



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

**Funkční rozdíly mozku u pacientů v presymptomatické a manifestní fázi
Parkinsonovy choroby**

**Functional differences of the brain in patients in the presymptomatic
and manifestic phases of Parkinson's disease**

Diplomová práce

Studijní program:

Biomedicínská a klinická technika

Studijní obor:

Přístroje a metody pro biomedicínu

Autor diplomové práce:

Bc. Jana Kukačková

Vedoucí diplomové práce:

Mgr. Radim Krupička, Ph.D.

Konzultanti:

MUDr. Petra Štofániková, Prof. MUDr. Robert Jech, Ph.D.



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Kukačková** Jméno: **Jana** Osobní číslo: **492596**
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:

Funkční rozdíly mozku u pacientů v presymptomatické a manifestní fázi Parkinsonovy choroby

Název diplomové práce anglicky:

Functional differences of the brain in patients in the presymptomatic and manifest stages of Parkinson's disease

Pokyny pro vypracování:

Cílem diplomové práce je analyzovat rozdíly ve funkční magnetické rezonanci mozku v klidovém stavu u pacientů trpících poruchou REM spánku a Parkinsonovou chorobou. V rámci diplomové práce se seznámte s nástroji a metodikou pro analýzu funkční magnetické rezonance. Na základě rešerše vyberte parametry definující aktivitu mozku a zpracujte jednotlivé snímky. Následně porovnejte rozdíly v aktivitě mozku u jednotlivých skupin pacientů a u zdravých kontrol.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Nadya Pyatigorskaya, Cécile Gallea, Daniel Garcia-Lorenzo, Marie Vidailhet and Stéphane Lehericy, A review of the use of magnetic resonance imaging in Parkinson's disease, Therapeutic Advances in Neurological Disorders, ročník 7, číslo 4, 2013
[2] Yan, C., Wang, X., Zuo, X. et al., DPABI: Data Processing & Analysis for (Resting-State) Brain Imaging, Neuroinform, ročník 14, číslo 1, 2016

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: **15.10.2020**

Platnost zadání diplomové práce: **31.10.2022**

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

prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student(ka) bere na vědomí, že je povinnen(a) vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

18.12.2020

Datum převzetí zadání

Podpis studenta(ky)

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem Funkční rozdíly mozku u pacientů v presymptomatické a manifestní fázi Parkinsonovy choroby 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 dne 24. 05. 2021



.....
Bc. Jana Kukačková

PODĚKOVÁNÍ

Velice ráda bych poděkovala svému vedoucímu Mgr. Radimu Krupičkovi, Ph. D., za trpělivost, cenné rady a pomoc při tvorbě této diplomové práce.

Dále bych ráda poděkovala pracovníkům z Neurologické kliniky 1. lékařské fakulty a VFN v Praze, konkrétně MUDr. Petře Štofánkové a prof. MUDr. Robertu Jechovi, Ph.D, za poskytnutá data, potřebné konzultace a pomoc při zpracování.

ABSTRAKT

Funkční rozdíly mozku u pacientů v presymptomatické a manifestní fázi Parkinsonovy choroby

Parkinsonova choroba (PD) je jedno z nejčastěji se vyskytujících neurodegenerativních onemocnění. Postihuje především muže po 50. roce života. Bylo zjištěno, že presymptomatickým stádiem této nemoci je porucha chování v REM spánku (RBD). Jelikož mají tato onemocnění spojitost a Parkinsonova choroba je v současnosti zatím neléčitelná, je vyvíjena snaha o včasnou detekci PD a umožnění efektivnější léčby.

K vyšetření lze použít vícero modalit, ale s výhodou se využívá magnetická rezonance. Magnetická rezonance může poskytnout nejen informace anatomické, ale i funkční. Vzhledem k tomu, že jsou předpokládány při Parkinsonově chorobě změny ve funkční konektivité mozku, lze zpracováním funkčních a anatomických snímků získat parametry jako regionální homogenita (ReHo) a další. Tyto parametry jsou potenciálními biomarkery.

Cílem této diplomové práce bylo provést zpracování získaných dat a statistickou analýzu jednoho parametru. Zkoumaným parametrem byla regionální homogenita, jejíž aktivační mapy byly podrobeny testování ANCOVA a dvouvýběrovému t-testu. ANCOVA prokázala rozdíly mezi třemi zkoumanými skupinami pacientů. Byly použity snímky od 50 zdravých kontrol, 57 pacientů s RBD a 60 pacientů s PD bez léčby. Na výsledné aktivační mapy po dvouvýběrovém t-testu byly aplikovány tři typy korekcí pro možnost srovnání vlivu vybrané korekce – klastrová analýza při $p = 0,001$ a velikosti klastru = 95 voxelů, FDR korekce při $q = 0,05$ a Bonferroniho korekce při $p = 0,05$ (resp. $p = 1,84 \cdot 10^{-7}$). Takto korigované aktivační mapy byly poskytnuty lékařům k další analýze, ale oblasti zjištěných rozdílů se podobaly výsledkům jiných studií. Součástí práce bylo vytvořit podrobný popis zpracování, výpočtu parametrů a statistické analýzy v rámci doplňkové knihovny DPABI k programu MATLAB.

KLÍČOVÁ SLOVA

DPABI, Parkinsonova choroba, porucha RBD, regionální homogenita, resting state fMRI

ABSTRACT

Functional differences of the brain in patients in the presymptomatic and manifestic phases of Parkinson's disease

Parkinson's disease (PD) is one of the most common neurodegenerative diseases. It mainly affects men after the age of 50. It has been found that the presymptomatic stage of this disease is REM sleep behavior disorder (RBD). Because these diseases are related and Parkinson's disease is currently incurable, efforts are being made to detect PD early and enable more effective treatment.

Multiple modalities can be used for the examination, but magnetic resonance imaging is preferably used. Magnetic resonance imaging can provide not only anatomical, but also functional information. Because changes in functional brain connectivity are expected in Parkinson's disease, can by processing functional and anatomical images obtained parameters such as regional homogeneity (ReHo) and other. These parameters are potential biomarkers.

The aim of this master's thesis was to process the obtained data and statistical analysis of one parameter. The investigated parameter was regional homogeneity, the activation maps were subjected to ANCOVA testing and a two-sample t-test. ANCOVA revealed differences between the three experimental groups of patients. Images from 50 healthy controls, 57 patients with RBD and 60 patients with PD without treatment were used. Three types of corrections were applied to the resulting activation maps after a two-sample t-test to compare the effect of the selected correction - cluster analysis at $p = 0.001$ and cluster size = 95 voxels, FDR correction at $q = 0.05$ and Bonferroni correction at $p = 0, 05$ (resp. $p = 1.84 * 10^{-7}$). Activation maps corrected in this way were provided to the doctors for further analysis, but the areas of found differences were similar to the results of other studies. Part of the work was to create a detailed description of processing, calculation of parameters and statistical analysis within the supplementary library DPABI to the program MATLAB.

KEY WORDS

DPABI, Parkinson's disease, RBD disorder, regional homogeneity, resting state fMRI

Obsah

Seznam symbolů a zkratek	8
1 Úvod	10
2 Přehled současného stavu	12
2.1 Parkinsonova choroba	12
2.2 Porucha chování v REM spánku ve vztahu k PD	14
2.3 Zobrazovací metody	15
2.3.1 Funkční magnetická rezonance	17
2.4 Metody analýzy fMRI	21
2.4.1 Semínková korelační analýza (SCA)	23
2.4.2 Analýza nezávislých komponent (ICA)	23
2.4.3 Shlukování	24
2.4.4 Analýza mnohorozměrných vzorců (MVPA)	24
2.4.5 Teorie grafů	25
2.4.6 Lokální metody	25
2.5 Software pro fMRI	28
2.5.1 DPABI	28
3 Cíle práce	40
4 Metody	41
4. 1 Informace o subjektech	41
4.2 Protokol fMRI	42
4. 3 Konkrétní nastavení v rámci DPABI	42
5 Výsledky	47
6 Diskuse	58
7 Závěr	59
Seznam použité literatury	60
Seznam použitých obrázků	64
Seznam použitých tabulek	65
Přílohy	66

Seznam symbolů a zkratek

ALFF	Amplituda nízkofrekvenčních fluktuací (<i>Amplitude of low frequency fluctuations</i>)
ANCOVA	Analýza kovariance (<i>Analysis of covariance</i>)
BG	Bazální ganglia
BOLD	Blood Oxygenation Level Dependent
CT	Výpočetní tomografie (<i>Computed Tomography</i>)
DC	Stupeň centrality (<i>Degree Centrality</i>)
DICOM	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i>
DPABI	<i>Data Processing & Analysis for Brain Imaging</i>
DPARF	<i>Data Processing Assistant for Resting-State fMRI</i>
EPI	Echoplanární zobrazování (<i>Echo Planar Imaging</i>)
FA	Úhel natočení/ sklápění (<i>Flip Angle</i>)
FC	Funkční konektivita (<i>Functional Connectivity</i>)
FDR	<i>False discovery rate</i>
fMRI	Funkční magnetická rezonance (<i>Functional Magnetic Resonance Imaging</i>)
FOV	Zorné pole (<i>Field of view</i>)
FSL	FMRIB softwarová knihovna (<i>FMRIB Software Library</i>)
FWE	<i>Family-wise error</i>
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>
GE	<i>Gradient-Echo</i>
HRF	Hemodynamická odezva (<i>Hemodynamic Response function</i>)
ICA	Analýza nezávislých komponent (<i>Independent Component Analysis</i>)
IR	<i>Inversion-Recovery</i>
iRBD	Idiopatická forma poruchy chování v REM spánku (<i>Idiopathic REM sleep behavior disorder</i>)
KCC	Kendallův koeficient shody
L-DOPA	Antiparkinsonikum levodopa
LFF	Nízkofrekvenční fluktuace
MATLAB	<i>Matrix Laboratory</i>
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MRI	Magnetická rezonance (<i>Magnetic Resonance Imaging</i>)
Ncl.	<i>Nucleus</i>

NIFTI	<i>Neuroimaging Informatics Technology Initiative</i>
PD	<i>Parkinsonova choroba (Parkinson's disease)</i>
PET	<i>Pozitronová emisní tomografie (Positron Emission Tomography)</i>
SE	<i>Spin-Echo</i>
SCA	<i>Semínková korelační analýza (Seed-based Correlation Analysis)</i>
SN	<i>Substantia nigra</i>
SNc	<i>Substantia nigra pars compacta</i>
SNr	<i>Substantia nigra pars reticularis</i>
SPECT	<i>Jednofotonová emisní výpočetní tomografie (Single Photon Emission Computed Tomography)</i>
SPM 12	<i>Statistical Parametric Mapping 12</i>
SR	<i>Saturation-Recovery</i>
RBD	<i>Porucha chování v REM spánku (REM sleep behavior disorder)</i>
ReHo	<i>Regionální homogenita (Regional Homogeneity)</i>
REM	<i>Fáze spánku s rychlými pohyby očí (Rapid eye movement)</i>
RF	<i>Radiofrekvenční</i>
ROI	<i>Oblast zájmu (Region of Interest)</i>
rs-fMRI	<i>Klidová funkční magnetická rezonance (Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging)</i>
TE	<i>Čas odezvy (Echo time)</i>
TI	<i>Inverzní čas (Inversion time)</i>
TR	<i>Repetiční čas (Repetition time)</i>
T1W	<i>T1 vážené obrazy (T1 weighted)</i>
T2*	<i>Transverzální relaxace zohledňující lokální nehomogenitu mag. pole</i>
T2W	<i>T2 vážené obrazy (T2 weighted)</i>
T2*W	<i>T2* vážené obrazy (T2* weighted)</i>

1 Úvod

Parkinsonova choroba je jedním z nejčastěji se vyskytujících neurodegenerativních onemocnění v naší populaci. Tato choroba se projevuje většinou po 50. roce a o něco častěji u mužů. Vzhledem k tomu, že tato nemoc je v současné době zatím nevyléčitelná a lze pouze mírnit projevy, je vyvíjena snaha o včasnou diagnostiku této nemoci.

Na základě několika výzkumů byla potvrzena spojitost mezi Parkinsonovou chorobou a poruchou chování v REM spánku. Porucha chování v REM spánku dle studie z roku 2014 předchází Parkinsonově chorobě a lze ji považovat za presymptomatické stádium, jelikož 40-65 % pacientů s poruchou spánku do 10 let onemocní Parkinsonovou chorobou (či jinou alfa-synukleinopatií). Vzhledem k těmto poznatkům je vynaloženo značné úsilí o stanovení přesných biomarkerů pro detekci počínající Parkinsonovy choroby.

S rozvojem moderních technologií se jako slibná technika jeví magnetická rezonance, která může poskytnout kromě anatomických obrazů i funkční obrazy mozku. Tato metoda představuje veliký potenciál, jelikož je neinvazivní a bez radiační zátěže na pacienta.

Tato diplomová práce si klade za cíl analyzovat rozdíly ve funkční magnetické rezonanci v klidovém stavu mezi pacienty s Parkinsonovou chorobou, poruchou chování v REM spánku a zdravými kontrolami. Zpracování získaných dat má být provedeno v rámci programu DPABI a detailně popsáno tak, aby práce mohla posloužit jako návod pro zpracování v tomto programu. Výsledné aktivační mapy mají být poskytnuty lékařům k dalšímu zkoumání.

V první části této práce jsou stručně popsány Parkinsonova choroba a porucha chování v REM spánku, vyšetřovací metody se zaměřením na funkční magnetickou rezonanci, měřitelné parametry a softwary pro zpracování získaných obrazů. Tato práce se podrobněji zaměřuje na program DPABI, který je uživatelsky velice přívětivý a mohl by lékařům usnadnit zpracování. Předzpracování, výpočet parametrů a statistické vyhodnocení v programu DPABI je teoreticky popsáno ještě v této části.

V rámci další části je specifikován cíl práce a podrobně popsáno konkrétní nastavení zpracování v DPABI. Následují výsledné aktivační mapy získané v rámci programu za použití tří typů korekcí pro mnohonásobné testování. Tyto výsledky jsou podrobeny stručné diskusi a celá práce je zakončena závěrem.

2 Přehled současného stavu

V rámci této kapitoly jsou stručně popsána onemocnění testovaných skupin pacientů, jimiž se v této práci zabýváme – Parkinsonova choroba a porucha chování v REM spánku. Dále jsou zde popsány možné vyšetřovací metody s podrobnějším zaměřením na funkční magnetickou rezonanci, metody analýzy a softwary umožňující zpracování dat získaných z funkční magnetické rezonance.

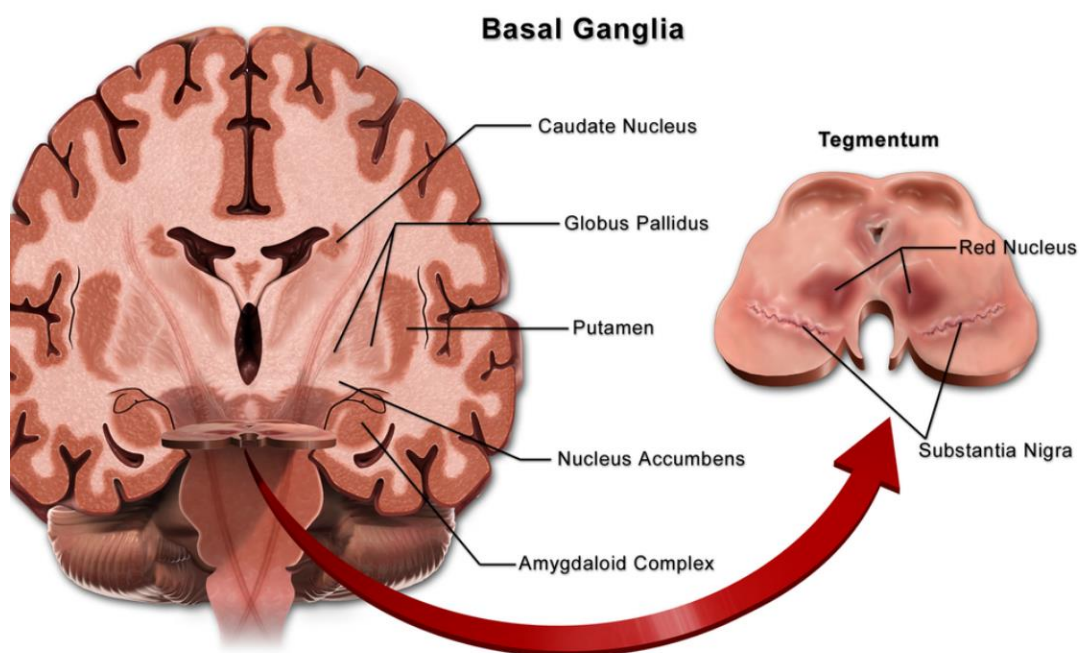
2.1 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba, dále PD z Parkinson's disease, patří mezi progresivní neurodegenerativní onemocnění extrapyramidového systému, k němuž dochází při postupném zániku dopamin produkujících buněk v oblasti substantia nigra a abnormální akumulaci a agregaci alfa-synukleinu. Onemocnění se začne projevovat až při ztrátě 80 % dopaminergních neuronů. Nemoc se většinou vyskytne až po 50. roce, ale první příznaky se mohou objevit i dříve. Prevalence PD je ve věku 60 let jedna nemocná osoba na 100 obyvatel, přičemž s rostoucím věkem prevalence stoupá. Toto onemocnění se 1,5krát častěji objevuje u mužů oproti ženám a o dědičnou PD se jedná u 15 – 20 % pacientů. [1] [2]

U neurodegenerativních onemocnění obecně dochází k anomální agregaci specifických proteinů, které se ukládají jako tělíska uvnitř či vně neuronu. U PD se jedná konkrétně o Lewyho tělíska, jež ve své struktuře obsahují modifikovaný alfa-synuklein. Při nadměrné expresi modifikovaného alfa-synukleinu dochází k indukované apoptóze z důvodu kombinace oxidativního stresu, poruchy buněčného transportu a mitochondriální dysfunkce. Abnormální agregace alfa-synukleinu působí toxicky na dopaminergní neurony. Lewyho tělíska se objevují časem v různých částech mozku. [3]

Při tomto onemocnění dochází k neurodegeneraci periferního, centrálního i autonomního nervového systému. Nejvíce je postižen extrapyramidový systém, který je zodpovědný za pohybové automatismy a posturální mechanismy. Do extrapyramidového systému patří bazální ganglia a kmenová jádra (substantia nigra, nucleus ruber a další) propojená ascendentními a descendentními drahami. [1] [3]

