tabulka 5.5: Naměřené mediánové hodnoty v oblasti SN	38
Tabulka 5.6: Výsledky Spearmanova korelačního testu.....	40

Příloha A: Obsah přiloženého DVD

DVD přiložené k této diplomové práci obsahuje následující soubory:

- Abstrakt v českém jazyce
- Abstrakt v anglickém jazyce
- Klíčová slova v českém jazyce
- Klíčová slova v anglickém jazyce
- Zadání diplomové práce
- Kompletní diplomovou práci
- Skripty
 - opravaqsm.m
 - koregistrace.m
 - eroze.m
 - reslicing.m
- Výsledné hodnoty množství železa všech pacientů
- Vzorek anonymizovaných dat pacientů ve formátu Nifti (.nii)

Vzorek anonymizovaných dat pacientů se nachází ve složce probandi. Tato složka obsahuje data vždy jednoho pacienta ze skupiny PD, RBD a CON. Data jsou také dostupná online na adrese: <https://filesender.cesnet.cz/?s=download&token=ee0f8d30-b187-0e3e-0d2b-332ce5970518> do 19.6. k potřebě posudku. Později pak na vyžádání u autora práce nebo vedoucího diplomové práce. Kompletní data nejsou zveřejněna a patří Neurologické klinice 1. LF UK a VFN.

Ve všech skriptech je potřeba zkontrolovat, zda obsahují adresářovou cestu. Pokud ano, je nutné adresářovou cestu upravit dle aktuálního uložení dat.