Bazální ganglia (BG), viz obrázek č. 1, jsou motorickým ústředím sloužícím ke zpracování iniciačních impulsů pro hybnost. Tvoří je corpus striatum, nucleus (ncl.) lentiformis, clastrum a ncl. amygdalae. Corpus striatum se skládá z ncl. caudatus a putamenu. Ncl. lentiformis se skládá z globus pallidus (pallidum) a putamenu. Funkčně se k bazálním gangliím přiřazují ncl. subthalamicus, substantia nigra, striatum ventrale a pallidum ventrale. Substantia nigra (SN) se dělí na pars compacta (SNc) a pars reticularis (SNr). Pars compacta je hlavní strukturou dopaminergního systému mozku, jejíž neurony obsahují černý pigment neuromelanin. Neuromelanin vzniká jako vedlejší produkt při syntéze dopaminu. Axonálním prouděním se dopamin transportuje do bazálních ganglií. Pars reticularis je struktura tvořená inhibičními GABAergními neurony. Při Parkinsonově chorobě je poškozena především pars compacta. [4] [5]



Obrázek č. 1 Anatomický obrázek bazálních ganglií. Zdroj: [6]

Onemocnění extrapyramidového systému se dělí do dvou skupin na hypokinetické a hyperkinetické (dyskinetické) syndromy. Hypokinetický syndrom se někdy označuje jako parkinsonský syndrom, protože jeho majoritním zástupcem je PD. Asi 80-85 % pacientů s parkinsonským syndromem trpí PD. Parkinsonský syndrom se projevuje také po otravě oxidem uhelnatým, při užívání některých druhů léků, při posttraumatické či vaskulární etiologii. [1] [2] [7]

Mezi typické projevy PD patří rigidita (ztuhlost svalů), hypokineze (zpomalenost pohybů), tremor (třes) mizící ve spánku a posturální poruchy (poruchy hybnosti a držení těla či končetin). Dalšími příznaky jsou deprese, kognitivní poruchy, zpomalené psychomotorické tempo, poruchy potence, mikce a další. [1]

Toto onemocnění je bohužel zatím nevyléčitelné, lze pouze mírnit příznaky. Během léčby je vyvíjena snaha zvýšit hladinu dopaminu, snížit hladinu acetylcholinu v bazálních gangliích a zároveň oddálit nasazení levodopy (L-DOPA). K léčbě se využívají anticholinergika, L-DOPA, agonisté dopaminu, chirurgická léčba (hluboká nervová stimulace) a rehabilitace. L-DOPA je účinný preparát, který výrazně zmírňuje příznaky, ale po 5-10 letech užívání se objevují pozdní komplikace, motorické i non-motorické. Motorické komplikace jsou fluktuace hybnosti a dyskineze. Non-motorické představují deprese, úzkost a psychotické jevy (halucinace). Nejdříve je L-DOPA užívána v malých dávkách s inhibítorem enzymu dekarboxylázy, později jsou zvyšovány dávky L-DOPY. [1]

2.2 Porucha chování v REM spánku ve vztahu k PD

Porucha chování v REM spánku, nebo-li RBD z anglického REM sleep behavior disorder, je druh parasomnie s narušenou svalovou atonií. Je pro ni typické abnormální chování během fáze REM v souvislosti s výraznou snovou produkcí, přičemž může docházet k přerušování spánku nebo ke zranění. Sny bývají většinou velmi nepříjemné, často jsou popisovány jako násilné a snící se v nich cítí ohrožen. Nemocný je po prudkém probuzení z RBD epizody schopen celý sen odvyprávět a jeho chování během spánku odpovídá danému snu. Za abnormální chování lze označit vokalizaci, záškuby, smích, pohyby – rozhazování rukama, údery, kopy a jiné. [8] [9]

RBD lze rozdělit na primární (idiopatickou) a sekundární. Idiopatická forma (iRBD) se většinou pomalu rozvíjí u mužů po 50. roce. Sekundární forma se dále dělí na akutní a chronickou. Akutní forma se může objevit při odvykací léčbě alkoholové, drogové nebo lékové závislosti. Chronická forma obvykle doprovází neurodegenerativní onemocnění s hromaděním alfa-synukleinu (alfa-synukleinopatie), narkolepsii nebo někdy ložiskové kmenové léze. Dle studií do roku 2014 bylo prokázáno, že některou z alfa-synukleinopatií (PD, demence s Lewyho tělísky, multisystémová atrofie) onemocní za 5 let 25-40 % pacientů s iRBD, za 10 let 40-65 % pacientů s iRBD a za delší dobu 65-80 % pacientů s iRBD. Lze tedy skoro říci, že pacienti s iRBD jsou v počátečním stádiu synukleinopatie. [8] [9]

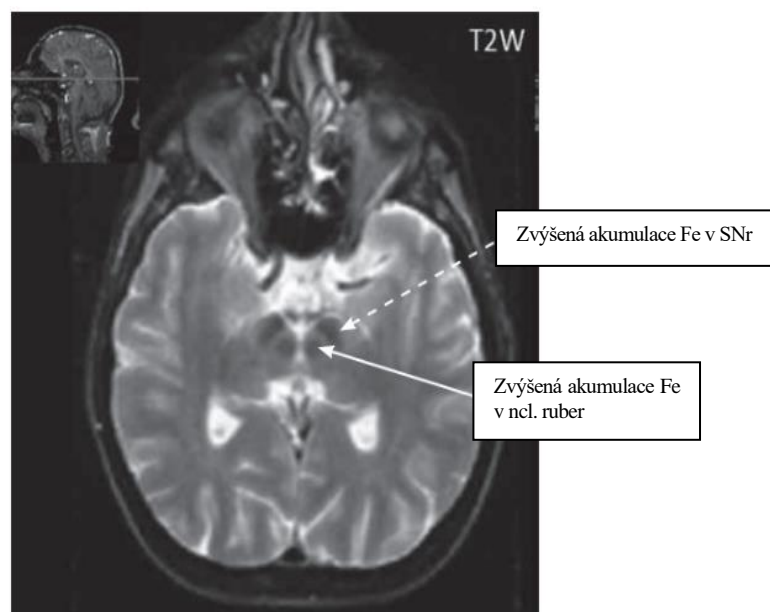
Rizikové faktory pro vznik RBD i PD jsou podobné a patří sem práce v zemědělství, používání pesticidů, krátká školní docházka či úraz hlavy. Rozdíl je patrný u kouření a pití kávy. Pro RBD je kouření rizikem a pití kávy nikoliv. Pro PD kouření rizikem není, ale pití kávy ano. Z toho vychází předpoklad, že nikotin předchází nástupu příznaků PD, ale přispívá k hromadění alfa-synukleinu. Léčba zaměřující se na příčiny RBD zatím není. K symptomatické léčbě jsou užívány klonazepam a melatonin. [8] [8]

2.3 Zobrazovací metody

Parkinsonova choroba má charakteristický klinický obraz, ale pro konečné stanovení této diagnózy se využívají další pomocná vyšetření. Pomocnými vyšetřeními jsou: laboratorní a genetická vyšetření, zobrazovací vyšetření – výpočetní tomografie (CT), magnetická rezonance (MRI), funkční magnetická rezonance (fMRI), pozitronová emisní tomografie (PET) a jednofotonová emisní tomografie (SPECT). Jako doplňující vyšetření se provádí test dopaminergní stimulace, který spočívá v nasazení léků a čekání na odpověď. [2] [7]

Modality PET a SPECT jsou běžně využívanými zobrazovacími metodami v diagnostice PD, kdy se jako biomarker využívá naměřená dopaminergní dysfunkce. V PET se využívá dopaminu značeného radioaktivní látkou, konkrétně fluorem (^{18}F), pro průkaz degenerace striatonigrální dráhy skrze ztrátu dopaminergních neuronů. SPECT je využíván k zobrazení hustoty presynaptických zakončení za pomoci ligandu ^{123}I -ioflupanu (vyšetření DAT-SPECT). [2] [7] [10]

MRI a CT se obecně využívá k zobrazení atrofie mozku. CT se při diagnostice PD využívá k odlišení léze v oblasti bazálních ganglií nebo normotenzního hydrocefalu. MRI je indikována při suspektním atypickém parkinsonickém syndromu. Pro MRI je na T2 vážených (T2W) obrazech při PD typické zvýšení intenzity signálu v oblasti SNc a snížení intenzity signálu v oblasti SNr, viz obrázek č. 2. Zvýšení intenzity signálu v oblasti SNc a snížení intenzity signálu v oblasti SNr může být do jisté míry způsobeno množstvím železa (Fe) obsaženým v těchto strukturách – při depleci Fe zvýšení intenzity signálu, při akumulaci Fe snížení intenzity signálu. Hladina železa stoupá běžně s přibývajícím věkem. Při PD je SNc ztenčena nebo dokonce může zmizet. Na T1 vážených (T1W) obrazech při PD je většinou normální obraz. Difúzně vážené obrazy (DWI) vykazují při PD aktivně zvýšenou difúzi pro čichovou dráhu a obrazy difúzně vážené tenzory (DTI) vykazují nárůst frakční anizotropie. Z hlediska Parkinsonovy nemoci je konvenční zobrazování pomocí MRI málo užitečné. [1] [10]



Obrázek č. 2 T2W obraz pacienta s PD. Zdroj: [1]

V posledních 20 letech došlo k významnému pokroku ve vývoji biomarkerů pro PD zobrazitelných a měřitelných pomocí magnetické rezonance. Konvenční strukturální zobrazování MRI se u PD používá, ale skutečný přínos spočívá v pokročilých technikách, které ukázaly změny v oblasti substantia nigra a mozkové kůře. Biomarkery tak mohou být nejen strukturální, ale i perfuzní, metabolické či anatomicko-funkční. [10]

Nejrozvinutějšími MRI markery jsou difúzní zobrazování a určování množství železa pomocí relaxometrických technik T2/T2*. Velký potenciál představují specifické metody, jimiž jsou traktografie a funkční konektivita v klidovém stavu. Lze pomocí nich pozorovat anatomické i funkční změny konektivity v mozku. [10]

fMRI je svým způsobem podobná perfuznímu PET, protože obě tyto modalities mapují nárůst lokální tkáňové perfuze a lokálního metabolismu při zvýšené aktivitě. Podrobněji bude popsána v následující podkapitole. [11]

2.3.1 Funkční magnetická rezonance

Funkční magnetická rezonance, neboli fMRI, je jednou z moderních zobrazovacích metod, která nám umožňuje zkoumat funkce mozku. fMRI pomáhá lépe pochopit některá neurologická onemocnění a v neurochirurgii je aktivně využívána při předoperačním mapování. Poskytuje velmi dobré prostorové rozlišení v řádech 0,1 až 10 mm a temporální rozlišení 0,1 až 1 000 s. [11] [12] [13]

Tato metoda dokáže mapovat činnost neuronů na podkladě lokální změny průtoku a okysličení krve mozkiem, neboli perfuze a oxygenace. Zvýšená neuronální aktivita se projevuje zvýšením lokální extrakce kyslíku a nárůstem perfuze v aktivních částech mozku. Ke zvýšení lokální extrakce kyslíku dochází v důsledku větší spotřeby energie, která je získávána v mozku hlavně z glukózy procesem oxydativní fosforylace. [13]

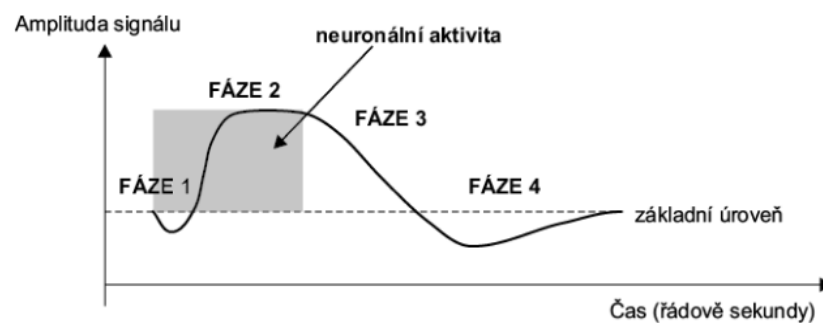
Pro funkční mapování mozkové kůry se využívají dvě techniky, perfuzní fMRI a BOLD fMRI. Perfuzní fMRI vychází z pozorování změny perfuze a objemu krve v aktivní oblasti. BOLD fMRI, z anglického Blood oxygenation level dependency, vychází z pozorování změny poměru okysličeného a neokysličeného hemoglobinu. Hemoglobin je červené krevní barvivo obsažené v červených krvinkách (erytrocytech), jehož hlavní funkcí je transport dýchacích plynů. Okysličený hemoglobin (oxyhemoglobin) je diamagnetický a neokysličený hemoglobin (deoxyhemoglobin) je paramagnetický. Deoxyhemoglobin je v podstatě přírodní kontrastní látkou. Tento jev se označuje jako BOLD efekt. [13] [14]

V oblastech, kde převažuje množství deoxyhemoglobinu, dochází po aplikaci vnějšího magnetického pole k drobnému zesílení magnetického pole oproti okolí. To způsobí vytvoření mikroskopických gradientů v magnetickém poli, které vedou ke zvýšení nehomogenity. Konečným důsledkem je zkrácení $T2^*$ relaxačních časů, což jsou transverzální relaxace ($T2$) zohledňující lokální nehomogenitu magnetického pole. V případě převažujícího množství oxyhemoglobinu dochází k prodloužení $T2^*$ relaxačních časů. Hodnota $T2^*$ je přímo ovlivněna množstvím oxy-/deoxyhemoglobinu ve sledované oblasti mozku, proto se někdy používá pro BOLD signál označení $T2^*$ signál. Z tohoto důvodu se pro snímání fMRI využívají specifické sekvence impulzů vážící snímky kontrastem $T2^*$. [15]

Požadovaného kontrastu lze dosáhnout skrze uspořádání pulsní sekvence, tedy změnou způsobu excitace spinů. Kontrasty snímků jsou založeny na variabilitě relaxačních časů pro různé tkáně. Kontrastem je míněno váhování obrazů, tzn. $T1$ vážený snímek ($T1W$), $T2$ vážený snímek ($T2W$), $T2^*$ vážený snímek ($T2^*W$) či protonovou hustotou vážený snímek (PDW). Hlavní tři parametry vedoucí ke změně kontrastu jsou: energie použitá na excitační pulz, repetiční čas (TR) a čas odezvy (TE). Energie použitá na excitační pulz určuje sklopení vektoru tkáňové magnetizace a označuje se jako sklápěcí úhel (Flip angle, FA). TR je doba, po kterou jsou opakovaně aplikovány excitační pulzy. TE je čas mezi excitačním pulsem a detekcí MR signálu. [12]

V MR se používají techniky Saturation-Recovery (SR), Spin-Echos (SE), Inversion-Recovery (IR) a Gradient-Echo (GE). SR technika je složena ze série 90° radiofrekvenčních (RF) excitačních pulzů, přičemž vhodnou volbou TR je dosaženo požadovaného kontrastu. SE technika je složena z jednoho 90° RF pulzu a několika následujících 180° RF pulzů, přičemž vhodnou volbou TR a TE je dosaženo požadovaného kontrastu. IR technika je složena z prvního 180° pulzu, který je v inverzním, čase (Inversion Time, TI) následován 90° pulzem. Požadovaného kontrastu je dosaženo vhodnou volbou TI. GE technika je založena na prvním 90° RF pulzu a využití gradientu magnetického pole místo následujícího pulzu. Tato technika využívá kratší časy TE i TR, FA menší než 90° a je velmi rychlá. Ve fMRI se nejčastěji používá technika Echo Planar Imaging (EPI), která je velmi rychlou sekvencí vzniklou na podkladě techniky GE. Jejím výsledkem jsou $T2^*W$ obrazy. [12]

V souvislosti s fMRI je důležitý pojem hemodynamická odezva, což je označení pro postupnou změnu BOLD signálu v místě neuronální aktivity v rámci času. Hemodynamická odezva, z anglického Hemodynamic response function (HRF), se dělí do několika fází, viz obrázek č. 3. Fáze 1 znázorňuje krátký iniciální pokles BOLD signálu, který nastává asi 1 s po začátku stimulu a je velmi obtížně zaznamenanatelný. Dochází k němu v důsledku prudké deoxygenace. Během následujících 2 až 5 s od začátku stimulu se krevní průtok zvýší o 50 až 70 % a utilizace kyslíku o 5 až 20 %, což způsobí zvednutí poměru oxy-/deoxyhemoglobinu a s tím související nárůst BOLD signálu. Fáze 2 znázorňuje nárůst signálu na maximum, jehož je dosaženo mezi 6 až 9 s po stimulu. Následuje fáze 3 znázorňující pozvolný pokles signálu mezi 9 a 20 s. Po ukončení stimulace dochází ke snížení neuronální aktivity, průtoku krve i poměru oxy-/deoxyhemoglobinu na normální hodnoty. Poslední fáze 4 znázorňuje poststimulační přestřelení signálu do záporných hodnot (undershoot) způsobené pomalejší změnou průtoku vzhledem ke změně poměru oxy-/deoxyhemoglobinu. [12] [13]



Obrázek č. 3 Schéma hemodynamické odezvy při aktivaci neuronů. Zdroj: [14]

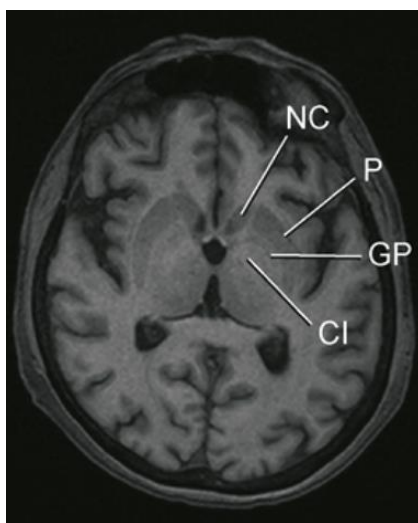
Pro zaznamenání hemodynamické odezvy je zapotřebí velmi krátký stimul s délkou trvání 10-100 ms, přičemž délka trvání stimulu přímoúměrně ovlivňuje amplitudu HRF. Časové rozložení průběhu signálu je téměř neměnné a celková doba hemodynamické odezvy se pohybuje okolo 20 s. Aktuální hodnota naměřeného BOLD signálu odpovídá poměru oxyhemoglobinu a deoxyhemoglobinu v měřené oblasti. Tato metoda je limitována tím, že nejsou standardizované hodnoty BOLD signálu, které by posloužily jako referenční úroveň. Při snímání BOLD signálu je velmi malý rozdíl mezi stimulovanými a kognitivními stavy, který je asi 0,5-3 % naměřeného MR signálu u přístroje s 1,5 T. Z tohoto důvodu je nutné snímat celý mozek opakovaně, aby bylo možné získaná data statisticky zpracovat a oddělit tak experimentální změny od šumu. [12] [15]

Mozek je možné snímat v klidu i při provádění daného úkolu. Ke snímání se standardně využívá velmi rychlé T2* vážené (T2*W) EPI sekvence (Echo Planar Imaging) s nízkým prostorovým rozlišením, proto bývá vyšetření doplněno o anatomické T1W snímky, které poskytují vysoké prostorové rozlišení. Výstupem z fMRI je aktivační mapa, která zobrazuje aktivní oblasti mozku během vyšetření. [12] [13] [15]

Hemodynamická odezva je základem mnoha analytických metod a byly pro ni vytvořeny různé modely. Apriorními modely jsou čtvercová vlna nebo její konvoluce s HRF, jež jsou implementovány v knihovně SPM. Protože hemodynamická odpověď se může lišit region od regionu, byl vytvořen obecný lineární model s metodou dekonvoluce (GLM-De), který umožňuje HRF se lišit voxel od voxelu. Někdy se používá ještě pojem impulzní odezva (IRF), na nichž se provádí konvoluce, aby se získala odhadovaná odezva. [16]

Modalitu fMRI lze využít v diagnostice epilepsie, bolestech hlavy, demenci, cévních, nádorových, demyelinizačních, neurodegenerativních a extrapyramidových onemocněních mozku. Jak již bylo výše zmíněno, PD patří mezi extrapyramidová onemocnění, při nichž první studie dokumentovaly snížení aktivity ve frontální oblasti při chtěném pohybu. [11]

Pro názornost je níže uveden učebnicový obrázek T1 sekvence využívané při fMRI s popisky, viz obrázek č. 4. Pod zkratkou NC na obrázku nalezneme nucleus caudatus, pod zkratkou P putamen, pod zkratkou GP globus pallidum a pod CI capsula interna. [13]



Obrázek č. 4 T1W obraz oblasti BG z fMRI. Zdroj: [13]

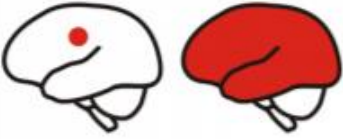
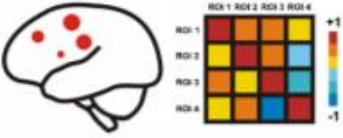
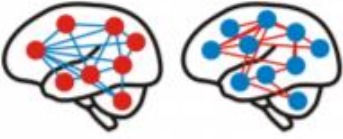
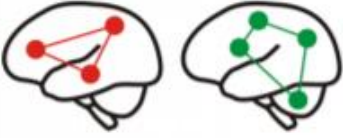
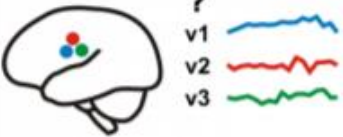
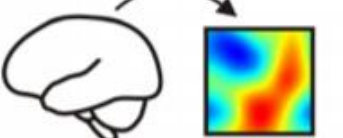
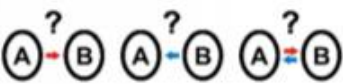
2.4 Metody analýzy fMRI

Funkční magnetická rezonance se v posledních letech dostává do popředí. Vyšetření pomocí ní lze provádět během úkolu nebo v klidu. V případě vyšetření v klidu hovoříme o tzv. resting state fMRI, běžně označované jako rs-fMRI. Pro klidový stav se také ujala označení „vnitřní“ či „spontánní“ mozková aktivita. [17]

Funkční magnetická rezonance mapuje funkční organizaci mozku. Modely mozkové konektivity lze rozdělit na anatomické a funkční. Pro snazší pochopení si dané potřebné pojmy vysvětlíme skrze modelovou situaci – večírek. Lidé na večírku komunikují verbálně i neverbálně (udržují oční kontakt) a seznamují se s novými lidmi (vytvářejí nová spojení). Anatomickou konektivitu si můžeme představit jako konkrétní cestu (získané telefonní číslo, e-mail) pro potenciální výměnu informací a funkční konektivitu jako přerušované interakce udržující tyto konkrétní komunikační cesty (pohledy monitorující situaci kolem). Definice funkční konektivity je časová korelace neurofyziologického indexu měřeného v různých oblastech mozku. [17]

Obecně je známo 6 kategorií analýzy dat rs-fMRI: seed-based analýza neboli semínková korelační analýza (SCA), analýza nezávislých komponent (ICA), clustering neboli shlukování, teorie grafů, klasifikace vzorců a dvě lokální metody. Mezi lokální metody patří regionální homogenita (ReHo) a amplituda fluktuací nízké frekvence (ALFF). V této práci používáme především regionální homogenitu, ale stručně se seznámíme se všemi. Metody jsou graficky znázorněny na obrázku č. 5. [17]

Jednotlivé metody analýzy dat si lze v základu také představit na modelu večírku. Hostitel je ústřední postavou tohoto večírku, proto se pozdraví s každým hostem. Metoda seed-based popisuje interakce hostitele s každým hostem, tedy ústředního bodu s ostatními body. V metodě analýzy nezávislých komponent jsou sledováni hosté, mezi kterými převládala komunikace, tedy body, které spolu častěji komunikují. V metodě shlukování, jak už název napovídá, je sledováno, jaké skupinky se během večera formovaly. V teorii grafů jsou mapovány komunikační trasy jednotlivých hostů. V klasifikaci vzorců se sleduje, zdali interakce mezi jednotlivými hosty neprobíhala podle nějakého vzorce. Lokální metody ve své podstatě popisují každého hosta individuálně. [17]

	<p>Semínková korelační analýza (<i>Seed-Based Correlation Analysis</i>)</p>
	<p>Shlukování (<i>Clustering</i>)</p>
	<p>Teorie grafů (<i>Graph Theory</i>)</p>
	<p>Analýza nezávislých komponent (<i>Independent Component Analysis</i>)</p>
	<p>Regionální homogenita (<i>Regional Homogeneity</i>)</p>
	<p>Amplituda nízkofrekvenčních fluktuací (<i>Amplitude of Low Frequency Fluctuation</i>)</p>
	<p>Analýza mnohorozměrných vzorců (<i>Granger Causality Analysis</i>)</p>

Obrázek č. 5 Přehled metod. Zdroj: [18]

2.4.1 Semínková korelační analýza (SCA)

Semínková korelační analýza, neboli seed-based correlation analysis, je metoda, zakládající se na korelaci mezi aktivitou počáteční oblasti zájmu (ROI) („seed region“) a aktivitou ve všech ostatních voxelech, tedy aktivitou celého mozku. Může se také provádět mezi více určenými oblastmi zájmu. Je to jedna z nejoblíbenějších technik, která má nevýhodu v nutném předběžném výběru oblasti zájmu, proto pro tuto metodu již byly vytvořeny modely s přednastavenými oblastmi zájmu. Tato metoda dokáže jednoznačně kvantifikovat funkční konektivitu, ale výsledky mohou být ovlivněny výběrem, velikostí a tvarem počáteční ROI. Je důležité správné vymezení. [17]

Tato metoda probíhá ve dvou krocích, kdy v prvním kroku jsou extrahovány modelové časové řady z oblasti zájmu a ve druhém kroku jsou kvantifikovány podobnosti modelové časové řady s časovými řadami od jiných voxelů nebo oblastí zájmu. Pro extrakci časových řad byly do programů využívajících tuto metodu implementovány výpočetně pokročilejší alternativy, kupříkladu analýza hlavních komponent (PCA). Analýza hlavních komponent transformuje časovou řadu počáteční oblasti zájmu na sadu komponent, které postupně představují největší rozptyl dat. Využitím této početní alternativy dochází ke zpřesnění. Pro kvantifikaci je nespočetné množství statistických technik. [17]

2.4.2 Analýza nezávislých komponent (ICA)

Metoda analýzy nezávislých komponent, neboli independent component analysis (ICA), vychází z předpokladu, že mozek je organizován do řady funkčně diskrétních sítí, které mají jedinečný signál. Předpokládá tedy, že diskrétní funkční síť lze identifikovat díky specifickému signálu. Tato metoda určuje prostorové rozdělení odlišných funkčních sítí. [17]

Data získaná pomocí fMRI jsou směsí nezávislých signálů z řady prostorově distribuovaných zdrojů, které se pomocí metody ICA rozloží na několik nezávislých komponent. Na počátku je nutné stanovit počet požadovaných komponent. Některé programy umí tento počet odhadnout. ICA dokáže kromě funkčně smysluplných sítí extrahovat i „arteficiální“ signály. Příklady arteficiálního signálu jsou šum skeneru, pohyb hlavy či fyziologické artefakty – srdeční a respirační signál. [17]

ICA analýza pro skupinu pacientů je komplikovaná vzhledem k obtížnosti výběru odpovídajících komponent napříč jednotlivci. Pro zjednodušení lze využít šablony. ICA má oproti SCA tyto výhody: nevyžaduje stanovení počáteční ROI, nevyžaduje předpoklady o rozmístění sítí a lze ji provádět s minimálním pre-processingem. Metoda ICA není úplně vhodná pro analýzu funkční konektivity. SCA v současnosti již umí extrahovat artefakty jako ICA. [17]

2.4.3 Shlukování (clustering)

Clustering, neboli shlukování či klasifikace do klastrů, je metoda analýzy dat klidového stavu, při níž jsou na základě matematických technik hledány vzorce v datech. Dochází k nekontrolovanému rozdělování dat do podskupin (klastrů), kdy data v rámci jednoho klastru jsou si navzájem podobná. Do jednoho klastru jsou za pomoci klastrových algoritmů zařazeny oblasti či voxely, které jsou funkčně propojeny nebo interagují na základě podobných vzorců se zbytkem mozku. Tato metoda je podobná metodě ICA. [17]

Existuje několik přístupů ke klastrování, ale nejpoužívanější jsou hierarchický, částečný a spektrální. Hierarchický přístup bere každý datový bod jako samostatný klustr, který se na základě podobnosti shlukuje s jinými klustry a vzniká tak obraz podobný stromu. Částečný přístup se snaží minimalizovat rozptyl uvnitř klastru. Spektrální přístup je obtížnější, využívá se Laplaceova grafu a standardních shlukovacích vzorců, kdy výsledkem je matice vlastních vektorů – spektrum dat. [17]

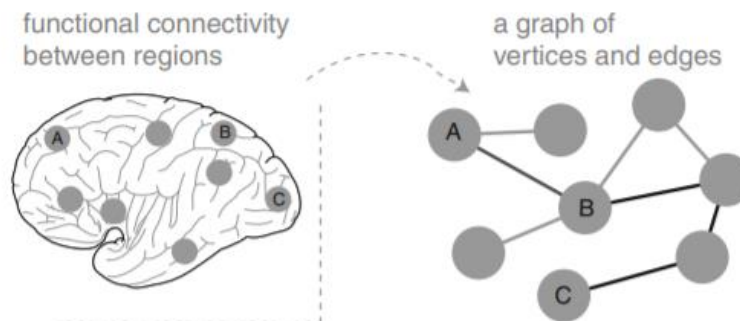
Klasifikace do klastrů je osvědčená metoda vhodná při detekci známých funkčních, anatomických a architektonických dělení v mozku. Tato metoda není bezchybná, nejčastější chybou bývá stanovení počátečního počtu klastrů (K), do kterých chceme data rozdělit. [17]

2.4.4 Analýza mnohorozměrných vzorců (MVPA)

Analýza mnohorozměrných vzorců, někdy také analýza více-voxelových vzorců, je metodou, která stejně jako ICA či shlukování bere v potaz více-voxelové vzorce mozkové aktivity či konektivity. Tato metoda začleňuje do analýzy prostorově distribuované vzorce aktivity. Využívá se pro klasifikaci kognitivních stavů a umožňuje zakreslení vztahů mezi neuronální aktivitou a kognitivními stavy. [17]

2.4.5 Teorie grafů

Teorie grafů funguje tak, že stanoví oblasti ROI, které představují vrcholy, a spojení těchto oblastí vytvoří linie. Linie symbolizují funkční konektivitu mezi vrcholy. Cestu v grafu představuje pořadí vrcholů, které jsou spojeny, a délka cesty je dána počtem linií, kterými prochází. Stupeň určuje počet vrcholů skrze linie k němu připojených, viz obrázek č. 6. Na obrázku jsou pomocí šedých koleček znázorněny vrcholy a černé čáry představují „cestu“ funkční konektivity z bodu A do bodu C. Teorie grafů poskytuje nástroje k popisu a charakterizaci různých vnitřních vlastností konfigurace sítí. [17]



Obrázek č. 6 Grafické znázornění teorie grafů. Zdroj: [17]

2.4.6 Lokální metody

Předcházející metody analýzy dat z fMRI v klidovém stavu uvedené v této práci se zaměřovaly především na funkční konektivitu a byly uvedeny velice stručně pro srovnání. Lokální metody se zabývají spontánní lokální mozkovou aktivitou a kvantifikují ji. Mezi lokální metody patří amplituda nízkofrekvenčních fluktuací (ALFF) a regionální homogenita (ReHo). [10] [17]

Amplituda nízkofrekvenčních fluktuací (ALFF)

Amplituda nízkofrekvenčních fluktuací signálu rs-fMRI je alternativně vytvořeným indexem, který odráží intenzitu regionální spontánní mozkové aktivity. Spontánní nízkofrekvenční fluktuace (LFF) mezi levou a pravou motorickou kůrou se v rs-fMRI pohybují v rozmezí hodnot od 0,01 – 0,08 Hz. Bylo prokázáno, že LFF signály, závislé na BOLD signálu, úzce souvisí se spontánní neuronální aktivitou. Tato metoda je citlivá na fyziologický šum. [19]

Pro stanovení ALFF je nejprve nutné odstranit lineární trend, poté se vytváří filtrací pásmová propust odpovídající $0,01 < f < 0,08$ Hz. Vytvořením pásmové propusti dochází ke snížení vlivů nízkofrekvenčního driftu a vysokofrekvenčního srdečního a respiračního šumu. Časová řada každého voxelu je transformována do frekvenční oblasti, čímž je získáno výkonové spektrum. Výkon je úměrný druhé mocnině amplitudy téže frekvenční složky, proto je prováděn výpočet druhé odmocniny pro každou frekvenci ve výkonovém spektru a průměrná druhá odmocnina u každého voxelu. Průměrná druhá odmocnina každého voxelu je brána jako ALFF. ALFF dle některých prací může být vydělen individuálním globálním průměrem ALFF získaným po odstranění tkání mimo mozek. [19]

fALFF je frakční amplituda nízkofrekvenčních pulsů. Jedná se o vylepšenou metodu, která je dána poměrem výkonu každé frekvence v nízkofrekvenčním pásmu (0,01 – 0,08 Hz) ku výkonu celého frekvenčního rozsahu (0 – 0,25 Hz). O fALFF se někdy hovoří jako o „vylepšeném“ ALFF, ale prozatím nebylo prokázáno, který z těchto dvou parametrů je lepší pro studie mezi skupinami. Parametr ALFF má vyšší spolehlivost testu a retestu (opětovného testování) v oblastech šedé hmoty oproti fALFF, ale je zároveň náchylnější než fALFF k možným artefaktům v blízkosti cév a mozkových komor. [19] [20]

Regionální homogenita (ReHo)

Regionální homogenita je metodou, která napomáhá odhalit složitost funkce lidského mozku a představuje velký potenciál do budoucna. Mohla by se stát neinvazivním biomarkerem pro diagnostiku Parkinsonovy choroby či jiného neurodegenerativního onemocnění. Je používána pro zpracování naměřeného BOLD signálu ve fMRI v klidovém stavu. Předpokládá, že v rámci klastru (funkčního shluku) se hemodynamické vlastnosti jednotlivých voxelů nebudou příliš lišit či budou alespoň synchronní. [16] [21]

Pro měření regionální homogenity nebo podobnosti seřazení časové řady jednoho voxelu s jeho nejbližšími sousedy se využívá Kendallův koeficient shody (KCC). Kendallův koeficient shody je počítán z tohoto vzorce,

$$W = \frac{\sum(R_i)^2 - n(\bar{R})^2}{\frac{1}{12}K^2(n^3 - n)}$$

kde W představuje KCC mezi danými voxely pohybující se v rozmezí hodnot 0 – 1, $\sum R_i$ je součet pořadí i -tého časového bodu, \bar{R} je průměr, K je počet časových řad v měřeném klastru, přičemž jako klastr se bere jeden daný voxel plus počet jeho sousedů, a n je počet řad. Hodnota K , tedy počet voxelů v rámci klastru, bývá nejčastěji 7, 19 nebo 27. [16] [21]

Z vypočtených hodnot KCC je pro každý subjekt vytvořena individuální mapa KCC – mapa ReHo. Mapa ReHo bývá standardizována tak, že každá mapa ReHo je vydělena svým vlastním průměrem ReHo. Následně je získaná mapa vyhlazena Gaussovským jádrem. Pro prostorové vyhlazení (FWHM) se nejčastěji používají hodnoty 0 (bez prostorového vyhlazení), 4, 6 nebo 8 mm, ale lze použít i jiné hodnoty. Větší hodnota regionální homogenity označuje vyšší regionální synchronizaci a naopak menší hodnota ReHo označuje nižší regionální synchronizaci. [21] [22]

Regionální homogenita byla, kromě Parkinsonovy choroby, zkoumána také například u Alzheimerovy choroby, schizofrenie, poruchy pozornosti související s hyperaktivitou či u atrofií. Na pacientech trpících Parkinsonovou chorobou byla provedena již celá řada studií. Pacienti ve studiích byli většinou po vysazení levodopy či ukončení léčby, studií před léčbou s pacienty tzv. drug-naive bylo provedeno méně. Studie byly také častěji prováděny pouze mezi skupinami pacientů s PD a zdravými kontrolami. Nejvýznamnější rozdíly mezi zdravými kontrolami a pacienty s PD byly zjištěny v motorické a vizuální asociační kůře. [21] [22] [23]

2.5 Software pro fMRI

S rozvojem používání rs-fMRI plynule došlo k rozvoji softwarů umožňujících zpracování obrovského objemu neuroimangových dat, které z rs-fMRI můžeme získat. Nejznámějšími a nejpoužívanějšími softwarovými nástroji pro neuroimaging jsou Analysis of Functional NeuroImages (AFNI), Advanced Normalization Tools (ANTs), FreeSurfer, FMRIB Software Library (FSL), Resting-State fMRI Data Analysis Toolkit (REST) a Statistical Parametric Mapping (SPM). AFNI používá programovací jazyk C, ANTs používá C++, FreeSurfer může používat C/C++/Shell, FSL používá C++/Shell a SPM používá MATLAB. Ačkoli se jedná o různé softwarové nástroje, rozdíly nemusí být velké. Na základě SPM a REST byl od výrobců MATLABu vytvořen software Data Processing Assistant for Resting-State fMRI (DPARSF), který je součástí doplňkové knihovny Data Processing & Analysis for Brain Imaging (DPABI). [24]

V rámci diplomové práce jsem se seznámila s doplňkovými knihovnami SPM 12 a DPABI 5.1, jež jsou si v mnohém podobné. Podrobně se budu v této práci věnovat pouze doplňkové knihovně DPABI, která částečně vychází z SPM.

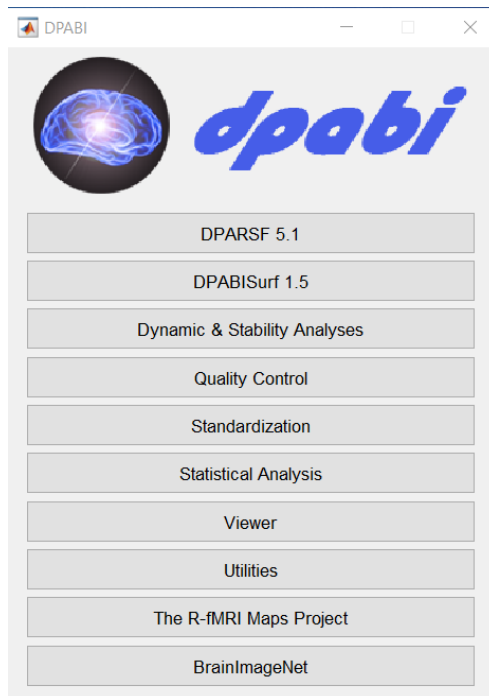
2.5.1 DPABI

Tato podkapitola byla zpracována především za pomoci těchto zdrojů, pokud není uvedeno jinak: [12] [20] [25] [26] [27] [28]

DPABI je doplňkovou knihovnou (toolboxem) pro program MATLAB od společnosti MathWorks. Má otevřený zdrojový kód, tudíž je vhodná pro začátečníky i pokročilé. Je volně dostupná na internetu a ke stažení zdarma. Stejně jako MATLAB je podporována operačními systémy Windows, Linux a Mac OS.

Jedná se o uživatelsky přívětivý soubor nástrojů, který provádí automaticky přednastavené pořadí kroků, tzv. „pipeline“, pro analýzu dat z klidové fMRI. DPABI bylo navrženo tak, aby bylo co nejméně časově náročné, vyžadovalo co nejméně manuálních operací, požadovalo co nejmenší dovednosti uživatele, eliminovalo riziko neúmyslných chyb a bylo možné výsledky srovnat v rámci více studií.

V rámci DPABI lze provádět preprocessing pro fMRI, kontrolu kvality předzpracování, statistickou analýzu, prohlížení původních obrazů či výsledků a jiné. DPABI je rozdělena do několika modulů, viz obrázek č. 7 níže.



Obrázek č. 7 Úvodní tabulka DPABI s možností výběru požadovaného modulu.

DPARSF

DPARSF 5.1 je aktuální používanou verzí softwaru. Pomocí DPARSF lze provést tyto nejnútnejší kroky uvedené v přehledové tabulce č. 1.

Převod souborů do požadovaného formátu

Nejprve lze v rámci DPARSF provést převod souborů z formátu Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) do formátu Neuroimaging Informatics Technology Initiative (NIfTI). Většina souborů ze zdravotnických skenerů je získávána ve formátu DICOM a před analýzou dat je zapotřebí provést transformaci do jiného formátu, nejčastěji NIfTI. Soubory NIfTI obsahují afinní souřadnice vztahující indexy voxelů k prostorovému umístění.

Tabulka č. 1 Přehled použitého postupu při zpracování naměřených dat.

D P A R S F	Převod snímků do požadovaného formátu	DICOM na NIFTI
	Nastavení kritérií pro předzpracování	Odstranění prvních 10 časových bodů Korekce časů snímání jednotlivých řezů Korekce pohybu hlavy Prostorová normalizace Prostorové vyhlazení Odstranění lineárního trendu Filtrování
	Výpočet parametrů	Funkční konektivita (FC) Regionální homogenita (ReHo) Amplituda nízkofrek. fluktuací (ALFF) Atd.
Statistical Analysis		Volba testové statistiky Výpočet statistiky
Viewer		Korekční mechanismy Volba hladiny významnosti (prahování) Aktivační mapy Tabulky aktivovaných oblastí

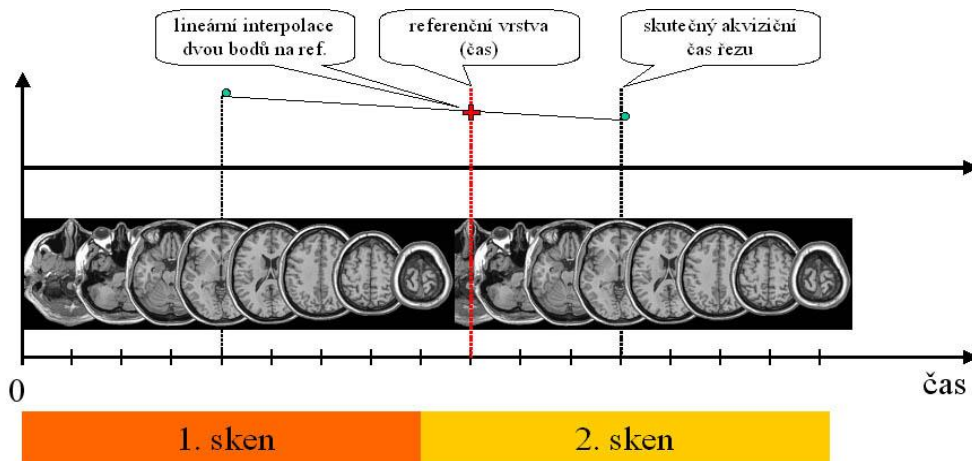
Po načtení pacientů je zapotřebí nastavit parametry nasnímaných obrazů a parametry pro vlastní preprocessing.

Odstranění prvních časových bodů

Remove First _ Time Points je parametr, který odstraňuje libovolný počet časových bodů. Tento parametr je velmi důležitý, protože na počátku pacientova snímání v MRI není stabilní gradient magnetického pole a v prvních časových bodech dochází k jeho stabilizaci. Zároveň pacient získá prostor pro přivyknutí si na hluk přístroje. V těchto bodech bývá větší obrazový šum. Standardně jsou odebírány minimálně první 4, ale většinou se odstraňuje prvních 10.

Korekce časování řezů

Slice Timing je parametr, který provádí korekci časování řezů. Jelikož většina dat je získávána ve formě sekvence 2D řezů v různých časech během jedné doby opakování, je nutné provést interpolaci všech řezů do jednoho časového bodu, kterým je referenční řez, viz obrázek č. 8. Referenčním řezem bývá prostřední snímek z průběhu skenování. Je důležité znát pozici každého řezu a repetiční čas (TR). Časové rozdíly jsou problémem především u delších TR. Pro tuto funkci je důležité stanovit počet řezů (Slice Number), pořadí řezů (Slice Order) a referenční řez (Reference Slice), poté může být spuštěna korekce. Tento parametr je zejména důležitý při skenování mozku ve vrstvách (řezech) na přesáčku, tzn. 1, 3, 5, ... a až poté vrstvách 2, 4, 6, ...



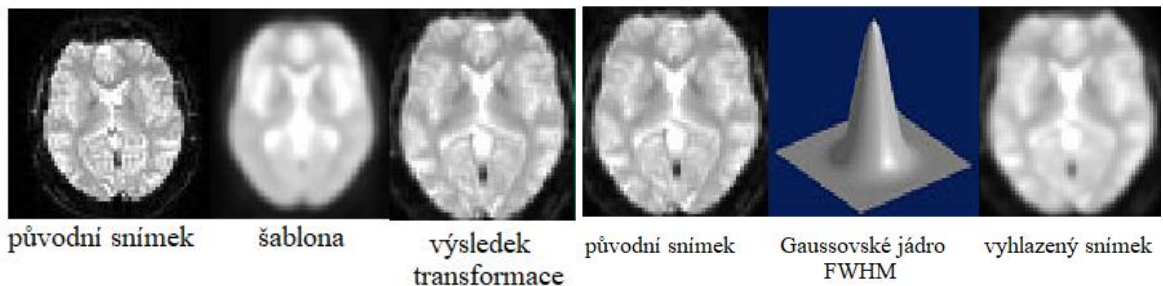
Obrázek č. 8 Korekce časování řezů. Zdroj: [12]

Korekce pohybu hlavy

Následně je provedena korekce pohybů hlavy skrze parametr Realign. Cílem této korekce je upravit časovou řadu tak, aby byl mozek ve stejné pozici na každém řezu. Subjekty vždy během skenování vykonávají mikropohyby hlavou, které je zapotřebí korigovat pomocí speciálních algoritmů. Pokud pacient vykazuje příliš velké pohyby, je nezbytné jej vyloučit z experimentu, aby nedošlo ke zkreslení statistiky. Minimálním kritériem je, aby pohyb hlavy v budoucnu používaného subjektu nepřesahoval 3 mm a úhel rotace 3° . Maximálním kritériem pro velmi přesnou statistiku je, že pohyb hlavy nepřesáhne 1,5 mm a úhel rotace $1,5^\circ$. Parametr Voxel-SpecificHead Motion se příliš nevyužívá, protože jeho vliv není nikterak velký.

Prostorová normalizace

Vzhledem k tomu, že každý mozek je „tak trochu originál“, může se lišit velikostí, tvarem, orientací či gyrální anatomii, je nutné pro možnost srovnání mezi subjekty provést transformaci nebo prostorovou normalizaci individuálního mozku do standardizované šablony. Pro názornost uveden obrázek č. 9. V rámci SPM existují dva volitelné způsoby normalizace funkčních obrazů do prostoru Montrealského neurologického institutu (MNI). Za prvé pomocí šablony echoplanárního zobrazování (EPI) nebo za druhé pomocí unifikované segmentace na snímku T1. Unifikovaná segmentace na snímku T1 může poskytnout lepší výsledky prostorové normalizace, ale je náročnější na výpočet v SPM. Skládá se ze 3 kroků – koregistrace, segmentace a zápisu normalizačních parametrů. V rámci DPARSF jsou tyto 3 kroky integrovány do jednoho. Pod pojmem koregistrace rozumíme přiřazení T1 obrazu k odpovídajícímu funkčnímu obrazu a jejich následnou fúzi do jednoho obrazu.



Obrázek č. 9 Prostorová normalizace. Zdroj: [12]

Obrázek č. 10 Prostorové vyhlazení. Zdroj: [12]

Vyhlazení

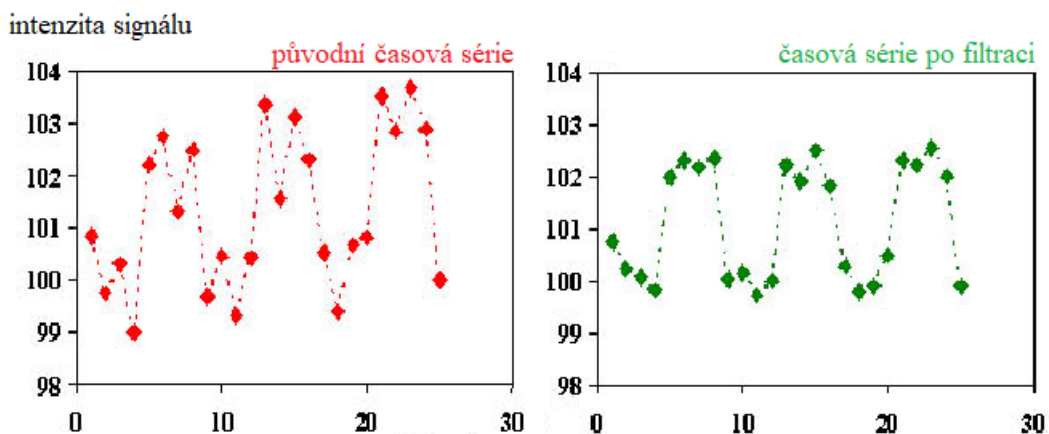
Následně je provedeno vyhlazení, což je krok předzpracování používaný k potlačení šumu a efektů ze zbytkových rozdílů ve funkční a gyrální anatomii. Nejpoužívanější technikou vyhlazování je Gaussův filtr (Gaussovské jádro), jenž má tvar normálního rozdělení, viz obrázek č. 10. DPARSF provede vyhlazení dat se stanovenou šířkou v polovině maxima (full width at half maximum, FWHM).

Odstranění lineárního trendu

Fyziologické posuny, šum související s pohybem nebo instrumentální nestabilita mohou přispět k systematickému snižování či zvyšování BOLD signálu v čase. Ačkoli přesná příčina posunu základního signálu není zcela jasná, tak tento strukturovaný trend ovlivňuje další analýzu. Intenzita BOLD signálu v časovém průběhu signálu každého voxelu kolísá a může tak ovlivnit schopnost detekce aktivace. Jako řešení se využívá normalizace globální intenzity na časových průbězích v jednotlivých voxelech, kdy se stanoví požadovaná hodnota. V nastavení DPARSF lze nastavit možnost odstranění systematického trendu pomocí lineárního modelu.

Filtrování časového průběhu

Nízkofrekvenční fluktuace (LFF) zbytkového signálu fMRI se pohybují v rozmezí od 0,01 do 0,08 Hz a mají fyziologický význam. LFF byly z toho důvodu navrženy, aby reflektovaly spontánní neuronální aktivitu. Dle některých zdrojů jsou nízkofrekvenční oscilace (0,01-0,073 Hz) typické pro šedou hmotu a vysokofrekvenční (0,073-0,25 Hz) typické pro bílou hmotu. Fluktuace způsobené dýcháním či cirkulací krve spadají do nízkofrekvenční oblasti. Aby se snížil vliv velmi nízké a velmi vysoké frekvence, je časový průběh BOLD signálu nezávisle v každém voxelu filtrován do stanoveného pásma (převážně 0,01-0,08 Hz). Princip filtrace je zobrazen na obrázku č. 11.



Obrázek č. 11 Filtrování časového průběhu. Zdroj: [12]

Výpočet parametrů

V rámci předzpracování jsou získány parametry FC, ALFF, fALFF, ReHo a další. FC měří synchronizaci signálu aktivity LFF mezi různými oblastmi mozku, ale neposkytuje informace o regionální spontánní aktivitě. FC se standardně využívá ve fMRI klidového stavu. Pokud je navolen tento parametr, získá se průměrný časový průběh ze specifikované oblasti zájmu a korelační analýzou založenou na voxelech je vytvořena mapa funkční konektivity. Mapa korelačního koeficientu je převedena na z-mapu pomocí Fisherovy transformace za účelem zlepšení normality.

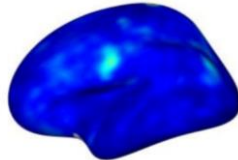
Metoda ReHo je vhodná pro zkoumání regionální mozkové činnosti zkoumáním stupně regionální synchronizace časových kurzů. Jak již bylo v předchozí podkapitole zmíněno, je prováděna na bázi voxel-by-voxel výpočtem Kendallova koeficientu shody časových řad daného voxelu s nejbližšími sousedy. Vyšší hodnota ReHo symbolizuje lepší regionální synchronizaci. Po snížení globálních účinků variability mezi účastníky se zpravidla hodnota ReHo každého voxelu dělí globální průměrnou hodnotou ReHo ve výchozí masce celého mozku. Výpočet regionální homogenity může být ovlivněn použitím vyhlazování, které by do značné míry zvýšilo regionální podobnost. Je doporučeno provádět vyhlazování až po výpočtu ReHo. DPARSF umí vypočítat ReHo a poté vytvořit ještě jednu sadu výsledků s vyhlazením.

Regionální spontánní aktivita může být také zkoumána skrze ALFF a její princip byl podrobněji popsán v předchozí podkapitole. V rámci standardizace se i u ALFF či fALFF provádí dělení každého voxelu globální průměrnou hodnotou ALFF či fALFF v masce celého mozku. Vzhledem k možnosti nastavení šířky frekvenčního pásma mohou být parametry ALFF a fALFF zkoumány pro každé pásmo zvlášť. Byla zkoumána například pásma 0,01-0,027 Hz, 0,027-0,073 Hz, 0,073-0,198 Hz, 0,198-0,25, kde bylo zjištěno, že pásmo 0,027-0,073 Hz se jeví jako relativně specifické vůči bazálním gangliím.

V nastavení DPARSF lze navolit odstranění obtěžujících proměnných, čímž je myšleno odstranění globálního mozkového signálu, šesti parametrů pohybu a mozkomíšní tekutiny (CSF), aby byly sníženy účinky pohybu hlavy a ne-neuronální fluktuace BOLD. Bylo vytvořeno několik masek, ale zatím není jasné, jak obtěžující kovariáty ovlivňují výsledky ReHo a ALFF.

DPABISurf

DPABISurf 1.5 je aktuální verzi modulu. Je to zkratka pro A Surface-based Resting-State fMRI Data Analysis Toolbox. DPABISurf je velice podobný DPARSF, ale provádí výše zmíněné úkony na povrchu mozku. Vyžaduje minimální manuální operace a nejsou zapotřebí zkušenosti s programováním stejně jako u DPARSF. Výstup z tohoto modulu odpovídá obrázku č. 12.



Obrázek č. 12 Výstup z DPABISurf modulu. Zdroj: [29]

DYNAMIC AND STABILITY ANALYSIS

Tento modul umožňuje provádět výpočet parametrů skrze Temporal Dynamic Analysis pro skupiny snímků, které předtím není zapotřebí předzpracovat. Skrze Stability Analysis lze zkoumat stabilitu funkční organizace mozku. Výpočet parametrů i stabilizaci je možné konat na základě objemu (jako DPARSF) i povrchu (jako DPABISurf).

QUALITY CONTROL

Ačkoliv se v současnosti na pokročilejších pracovištích provádí každodenní kontrola MRI protokolů pro zajištění stability výkonu skeneru, a tím i kvality získávání dat, je pro dosažení spolehlivých výsledků vhodně začleněn modul kontroly kvality (QC). Tento modul se využívá pro kontrolu kvality nezpracovaných funkčních i strukturních snímků a kontrolu registrace do standardních šablon. Vzhledem k tomu, že ruční kontrola dat může být extrémně časově náročná, lze tento modul použít například pro kontrolu pohybu hlavy a vyřazení nevhodných subjektů, jež by mohly ovlivnit následnou analýzu. Lze zde vygenerovat skupinovou masku s nastavením požadované procentuální shody.

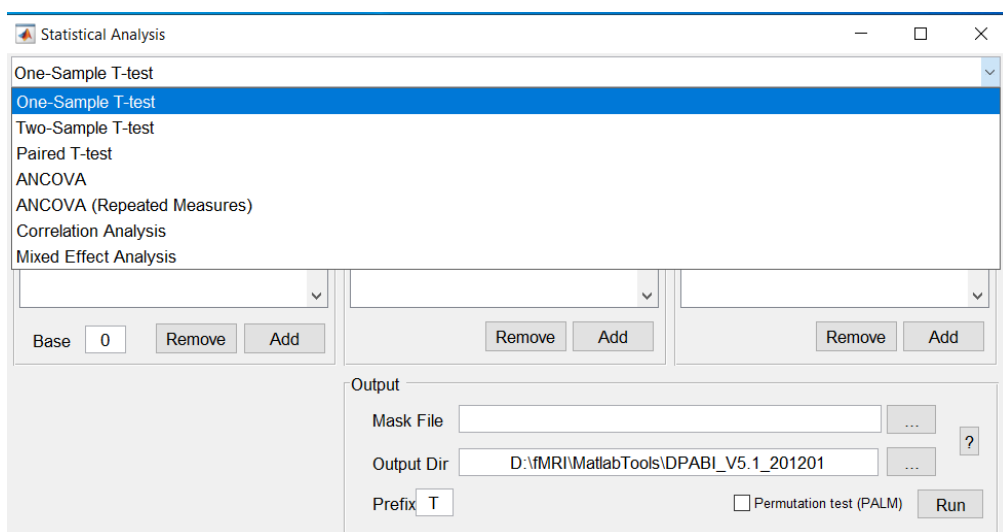
STANDARDIZATION

Modul standardizace je schopen aplikovat na vybranou skupinu snímků různé standardizační přístupy pro snížení dopadu obtěžujících variací. Lze aplikovat tyto metody standardizace: průměrná regrese, standardní odchylka (SD), logaritmická SD regrese, z-standardizace, dělení průměrem, výpočet mediánu, rozdělení do kategorií, kvantitativní standardizace či fitování Gaussovou funkcí.

STATISTICAL ANALYSIS

V programu DPABI lze provádět statistickou analýzu s možností výběru různých typů testování, viz obrázek č. 13. Většina podobných neuroimagingových studií využívá dvou vzorkový t-test (Two-Sample t-test) po provedení ANOVA/ANCOVA (Analysis of variance/Analysis of covariance). Dvou vzorkový t-test se obvykle používá pro porovnání dvou skupin pacientů a ANOVA pro potvrzení existujícího rozdílu mezi 3 skupinami. ANCOVA je verze ANOVA s použitím kovariátů – například věk, pohlaví, atrofie mozku, stupeň vzdělání a jiné.

Pro statistickou analýzu by bylo možné využít i možnost Mixed Effect Analysis, ale byla by zbytečně příliš náročná. Párový test (Paired test) se využívá například pro zjištění rozdílu před a po operaci u jednoho pacienta.



Obrázek č. 13 Vstupní tabulka modulu Statistical Analysis.

Tento modul po zadání vstupních dat provede výpočet pro požadované testování. Vstupními daty jsou vypočtené parametry v rámci DPARSF pro vybrané skupiny a soubory s kovariáty pro vybrané skupiny. Posledním krokem je volba složky, do níž mají být výsledky umístěny.

VIEWER

Prohlížení původních obrazů i výsledných obrazů je umožněno v modulu VIEWER. Kromě samotného zobrazení vybraného obrazu, je zde možné vybrat požadovanou hladinu významnosti, na které chceme vidět rozdíly ve výsledcích statistické analýzy. Poskytuje také anatomický atlas, tudíž i laik dle pozice na snímku z popisku zjistí přesnou anatomickou oblast.

Uživatel si v tomto modulu může měnit barevnou škálu, nastavit si požadovanou velikost klastru, vygenerovat si informace o klastrech, aplikovat předdefinovanou korekci pro mnohonásobné testování či vytvořit obrázek s vybranými významnými řezy (př. 4x4 pouze koronární řezy, ...).

Výsledkem voxel by voxel detekčních metod jsou statistické parametrické mapy, které obsahují v každém bodě (voxelu) hodnotu statistiky z provedeného testování. Aby byla mapa hodnotitelná, je nutné stanovit požadovanou hladinu významnosti každého voxelu (prahovat ji).

Pro pochopení problémů mnohonásobného testování je důležité zamýšlení se nad důsledky standardních statistických testů. Budeme-li mít příklad, kde se bude porovnávat výška mezi dvěma skupinami dospělých, basketbalistek a gymnastek, provedeme pro porovnání výšek mezi skupinami t-test. Výsledkem t-testu bude například, že se výšky liší na úrovni $p < 0,05$. Hladina $p < 0,05$ nám říká, že 5 % výšek se nebude lišit, ale zbývajících 95 % bude odlišných. Provedeme-li tento test na skupině 20 basketbalistek a gymnastek z různých zemí, pokaždé získáme významný rozdíl na $p < 0,05$. Dle statistiky není možné předpokládat, že v každé zemi existuje výškový rozdíl mezi danými skupinami. Pokaždé, když provedeme tento test, existuje 5 % šance, že bude nalezen falešně pozitivní rozdíl. Provedeme-li test 20 krát, pak bude pravděpodobně jeden z těchto testů falešně pozitivní, ale nemusí být patrné který. Pravděpodobnost falešně pozitivního výsledku roste s navyšujícím se počtem testovaných hypotéz. [30][31]

U neuroimangu je tento problém zásadní a v literatuře se označuje jako problém násobného testování hypotéz (Multiple testing problem). V případě, že máme 10 000 voxelů na snímku a použijeme nekorigovanou hladinu $p < 0,05$, bude zjištěno 500 významných voxelů. Je pravdou, že 500 významných voxelů se jeví jako hodně, než si uvědomíme, že je to přesně to číslo, které lze očekávat i za předpokladu, že na datech nebude žádný významný rozdíl. Chceme-li zjistit, jak skutečně mozek funguje, nikoliv interpretaci náhodného šumu, je zapotřebí se zaměřit na skutečné rozdíly v datech. Na to se využívá **korekce pro mnohonásobná testování (Correction for multiple testing)**. [12][30][31]

Kontrola nad falešně pozitivními výsledky spočívá v tom, že pracovník má nějakou představu o tom, jaká je pravděpodobnost falešně pozitivního výsledku. Bude-li proveden pouze jeden t-test, hodnota pravděpodobnosti falešně pozitivního výsledku se bude odvíjet od nastaveného prahu p . V případě $p < 0,05$ je pravděpodobnost falešně pozitivního výsledku 5 %. V případě provedení deseti takových testů se pravděpodobnost falešně pozitivního výsledku zvyšuje na 50 %. Pravděpodobnost falešně pozitivního výsledku závisí na prahu p a počtu srovnání. Při zobrazování mozku není často počet srovnání uveden. Při známé prahové hodnotě a neznámém počtu voxelů (srovnání) se počet falešně pozitivních případů může lišit. Je důležité zohlednit tyto rozdíly. [12][30][31]

Data z neuroimagingu se od „standardních“ dat liší prostorovou korelací, což znamená, že v případě 10 000 voxelů není prováděno 10 000 nezávislých testů, ale méně v závislosti na prostorové korelaci těchto dat. Prostorová korelace je něco jako plynulost, přičemž hladší data vykazují více prostorové korelace. Je to částečně závislé i na vyhlazení aplikovaném v rámci předzpracování. [31]

Pro opravu násobného testování se využívají především korekce vycházející ze dvou základních principů. Prvním principem je **FWE korekce (Family-wise error)**, která sleduje pravděpodobnost výskytu falešně pozitivních výsledků v celém objemu, a patří sem například Bonferroniho korekce nebo teorie náhodných polí. Druhým principem je **FDR korekce (False discovery rate)**, která sleduje poměrné množství falešně pozitivních výsledků. [12][30][31]

Bonferroniho korekce je jedním ze standardních přístupů k opravě a je poměrně jednoduchá. Míru falešně pozitivních výsledků, obvykle na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ nebo $0,01$ (či stejném prahu p), vydělí počtem srovnání nebo v neuroimagingu počtem voxelů. Bonferroniho korekce se obvykle nepoužívá při analýzách celého mozku, ale spíše jako schůdná možnost kontrolovat menší počet oblastí zájmu. Je to nejpřísnější metoda a je při ní náročné dosáhnout statisticky významného výsledku při vyšším počtu provedených testů. [30][31]

Teorie náhodných polí, neboli Random field theory (RFT), se zakládá na myšlence, že pokud se obraz skládá z náhodného gaussovského šumu, lze určit, zda je výška vrcholu (voxel) vyšší nebo velikost shluku větší než se předpokládalo. Pro možnost využití této korekce je zapotřebí získaná data vyhladit. Vyhlazení by mělo být alespoň 3 krát větší než velikost voxelu. Tuto metodu využívá SPM. [12][31]

Míra falešných objevů (FDR), předpokládá, že je znám podíl falešně pozitivních výsledků. Při FWE-korigovaném prahu $p < 0,05$, je pravděpodobnost 5 %, že jakýkoliv voxel bude falešně pozitivní. Používáním FDR-korigované prahové hodnoty $q < 0,05$ očekáváme 5 % falešně pozitivních výsledků. Vhodnější je topologická FDR, kdy se pomocí FDR řídí počet falešně pozitivních klastrů, nikoliv voxelů. Tuto metodu také využívá SPM. [31]

Existují ještě další parametrické korekce jako například Scheffého nebo Tukeyho, ale v rámci této práce není možné uvést všechny. Někdy se používají neparametrické (permutační) testy, které jsou náročné na procesor a poskytují poměrně málo informací. Jsou jimi například Steelova či Dwasseho korekce. Jsou využívány v SPM a FSL. Při použití jakékoliv z těchto uvedených korekcí je stanoven přísnější (nižší) práh a pouze prahovaná statistická mapa je považována za výsledek. V případech, kdy není využívána korekce se většinou volí přísnější práh $p = 0,001$. [12][30][31]

V rámci Viewer lze vybrat přednastavenou FDR korekci, manuálně provést Bonferroniho korekci, klastrovou analýzu či si nastavit libovolný nekorigovaný práh.

3 Cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo analyzovat rozdíly ve fMRI v klidovém stavu mezi pacienty s Parkinsonovou chorobou, pacienty trpícími poruchou REM spánku a zdravými kontrolami. Nalezené rozdíly mohou přispět k časně diagnostice nástupu PD.

V rámci diplomové práce bylo důležité splnit dílčí úkoly. Nejdříve bylo nutné se seznámit s problematikou a objasnit současnou situaci. Dále bylo zapotřebí naučit se pracovat v programovacím prostředí MATLAB s doplňkovými knihovnami SPM 12 a DPABI. Obě tyto knihovny lze použít k předzpracování a statistické analýze snímků, přičemž tato práce se podrobněji věnuje doplňkové knihovně DPABI. Prvním dílčím úkolem bylo získat snímky pacientů. Snímky nám byly poskytnuty Neurologickou klinikou 1. LF UK a VFN v Praze, konkrétně T1 vážené snímky poskytující informace o anatomii a snímky EPI poskytující informace o funkci. Druhým dílčím úkolem bylo provést předzpracování snímků. Třetím dílčím úkolem bylo vhodně zvolit námi sledovaný fMRI parametr. Posledním dílčím úkolem bylo provést statistické vyhodnocení mezi sledovanými skupinami. Výsledky měly být poskytnuty lékařům k dalšímu vyhodnocení a pro srovnání s jejich studií.

4 Metody

4.1 Informace o subjektech

Data byla poskytnuta Neurologickou klinikou VFN a 1. LF UK v Praze. Celkem bylo vybráno 167 pacientů ze tří skupin – NORM, RBD a PD. Skupina NORM představuje zdravé lidi, skupina RBD představuje pacienty trpící poruchou chování v REM spánku a PD představuje skupinu pacientů s Parkinsonovou chorobou. Ve skupině NORM bylo vybráno celkem 50 pacientů, z čehož bylo 12 žen v průměrném věku $58 \pm 9,25$ let (rozmezí 46-71 let) a 38 mužů v průměrném věku $64 \pm 8,84$ let (rozmezí 47-85 let). Ve skupině RBD bylo vybráno celkem 57 pacientů, z čehož bylo 10 žen v průměrném věku $65 \pm 6,75$ let (rozmezí 50-73 let) a 47 mužů v průměrném věku $65 \pm 5,95$ let (rozmezí 46-75 let). Ve skupině PD bylo vybráno celkem 60 pacientů, z čehož bylo 20 žen v průměrném věku $63 \pm 11,4$ let (rozmezí 42-80 let) a 40 mužů v průměrném věku $63 \pm 10,07$ let (rozmezí 41-80 let). Přesné rozložení věku v tabulce č. 2. Pacienti jsou bez medikace, ještě neléčení, tzv. drug-naive.

Tabulka č. 2 Tabulka rozložení věku a pohlaví v rámci zkoumaných skupin.

skupina	věk v rámci skupiny	pohlaví	
		muži	ženy
NORM	40-50 let	2	3
	51-60 let	13	5
	61-70 let	16	3
	71+ let	7	1
	počet celkem	38	12
	průměrný věk v letech	64	58
	směr. odch. v letech	8,84	9,25
RBD	40-50 let	2	1
	51-60 let	6	1
	61-70 let	33	6
	71+ let	6	2
	počet celkem	47	10
	průměrný věk v letech	65	65
	směr. odch. v letech	5,95	6,75
PD	40-50 let	6	3
	51-60 let	8	5
	61-70 let	14	6
	71+ let	12	6
	počet celkem	40	20
	průměrný věk v letech	63	63
	směr. odch. v letech	10,07	11,4

Získaná data byla zcela anonymní, pacienti byli uvedeni pod zkratkou skupiny a číslem (př. NORM01, PD01 či RBD003). Informovaný souhlas byl získán od každého pacienta.

4.2 Protokol fMRI

Data byla získána prostřednictvím skeneru SIEMENS MR HEADER 3T na Neurologické klinice VFN a 1.LF UK v Praze. Pacient byl uložen na záda s hlavou pohodlně upevněnou v hlavové cívce, aby byl minimalizován pohyb hlavy. Během snímání byl pacient požádán, aby byl co nejvíce nehybný a pokusil se nemyslet systematicky.

Funkční obrazy byly získány pomocí sekvence EPI s následujícími parametry: akviziční typ 2D, počet řezů = 30, tloušťka řezu = 3 mm, mezera = 3,45 mm, rozlišení = 64 x 64 x 30, repetiční čas (TR) = 2 000 ms, TE = 30 ms, úhel natočení = 90°, zorné pole (FOV) = 1152 x 1152 mm a velikost voxelu = 3 x 3 x 3,45 mm a časových bodů = 304.

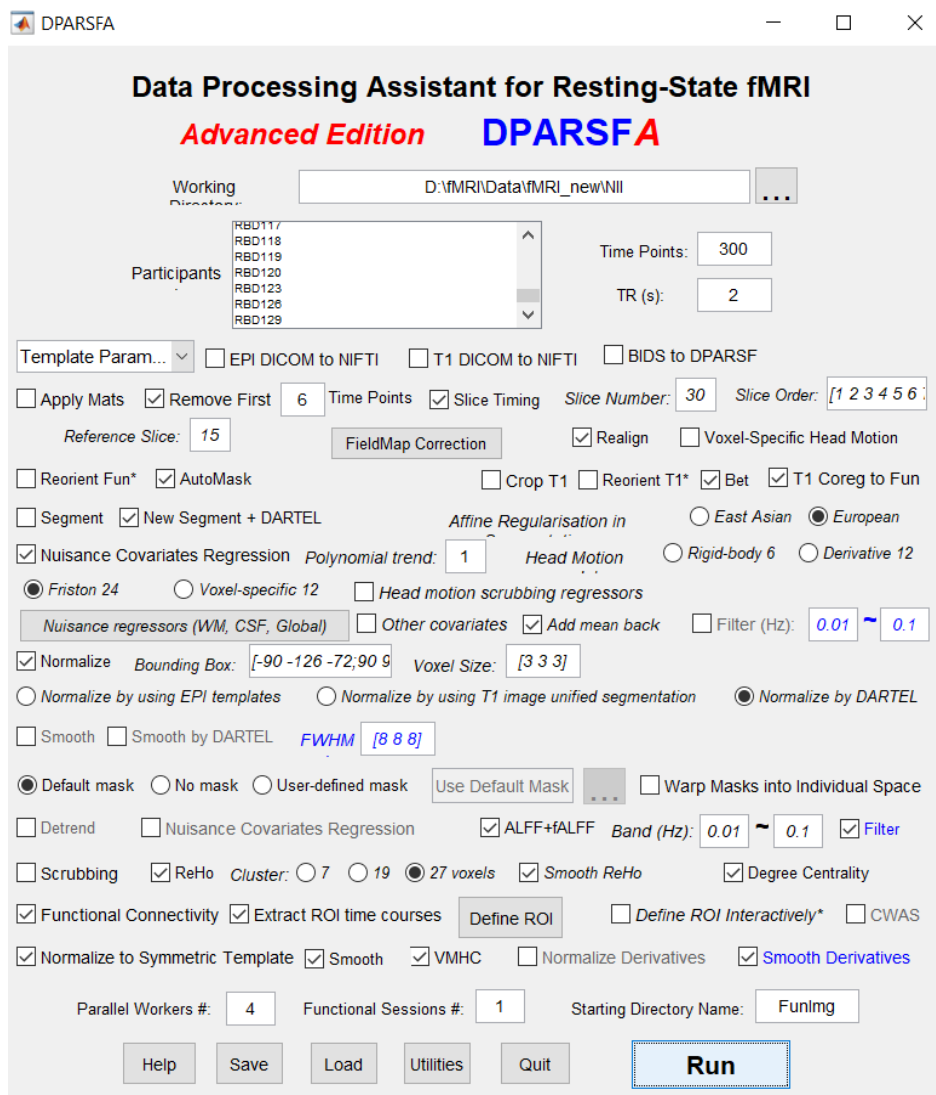
Strukturální T1 obrazy byly získány pomocí sekvence GE,IR s následujícími parametry: akviziční typ 3D, počet řezů = 176, tloušťka řezu = 1 mm, rozlišení = 192 x 224 x 176, repetiční čas (TR) = 2 200 ms, TE = 2,43 ms, úhel natočení = 8°, zorné pole (FOV) = 197 x 230 mm a velikost voxelu = 1,027 x 1,027 x 1 mm.

4.3 Konkrétní nastavení v rámci DPABI

Nejprve byly vytvořeny 2 složky – FunImg a T1Img. Do složky FunImg byly umístěny všechny získané funkční snímky a do složky T1Img byly umístěny všechny získané strukturální T1 snímky.

DPARSF

Získaná data byla ve formátu NIfTI, což je možné poznat skrze příponu *.nii, po odečtu prvních 4 časových bodů. Obrazy nebylo za těchto okolností nutno převádět a byly pouze načteny ze složky FunImg, kde byly umístěny. Následující popis nastavení jednotlivých parametrů je viditelný na obrázku č. 14.



Obrázek č. 14 Konkrétní nastavení zpracování v rámci DPARSFA.

Byly nastaveny tyto parametry pro zpracování: Time Points = 300, TR = 2 s, Remove First Time Points = 6, Slice Number = 30, Slice Order = [1 2 3 ... 28 29 30], Reference Slice = 15 a FWHM = [8 8 8].

Byly zaškrtnuty tyto možnosti: Slice Timing, Realign, AutoMask, Bet, T1 coreg to Fun, New Segment + DARTEL, Affine Regularisation in European, Nuisance Covariates Regression, Head Motion Friston 24, Add mean back, Normalize, Normalize by DARTEL, Default Mask.

Pro úplnost uvádím vysvětlení zaškrtnutých možností. Slice Timing a Realign byly popsány v rámci teorie. Auto Mask provádí kontrolu rozsahu EPI a vygeneruje masku skupiny. Bet umožňuje odříznutí oblasti skalpu, což zvyšuje přesnost registrace. T1 coreg to Fun provádí přiřazení, neboli koregistraci, T1 obrazu k odpovídajícímu funkčnímu obrazu. New Segment + DARTEL provádí rozdělení, neboli segmentaci, obrazu na šedou hmotu, bílou hmotu a mozkomíšní mok. Affine Regularisation in East Asian/ European je parametr, který provádí úpravu snímků na šablonu pro danou rasu. Nuisance Covariates Regression je položka, která odstraní kovariáty šumu v celém objemu.

Polynomial trend je parametr, který udává, jaká křivka bude pro regresi užita. Hodnota 1 odpovídá lineárnímu trendu. Head Motion je funkce, která upravuje parametry pohybu hlavy. Nejvhodnější a aktuálně nepoužívanější je model Friston 24. Modely Rigid-body 6 a Derivative 12 jsou zastaralé a model Voxel-specific vypracuje velký objem dat, které nepotřebujeme. Add mean back je možnost, kterou je vhodné zaškrtnout v případě, že chceme provést analýzu celého mozku (parametr FC). Pokud bychom to nezaškrtnuli a udělali analýzu celého obrazu, nebudeme mít výsledný žádný obraz (šedé čtverce nebo barevné výpadky obrazu).

Normalizace pomocí DARTEL je nepoužívanější. Strukturální obraz je porovnán s prostorem funkčního obrazu, poté je provedeno rozdělení obrazu na bílou, šedou hmotu a mozkomíšní mok a vytvořena matice. Následně je vygenerována skupinová šablona a snímky standardizovány na MNI prostor. Default mask znamená, že výpočet bude proveden dle apriorní šablony.

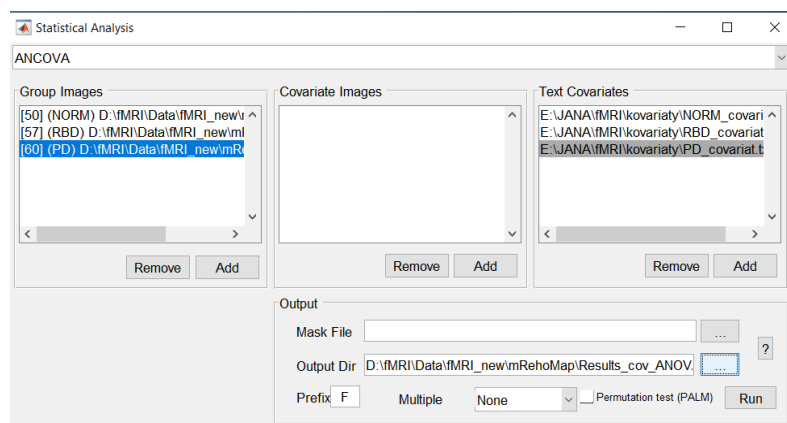
Byl zaškrtnut výpočet těchto parametrů: ALFF + fALFF, ReHo, Smooth ReHo, Degree Centrality, Functional Connectivity, Extract ROI time Courses, Normalize to Symetric Template, Smooth, VMHC, Smooth Derivatives. A následně byl spuštěn výpočet tlačítkem Run.

STATISTICAL ANALYSIS

Výsledky výpočtu každého parametru byly uloženy do podsložky ResultsS v rámci složky FunImg. Ve složce ResultsS byly uloženy automaticky do vlastní složky pod názvem daného parametru. Pro následnou analýzu byly použity výsledky ze složky smReHo, které byly pro usnadnění další práce zkopírovány do nové složky se stejným názvem. Ve složce smReHo byla uložena data, u nichž bylo KCC každého voxelu vyděleno průměrným KCC celého mozku pro získání normalizované mapy ReHo. Takto získaná mapa ReHo každého pacienta (167 map ReHo) byla vyhlazena pomocí Gaussovského filtru (FWHM [8 8 8]).

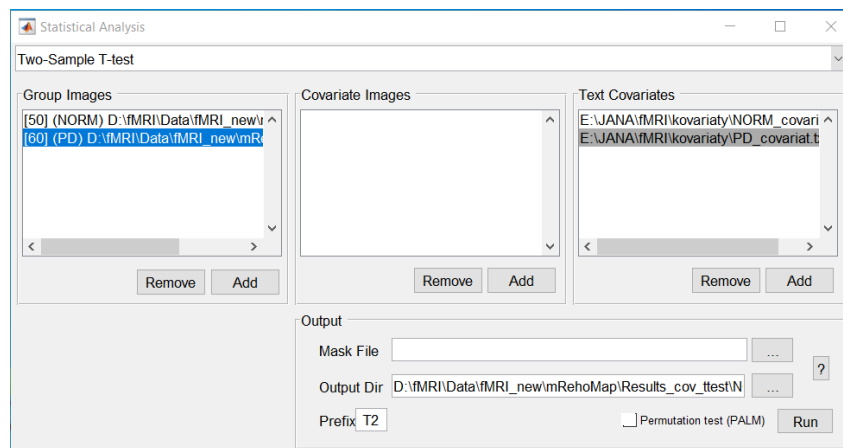
Následně byli mapy pacientů v rámci složky smReHo rozděleny do tří složek s názvy NORM, RBD a PD. Pro další zpracování byly do této složky umístěny předpřipravené textové soubory s kovariáty věku a pohlaví pro každou skupinu. Následně byly vytvořeny složky ANCOVA a 2T test. V rámci složky 2T_test byly vytvořeny podsložky NORM_RBD, RBD_PD a NORM_PD.

Do vstupní tabulky modulu Statistical Analysis při výběru testování ANCOVA byly načteny všechny 3 složky v pořadí NORM, RBD, PD. Dále byly načteny kovariáty v pořadí NORM_cov, RBD_cov, PD_cov. Jako poslední krok byla vybrána cílová složka – předpřipravená ANCOVA.



Obrázek č. 15 Tabulka modulu Statistical Analysis se zadanými vstupními daty pro ANCOVA.

Výpočet dvouzorkového t-testu byl prováděn na třikrát, vždy pro porovnání dvou skupin. Nejprve byla porovnáována ReHo skupin NORM a RBD s jejich kovariáty, poté NORM a PD s jejich kovariáty a nakonec RBD a PD s jejich kovariáty. Při zadávání vstupních dat i kovariátů bylo důležité zachovat pořadí NORM-RBD-PD. Výsledek testování mezi danými skupinami byl uložen do předpřipravené složky v rámci 2T-test s jejich názvem, př. pro srovnání NORM a PD do složky NORM_PD.



Obrázek č. 16 Tabulka modulu Statistical Analysis se zadanými vstupními daty pro dvouzorkový t-test.

VIEWER

Výsledky z modulu Statistical Analysis byly otevřeny v modulu Viewer. Pro srovnání byly vytvořeny výsledné aktivační mapy pro nekorigovaný práh $p = 0,001$, aktivační mapy po aplikaci Bonferroniho korekce a aktivační mapy po aplikaci FDR. Tyto korekce byly aplikovány na výsledky dvouzorkových t-testů, na ANCOVU byl použit pouze práh $p = 0,001$.

5 Výsledky

V této kapitole jsou uvedeny výsledky mé práce. Hlavním výsledkem této práce je především samotný proces zpracování, který může posloužit lékařům jako návod při zpracování dalších parametrů nebo pro porovnání výsledků zpracování v SPM. Výsledky zpracování byly poskytnuty neurologům k další analýze a interpretace výsledků bude ponechána na nich. Výsledné obrazy jsou předloženy níže, zároveň s tabulkami oblastí, kde byly nalezeny statisticky významné rozdíly.

Výsledky zpracování byly podrobeny statistickému testování – ANCOVA pro potvrzení rozdílů všemi skupinami a dvouvzorkovému t-testu pro nalezení konkrétních rozdílů mezi dvěma skupinami. Jak již bylo dříve uvedeno, testovány byly skupiny NORM, RBD a PD s ohledem na věk a pohlaví. Statické vyhodnocení bylo provedeno pouze pro parametr ReHo.

Testování ANCOVA potvrdilo existenci rozdílů ve vypočtené regionální homogenitě mezi všemi třemi skupinami subjektů.

Dvouvzorkový t-test

Pro nalezení rozdílů byl mezi dvěma skupinami vždy proveden dvouvzorkový t-test, který bylo zapotřebí korigovat pro získání statisticky významných rozdílů s omezením falešně pozitivních výsledků. Toto testování bylo vystaveno třem typům korekcí – klastrové analýze, FDR korekci a Bonferroniho korekci. Po aplikaci těchto korekcí nebyly mezi některými skupinami nalezeny rozdíly, pro přehlednost uvedeno v tabulce č. 3.

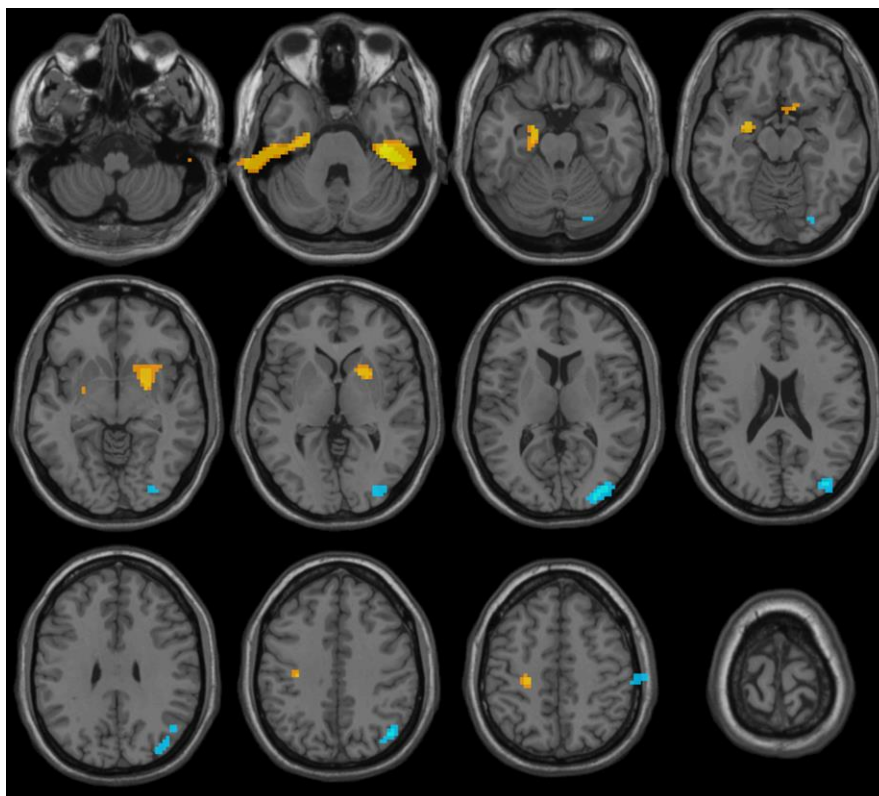
Tabulka č. 3 Srovnání aplikovaných korekcí mnohonásobného testování

Testovaná dvojice skupin	Klastrová analýza	FDR	Bonferroniho korekce
NORM_PD	Ano	Ano	Ne
NORM_RBD	Ano	Ano	Ano
RBD_PD	Ano	Ne	Ne

a) Klastrová analýza

Výsledné obrazy klastrové analýzy mezi dvojicemi skupin byly provedeny při nastaveném prahu $p = 0,001$ a velikosti klastru > 95 voxelů. Tato korekce byla použita na přání lékařů a pro možnost porovnání s jinou studií [23].

Obrázek č. 17 zobrazuje rozdíly v ReHo na axiálních řezech mozku mezi skupinou zdravých kontrol (NORM) a pacienty s Parkinsonovou chorobou bez léčby (PD). V tabulce č. 4 jsou následně uvedeny nalezené klastry z předchozího obrázku. Bylo nalezeno celkem 6 klastrů, přičemž v klastrech 3 a 6 nabývalo t-skóre záporných hodnoty a v klastrech 1, 2, 4 a 5 nabývalo t-skóre kladných hodnot. Kladné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny teplými odstíny (červená až žlutá) a představují v tomto případě oblasti, kde zdravé kontroly vykazovaly vyšší hodnoty regionální homogenity než pacienti s PD. Záporné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny studenými odstíny (tmavě modrá až světle modrá) a představují v tomto případě oblasti, kde zdravé kontroly vykazovaly nižší hodnoty regionální homogenity než pacienti s PD.



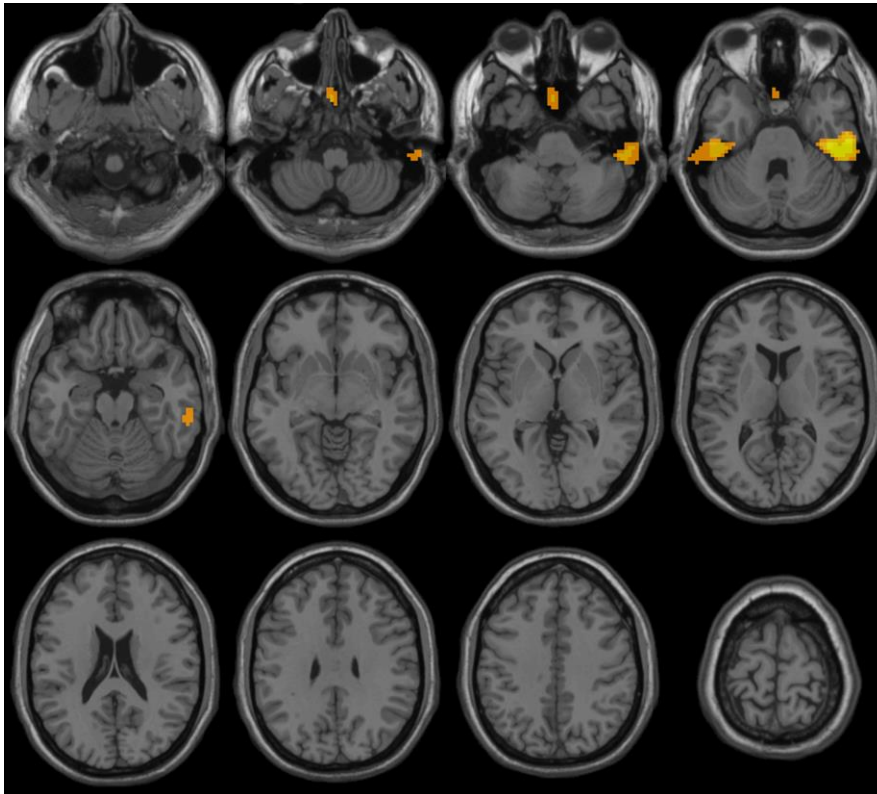
Obrázek č. 17 Rozdíly v ReHo mezi NORM a PD na axiálních řezech

Tabulka č. 4 Rozdíly ReHo mezi NORM a PD.

V tabulce byly ponechány původní názvy anatomických oblastí a do závorky byl uveden počet voxelů.

Klastr	Velikost klastru	t-skóre	MNI		
			x	y	z
Cluster 1	317	5,4741	39	27	30
<p><i>Right Cerebrum (99), Temporal Lobe (73), Fusiform R (58), Gray Matter (49), Temporal Inf R (46), Brodmann Area 20 (40), White Matter (37), Fusiform Gyrus (33), Inferior Temporal Gyrus (33), Limbic Lobe (26), Parahippocampa Gyrus (22), Cerebelum 6 R (9), Brodman Area 36 (8), Cerebelum Crus1 R (8), Sub-Gyral (6), ParaHippocampal R (5), Uncus (4), Cerebelum Crus2 R (3), Cerebelum 4 5 R (1), Brodman Area 35 (1)</i></p>					
Cluster 2	364	4,3419	-27	-6	-12
<p><i>Left Cerebrum (151), Limbic Lobe (97), Parahippocampa Gyrus (80), Gray Matter (68), White Matter (66), Fusiform L (38), ParaHippocampal L (32), Temporal Lobe (31), Brodmann Area 20 (29), Temporal Inf L (28), Sub-lobar (25), Hippocampus L (25), Extra-Nuclear (19), Uncus (16), Inferior Temporal Gyrus (15), Fusiform Gyrus (15), Amygdala L (15), Amygdala (12), Brodman Area 35 (10), Brodman Area (288), Brodman Area 36 (5), Cerebro-Spinal Fluid (4), Lateral Ventricle (4), Putamen L (3), Putamen (2), Lentiform nucleus (2), Brodman Area 34 (1), Hippocampus (1)</i></p>					
Cluster 3	261	-5,0102	45	-66	36
<p><i>Right Cerebrum (258), Occipital Mid R (182), Occipital Lobe (169), White Matter (145), Middle Occipital Gyrus (126), Gray Matter (101), Brodmann Area 19 (55), Parietal Lobe (53), Angular R (42), Temporal Lobe (36), Angular Gyrus (29), Middle Temporal Gyrus (27), Superior Occipital Gyrus (25), Brodmann Area 39 (23), Brodmann Area 18 (20), Precuneus (18), Inferior Parietal Lobule (14), Fusiform R (11), Occipital Inf R (9), Sub-Gyral (7), Fusiform Gyrus (7), Cerebelum Crus1 R (5), Inferior Occipital Gyrus (3), Occipital Sup R (2), Lingual Gyrus (2), Cerebelum 6 R (2), Brodman Area 40 (1)</i></p>					
Cluster 4	123	4,4506	24	0	-9
<p><i>Right Cerebrum (123), Sub-lobar (109), Putamen R (76), Gray Matter (69), Lentiformis Nucleus (61), Putamen (60), White Matter (52), Extra-Nuclear (40), Frontal Lobe (14), Subcallosal Gyrus (12), Pallidum R (6), Caudate R (6), Insula (4), Brodmann Area 25 (4), Olfactory R (4), Clastrum (3), Amygdala R (2), Inferior Frontal Gyrus (1), Medial Frontal Gyrus (1), Insula R (1), Lateral Globus Pallidus (1)</i></p>					
Cluster 5	108	4,3826	-24	-27	51
<p><i>Left Cerebrum (108), Frontal Lobe (91), White Matter (83), Precentral Gyrus (42), Sub-Gyral (38), Precentral L (28), Gray Matter (25), Parietal Lobe (17), Postcentral Gyrus (11), Supp Motor Area L (10), Brodmann Area 3 (9), Medial Frontal gyrus (9), Brodmann Area 4 (8), Brodmann Area 6 (8), Middle Frontal Gyrus (8), Postcentral L (4), Paracentral Lobule L (2)</i></p>					
Cluster 6	148	-3,9361	63	-27	54
<p><i>SupraMarginal R (10), Right Cerebrum (3), Parietal Lobe (3), Postcentral Gyrus (3), Gray Matter (2), Brodmann Area 40 (2), Parietal Inf R (2)</i></p>					

Obrázek č. 18 zobrazuje rozdíly v ReHo mezi skupinou zdravých kontrol (NORM) a pacienty s poruchou chování v REM spánku (RBD). V tabulce č. 5 jsou následně uvedeny nalezené klastry z předchozího obrázku. Byly nalezeny 3 klastry a v každém klastru nabývalo t-skóre kladných hodnot. Kladné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny teplými odstíny (červená až žlutá) a představují v tomto případě oblasti, kde zdravé kontroly vykazovaly vyšší hodnoty regionální homogenity než pacienti s RBD.



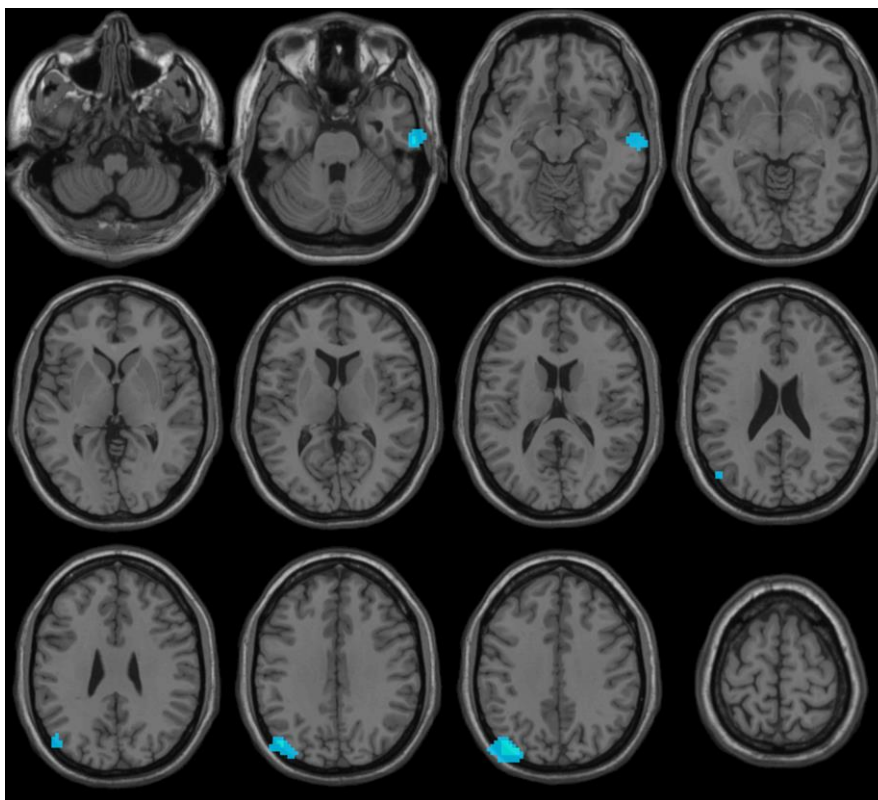
Obrázek č. 18 Rozdíly v ReHo mezi NORM a RBD na axiálních řezech.

Tabulka č. 5 Rozdíly ReHo mezi NORM a RBD.

V tabulce byly ponechány původní názvy anatomických oblastí a do závorky byl uveden počet voxelů.

Klastr	Velikost klastru	t-skóre	MNI		
			x	y	z
Cluster 1	426	6,1665	45	-27	-30
<i>Right Cerebrum (132), Temporal Lobe (116), Temporal Inf R (108), Inferior Temporal Gyrus (64), Gray Matter (63), Brodmann Area 20 (56), White Matter (54), Fusiform R (45), Fusiform Gyrus(44), Limbic Lobe (16), Parahippocampa Gyrus (16), Sub-Gyral (7), Brodmann Area 36 (6), Cerebellum 6 R (2), Cerebellum Crus1 R (2), Parahippocampal R (1), Brodmann Area 35 (1)</i>					
Cluster 2	107	4,2225	-3	15	-48
<i>Gray Matter (1), Left Cerebrum (1), Rectal Gyrus (1), Brodmann Area 11 (1), Frontal Lobe (1)</i>					
Cluster 3	161	4,7038	-48	-27	-30
<i>Temporal Lobe (59), Temporal Inf L (58), Left Cerebrum (57), Gray Matter (29), Brodmann Area 20 (28), Fusiform Gyrus (28), Inferior Temporal Gyrus (25), White Matter (22), Sub-Gyral (3), Fusiform L (1), Limbic Lobe (1), Brodmann Area 37 (1), Parahippocampa Gyrus (1)</i>					

Obrázek č. 19 zobrazuje rozdíly v ReHo mezi pacienty s poruchou chování v REM spánku (RBD) a pacienty s Parkinsonovou chorobou bez léčby (PD). V tabulce č. 6 jsou následně uvedeny nalezené klastry z předchozího obrázku. Byly nalezeny 2 klastry a v obou klastrech nabývalo t-skóre záporných hodnot. Záporné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny studenými odstíny (tmavě modrá až světle modrá) a představují v tomto případě oblasti, kde pacienti s RBD vykazovaly nižší hodnoty regionální homogenity než pacienti s PD.



Obrázek č. 19 Rozdíly v ReHo mezi RBD a PD na axiálních řezech.

Tabulka č. 6 Rozdíly ReHo mezi RBD a PD.

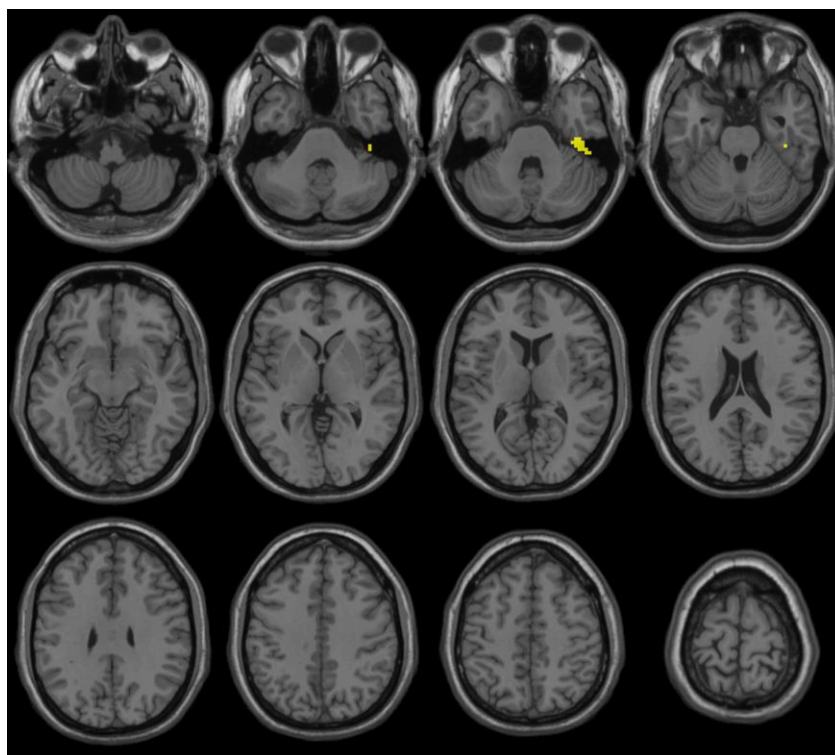
V tabulce byly ponechány původní názvy anatomických oblastí a do závorky byl uveden počet voxelů.

Klastr	Velikost klastru	t-skóre	MNI		
			x	y	z
Cluster 1	320	-4,6449	66	-21	-18
<i>Temporal Mid R (96), Right Cerebrum (88), Temporal Lobe (88), Temporal Inf R (60), Middle Temporal Gyrus (55), Gray Matter (51), Brodmann Area 21 (36), Inferior Temporal Gyrus (26), White Matter (26), Brodmann Area 20 (15), Fusiform Gyrus (7)</i>					
Cluster 2	505	-4,8973	-57	-105	60
<i>Left Cerebrum (62), Parietal Lobe (47), Gray Matter (42), Precuneus (32), Brodmann Area 19 (25), Occipital Mid L (25), Angular L (19), Brodmann Area 39 (17), Angular Gyrus (17), Temporal Lobe (15), White Matter (12), Middle Temporal Gyrus (10), Parietal Inf L (6), Inferior Parietal Lobule (2), Cuneus (1)</i>					

b) FDR korekce

FDR korekce byla provedena pro práh $q = 0,05$. Jedná se o přísnější metodu korekce, vhodnější pro analýzu těchto dat. Po aplikaci FDR korekce nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi skupinou pacientů s poruchou chování v REM spánku a skupinou pacientů s Parkinsonovou chorobou.

Obrázek č. 20 zobrazuje rozdíly v ReHo na axiálních řezech mozku mezi skupinou zdravých kontrol (NORM) a pacienty s Parkinsonovou chorobou bez léčby (PD) po aplikaci FDR korekce. V tabulce č. 7 jsou následně uvedeny nalezené klastry z předchozího obrázku. Byly nalezeny celkem 3 klastry, přičemž v klastrech 2 a 3 nabývalo t-skóre záporných hodnoty a v klastru 1 nabývalo t-skóre kladných hodnot. Kladné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny teplými odstíny (červená až žlutá) a představují v tomto případě oblasti, kde zdravé kontroly vykazovaly vyšší hodnoty regionální homogenity než pacienti s PD. Záporné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny studenými odstíny (tmavě modrá až světle modrá) a představují v tomto případě oblasti, kde zdravé kontroly vykazovaly nižší hodnoty regionální homogenity než pacienti s PD. Bohužel klastry 2 a 3 byly příliš malé a tudíž je nelze na obrázku vidět.



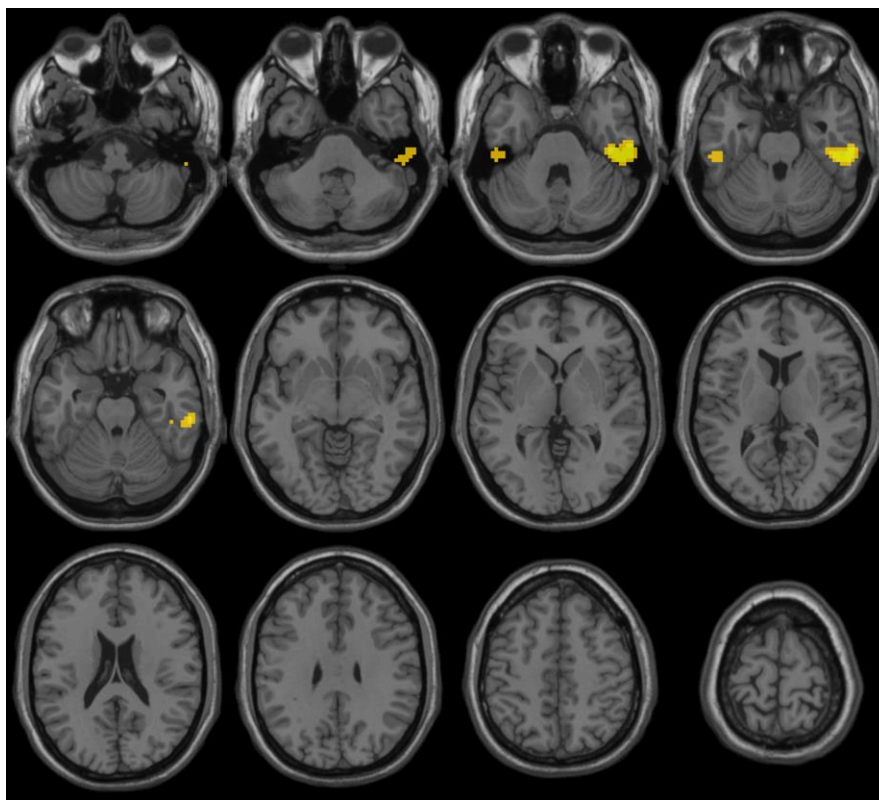
Obrázek č. 20 Rozdíly v ReHo mezi NORM a PD na axiálních řezech po aplikaci FDR korekce s prahem $q = 0,05$.

Tabulka č. 7 Rozdíly ReHo mezi NORM a PD po FDR korekci.

V tabulce byly ponechány původní názvy anatomických oblastí a do závorky byl uveden počet voxelů.

Klastr	Velikost klastru	t-skóre	MNI		
			x	y	z
Cluster 1	28	5,4741	39	-27	-30
<i>Fusiform R (12), Right Cerebrum (5), Temporal Lobe (3), Brodmann Area 20 (3), Gray Matter(3), Limbic Lobe (2), Parahippocampa Gyrus (2), Fusiform Gyrus (2), White Matter (1), Cerebellum 6 R (1), Inferior Temporal Gyrus (1)</i>					
Cluster 2	1	-4,7792	36	-87	6
<i>Gray Matter (1), Middle Occipital Gyrus (1), Occipital Lobe (1), Occipital Mid R (1), Right Cerebrum (1), Brodmann Area 18 (1)</i>					
Cluster 3	2	-5,0102	45	-66	36
<i>Angular Gyrus (2), Angular R (2), Parietal Lobe (2), Right Cerebrum (2), Gray Matter (1), White Matter (1), Brodmann Area 39 (1)</i>					

Obrázek č. 21 zobrazuje rozdíly v ReHo mezi skupinou zdravých kontrol (NORM) a pacienty s poruchou chování v REM spánku (RBD). V tabulce č. 8 jsou následně uvedeny nalezené klastry z předchozího obrázku. Byly nalezeny 3 klastry a v každém klastru nabývalo t-skóre kladných hodnot. Kladné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny teplými odstíny (červená až žlutá) a představují v tomto případě oblasti, kde zdravé kontroly vykazovaly vyšší hodnoty regionální homogenity než pacienti s RBD.



Obrázek č. 21 Rozdíly v ReHo mezi NORM a RBD na axiálních řezech po aplikaci FDR korekce s prahem $q = 0,05$.

Tabulka č. 8 Rozdíly ReHo mezi NORM a RBD po FDR korekci.

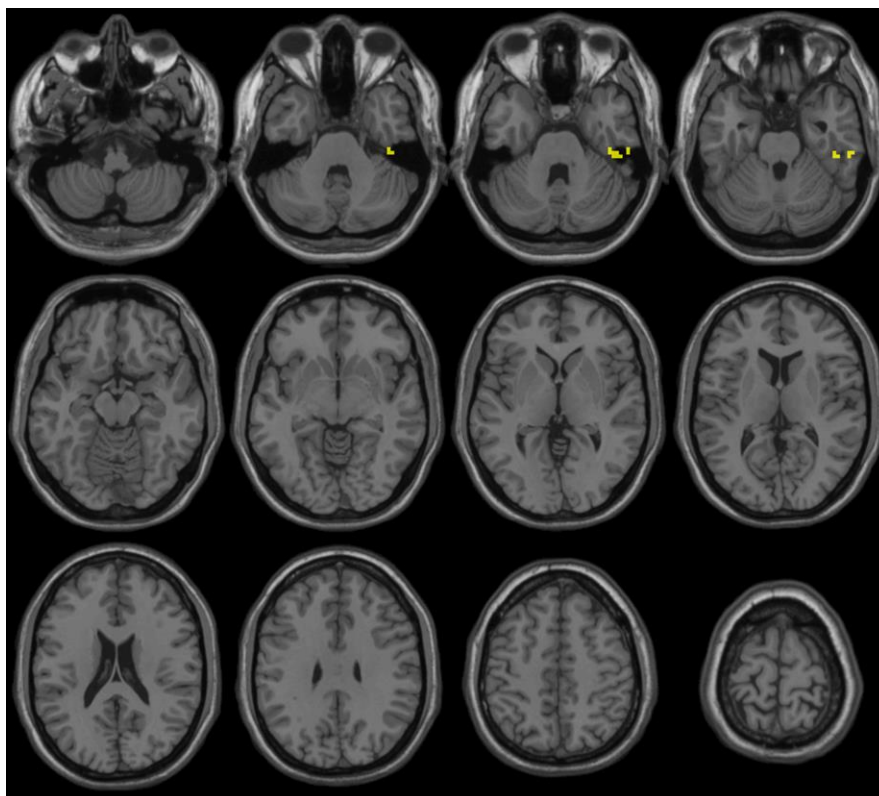
V tabulce byly ponechány původní názvy anatomických oblastí a do závorky byl uveden počet voxelů.

Klastr	Velikost klastru	t-skóre	MNI		
			x	y	z
Cluster 1	204	6,1665	45	-27	-30
<i>Right Cerebrum (64), Temporal Lobe (62), Temporal Inf R (57), Gray Matter (31), Brodmann Area 20 (30), Inferior Temporal Gyrus (28), Fusiform Gyrus (28), White Matter(23), Fusiform R (22), Sub-Gyral (5), Limbic Lobe (2), Parahippocampa Gyrus (2), Cerebelum 6 R (2), Brodmann Area 36 (1)</i>					
Cluster 2	24	4,7038	-48	-27	-30
<i>Temporal Lobe (12), Left Cerebrum (12), Temporal Inf L (11), Fusiform Gyrus (9), Brodmann Area 20 (6), Gray Matter (6), White Matter (4), Inferior Temporal Gyrus (3)</i>					
Cluster 3	1	4,2831	3	-18	45
<i>Cingulum Mid R (1), Frontal Lobe (1), Gray Matter (1), Paracentral Lobule (1), Right Cerebrum (1), Brodmann Area 31 (1)</i>					

c) Bonferroniho korekce

Bonferroniho korekce byla provedena pomocí celkového počtu voxelů (271 633 voxelů) a prahu $p = 0,05$. Z těchto zadaných hodnot byl vypočten výsledný práh $p = 1,84 \cdot 10^{-7}$. Tato korekce je nepřísňší a proto byly zaznamenány statisticky významné rozdíly pouze mezi skupinou zdravých kontrol a pacienty s poruchou chování v REM spánku.

Obrázek č. 22 zobrazuje rozdíly v ReHo mezi skupinou zdravých kontrol (NORM) a pacienty s poruchou chování v REM spánku (RBD) po aplikaci Bonferroniho korekce. V tabulce č. 9 jsou následně uvedeny nalezené klastry z předchozího obrázku. Byly nalezeny 2 klastry a v obou klastrech nabývalo t-skóre kladných hodnot. Kladné hodnoty t-skóre jsou na obrázku znázorněny teplými odstíny (červená až žlutá) a představují v tomto případě oblasti, kde zdravé kontroly vykazovaly vyšší hodnoty regionální homogenity než pacienti s RBD.



Obrázek č. 22 Rozdíly v ReHo mezi NORM a RBD na axiálních řezech po aplikaci Bonferroniho korekce.

Tabulka č. 9 Rozdíly ReHo mezi NORM a RBD po Bonferroniho korekci.

V tabulce byly ponechány původní názvy anatomických oblastí a do závorky byl uveden počet voxelů.

Klastr	Velikost klastru	t-skóre	MNI		
			x	y	z
Cluster 1	13	6,1665	45	-27	-30
<i>Right Cerebrum (5), Temporal Lobe (5), Fusiform R (5), Fusiform Gyrus (4), White Matter(2), Brodmann Area 20 (2), Gray Matter (2), Temporal Inf R (1)</i>					
Cluster 2	5	5,7844	57	-27	-27
<i>Temporal Inf R (4), Temporal Lobe (3), Inferior Temporal Gyrus (3), Right Cerebrum (3), Brodmann Area 20 (2), Gray Matter (2)</i>					

6 Diskuse

Do této práce byla použita data získaná od pacientů z Neurologické kliniky VFN a 1. LF UK v Praze. Celkem byla vybrána data od 167 pacientů ze tří skupin – 50 zdravých kontrol (NORM), 57 pacientů trpících poruchou chování v REM spánku (RBD) a 60 pacientů trpících Parkinsonovou chorobou (PD). Lze říci, že se jedná o větší soubor pacientů, než byl použit ve většině jiných studiích zkoumajících regionální homogenitu u tohoto typu pacientů. Zároveň bylo provedeno málo studií, kde by byla porovnáována data všech tří skupin.

Vzhledem k tomu, že pro aktivační mapy nebyl prozatím stanoven standardní typ korekce, byly výsledné aktivační mapy po dvouvýběrovém t-testu podrobeny třem typům korekcí. Tyto tři typy korekcí byly provedeny záměrně pro možnost srovnání, jak významné jsou dané statistické rozdíly.

Oblasti signifikantních rozdílů v regionální homogenitě na získaných aktivačních mapách se z velké části shodují s oblastmi uváděnými v literatuře. Dle literatury byly očekávány rozdíly v oblasti bazálních ganglií a amygdaly, v suplementární motorické oblasti (senzory-motor cortex, SMC), v temporálním laloku, v parahippokampálním gyru a středním okcipitálním gyru.

Dle studií by skupina zdravých kontrol měla vykazovat vyšší regionální homogenitu (vyšší hodnotu t-skóre) v oblasti bazálních ganglií oproti skupině pacientů s Parkinsonovou chorobou či poruchou chování v REM spánku. Tento předpoklad byl potvrzen. Naopak dle studií by skupina zdravých kontrol měla vykazovat nižší regionální homogenitu (nižší hodnotu t-skóre) v oblasti parahippocampálního gyru oproti skupině pacientů s Parkinsonovou chorobou. Tento předpoklad bohužel nebyl potvrzen, ale dle neurologů může být příčinou, že zkoumaní pacienti byli úplně bez léčby, tzv. drug-naive. Většina studií byla prováděna na pacientech po vysazení léčby nebo na příliš malé skupině pacientů drug-naive.

7 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala především zpracováním a následnou statistickou analýzou získaných dat od pacientů v klidovém stavu vyšetřených funkční magnetickou rezonancí. Cílem bylo provést veškeré zpracování pro získání rozdílů mezi pacienty s Parkinsonovou chorobou, pacienty trpícími poruchou REM spánku a zdravými kontrolami. Nalezené rozdíly byly poskytnuty lékařům k další analýze.

Prvním dílčím úkolem této práce bylo získat data pacientů z Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze a zpracovat poskytnuté informace jako věk a pohlaví do podoby kovariátů. Druhým dílčím úkolem bylo provést předzpracování snímků a vypočítat parametry fMRI (FC, DC, ALFF, fALFF, ReHo). Třetím dílčím úkolem bylo zvolit jeden parametr. V této práci byla jako parametr zvolena regionální homogenita (ReHo). Ve čtvrtém dílčím úkolu bylo zapotřebí tento parametr statisticky analyzovat. Vzhledem k tomu, že zatím nebyla zvolena korekce, která by byla považována za standardní, byly aplikovány 3 typy korekcí pro možnost srovnání ve snaze poukázat na významnost použitého typu korekce. Cíle této práce byly naplněny.

Tato práce měla poskytnout lékařům vypočtené parametry, statisticky vyhodnocený parametr ReHo a návod pro snadnou orientaci v rámci programu DPABI. Tento program by jim mohl částečně usnadnit práci, jelikož je uživatelsky velmi přívětivý, anebo posloužit pro kontrolní zpracování výsledků.

Seznam použité literatury

- [1] Seidl, Z. *Neurologie pro studium i praxi*. 2. přeprac. a dopl. vyd. Praha : Grada, 2015. ISBN 978-80-247-5247-1.
- [2] Seidl, Z. a Vaněčková, M. *Diagnostická radiologie*. Praha : Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4546-6.
- [3] Petrleničová, D., Gmitterová, K. a Benetin, J. *Mechanizmy neurodegenerácie pri Parkinsonovej chorobe*. [Online] 2010. [Citace: 14. leden 2021.] <https://www.csnn.eu/casopisy/ceska-slovenska-neurologie/2010-6/mechanizmy-neurodegeneracie-pri-parkinsonovej-chorobe-33858>.
- [4] Čihák, R. *Anatomie. Třetí, upravené a doplněné vydání. Ilustroval Ivan HELEKAL, ilustroval Jan KACVINSKÝ, ilustroval Stanislav MACHÁČEK*. Praha : Grada, 2016. ISBN 978-80-247-5636-3.
- [5] Nařka, O. a Elišková, M. *Přehled anatomie. Třetí, doplněné a přepracované vydání*. Praha : Galén, 2015. ISBN 978-80-7492-206-0.
- [6] Basal ganglia. Pin on Anatomy. *LINE.17QQ*. [Online] [Citace: 22. únor 2021.] <https://line.17qq.com/articles/qqfkngwwwy.html>.
- [7] Bareš, M. *Nejčastější chyby a omyly v diagnostice a léčbě Parkinsonovy nemoci*. [Online] 2011. [Citace: 14. leden 2021.] <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2011/04/13.pdf>
- [8] Šonka, K. Porucha chování v REM spánku - nozologická jednotka s velkým významem pro neurologii. *Neurologie pro praxi*. 15 (4), 2014.
- [9] Šonka, K. Porucha chování v REM spánku. *Neurologie pro praxi*. 9(5), 2008.

- [10] Pyatigorskaya, N., a další. A review of the use of magnetic resonance imaging in Parkinson's disease. [Online] 2014. [Citace: 21. březen 2021.] <http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav>. DOI: 10.1177/1756285613511507.
- [11] Hlušík, P. a další. Funkční zobrazování mozku pomocí magnetické rezonance v neurologii. *Neurologie pro praxi*. 9(2):83-86., 2008.
- [12] Mikl, M. Výzkumná skupina při LF MU v Brně. *fMRI Brno*. [Online] 2004-2015. [Citace: 5. březen 2021.] <http://fmri.mchmi.com>.
- [13] Orel, M. a Procházka, R. *Výšetření a výzkum mozku: pro psychology, pedagogy a další nelékařské obory*. Praha : Grada, 2017. ISBN 978-80-247-5539-7.
- [14] Seidl, Z., a další. *Radiologie pro studium i praxi*. Praha : Grada, 2012. ISBN 978-80-247-4108-6.
- [15] Chlebus, P., a další. Funkční magnetická rezonance - Úvod do problematiky. *Neurologie pro praxi*. [Online] 2005. [Citace: 11. prosinec 2020.] <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2005/03/03.pdf>.
- [16] Zang, Y., a další. Regional homogeneity approach to fMRI data analysis. [Online] 2004, 22(1). [Citace: 28. březen 2021.] <https://sci-hub.se/10.1016/j.neuroimage.2003.12.030>. ISSN 10538119. DOI:10.1016/j.neuroimage.2003.12.030.
- [17] Marguiles, D. S., Böttger, J. a Long, X. Resting developments: a review of fMRI post-processing methodologies for spontaneous brain activity. [Online] 2010, 23(5-6), 289-307. [Citace: 28. březen 2021.] <https://sci-hub.se/10.1007/s10334-010-0228-5>. ISSN 0968-5243. DOI:10.1007/s10334-010-0228-5.
- [18] Prodoehl, J., Burciu, R. G. a Vaillantcourt, D. E. Resting State Functional Magnetic Resonance Imaging in Parkinson's Disease. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. [Online] 2014, 14(6). [Citace: 20. únor 2021.] <https://sci-hub.se/10.1007/s11910-014-0448-6>. ISSN 1528-4042. DOI: 10.1007/s11910-014-0448-6.

- [19] Zou, Q., a další. An improved approach to detection of amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) for resting-state fMRI: Fractional ALFF. [Online] 172(1), 137-141 2008. [Citace: 18. únor 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165027008002458?via%3Dihub>. ISSN 01650270. DOI:10.1016/j.jneumeth.2008.04.012.
- [20] Yan, Ch. a Zang, Y. DPARSF: a MATLAB toolbox for “pipeline” data analysis of resting-state fMRI. [Online] 2010. [Citace: 13. prosinec 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20577591/>. ISSN 16625137. DOI:10.3389/fnsys.2010.00013.
- [21] Li, Y., a další. Abnormal regional homogeneity in Parkinson's disease: a resting state fMRI study. [Online] 2016. [Citace: 28. březen 2021.] <https://sci-hub.se/10.1016/j.crad.2015.10.006>. DOI:10.1016/j.crad.2015.10.006.
- [22] LI, K., Zhao, H. a Li, Ch. et al. The Relationship between Side of Onset and Cerebral Regional Homogeneity in Parkinson's Disease: A Resting-State fMRI Study. *Parkinson's Disease*. [Online] 2020, 1-8. [Citace: 13. březen 2021.] <https://www.hindawi.com/journals/pd/2020/5146253/>. ISSN 2090-8083. DOI:10.1155/2020/5146253.
- [23] Choe, I., a další. Decreased and increased cerebral regional homogeneity in early Parkinson's disease. *Brain Research*. [Online] 2013, 1527, 230-237. [Citace: 8. březen 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000689931300913X?via%3Dihub>. ISSN 00068993. DOI:10.1016/j.brainres.2013.06.027.
- [24] Phinyomark, A., Ibanez-Marcelo, E. a Petri, G. Resting-State fMRI Functional Connectivity: Big Data Preprocessing Pipelines and Topological Data Analysis. [Online] 2017. [Citace: 23. březen 2021.] <https://sci-hub.se/10.1109/TBDATA.2017.2734883>. DOI:10.1109/tbdata.2017.2734883.
- [25] Yan, Ch. *The R-fMRI Network*. [Online] 2009. [Citace: 25. říjen 2020.] <http://rfmri.org/Course>.

- [26] Yan, Ch., a další. DPABI: Data Processing & Analysis for (Resting-State) Brain Imaging. [Online] 2016. [Citace: 10. prosinec 2020.] <https://link.springer.com/article/10.1007/s12021-016-9299-4>. DOI:10.1007/s12021-016-9299-4.
- [27] Yan, Ch. [DPABI tutorial] DPARSF detailed tutorial notes. *ProgrammerSought*. [Online] 2018. [Citace: 10. listopad 2020.] <https://www.programmersought.com/article/91105152528/>.
- [28] Lu, Ch. Video [2019.04.30 Lesson11-session2]DPABI toolbox - Functional Connectivity. *AlvinLu4016*. [Online] 03. 04 2019. [Citace: 15. listopad 2020.] <https://www.youtube.com/user/AlvinLu4016/videos>.
- [29] Yan, Ch. DPABISurf: A Surface-Based Resting-State fMRI Data Analysis Toolbox. [Online] 02. 08 2019. [Citace: 5. březen 2021.] http://yanlab.psych.ac.cn/Course/V3.0CN/10_DPABISurf.pdf.
- [30] Peelle, J. E. Multiple comparisons and how to deal with them. MRI guide. *jpeele.net*. [Online] 2020. [Citace: 12. duben 2021.] http://jpeelle.net/mri/statistics/multiple_comparisons.html.
- [31] Holčík, J. a Komenda, M. a kol. Matematická biologie: e-learningová učebnice. *Matematická biologie a biomedicína*. [Online] 2015, 1. vydání. [Citace: 15. duben 2021.] <https://portal.matematickabiologie.cz/>. ISBN 978-80-210-8095-9.

Seznam použitých obrázků

Obrázek č. 1 Anatomický obrázek bazálních ganglií. Zdroj: [6]	13
Obrázek č. 2 T2W obraz pacienta s PD. Zdroj: [1].....	16
Obrázek č. 3 Schéma hemodynamické odezvy při aktivaci neuronů. Zdroj: [14]	19
Obrázek č. 4 T1W obraz oblasti BG z fMRI. Zdroj: [13].....	20
Obrázek č. 5 Přehled metod. Zdroj: [18]	22
Obrázek č. 6 Grafické znázornění teorie grafů. Zdroj: [17].....	25
Obrázek č. 7 Úvodní tabulka DPABI s možností výběru požadovaného modulu.	29
Obrázek č. 8 Korekce časování řezů. Zdroj: [12].....	31
Obrázek č. 9 Prostorová normalizace. Zdroj: [12]	32
Obrázek č. 10 Prostorové vyhlazení. Zdroj: [12]	32
Obrázek č. 11 Filtrování časového průběhu. Zdroj: [12].....	33
Obrázek č. 12 Výstup z DPABISurf modulu. Zdroj: [29].....	35
Obrázek č. 13 Vstupní tabulka modulu Statistical Analysis.....	36
Obrázek č. 14 Konkrétní nastavení zpracování v rámci DPARSF.	43
Obrázek č. 15 Tabulka modulu Statistical Analysis se zadanými vstupními daty pro ANCOVA.	45
Obrázek č. 16 Tabulka modulu Statistical Analysis se zadanými vstupními daty pro dvouvzorkový t-test.	46
Obrázek č. 17 Rozdíly v ReHo mezi NORM a PD na axiálních řezech.....	48
Obrázek č. 18 Rozdíly v ReHo mezi NORM a RBD na axiálních řezech.	50
Obrázek č. 19 Rozdíly v ReHo mezi RBD a PD na axiálních řezech.....	52
Obrázek č. 20 Rozdíly v ReHo mezi NORM a PD na axiálních řezech po aplikaci FDR korekce s prahem $q = 0,05$	53
Obrázek č. 21 Rozdíly v ReHo mezi NORM a RBD na axiálních řezech po aplikaci FDR korekce s prahem $q = 0,05$	55
Obrázek č. 22 Rozdíly v ReHo mezi NORM a RBD na axiálních řezech po aplikaci Bonferroniho korekce.....	56

Seznam použitých tabulek

Tabulka č. 1 Přehled použitého postupu při zpracování naměřených dat.	30
Tabulka č. 2 Tabulka rozložení věku a pohlaví v rámci zkoumaných skupin.	41
Tabulka č. 3 Srovnání aplikovaných korekcí mnohonásobného testování.	47
Tabulka č. 4 Rozdíly ReHo mezi NORM a PD.	49
Tabulka č. 5 Rozdíly ReHo mezi NORM a RBD.	51
Tabulka č. 6 Rozdíly ReHo mezi RBD a PD.	52
Tabulka č. 7 Rozdíly ReHo mezi NORM a PD po FDR korekci.	54
Tabulka č. 8 Rozdíly ReHo mezi NORM a RBD po FDR korekci.	55
Tabulka č. 9 Rozdíly ReHo mezi NORM a RBD po Bonferroniho korekci.	57

Příloha A: Obsah přiloženého DVD

Přiložené DVD obsahuje tyto soubory:

- klíčová slova a abstrakt v českém jazyce
- klíčová slova a abstrakt v anglickém jazyce
- zadání diplomové práce
- plný text diplomové práce
- složku Pacienti_puv, která obsahuje původní data (pro názornost uvedeni 2 pacienti)
 - o NORM_01 (funkční a strukturní obrazy)
 - o PD_01
- složku Pacienti_zprac, která obsahuje data po zpracování v programu DPARSF (pro názornost uveden 1 pacient)
 - o PD_01
- složku Vysledky_statistik (mezi jednotlivými skupinami)
 - o ANCOVA
 - o T2_TEST
 - NORM_PD
 - NORM_RBD
 - RBD_PD
- skripty:
 - o pro rozbalení dat: Script_P01untar.m
 - o pro přemístění dat: Script_oprava.m

Data zpracovávaná v této práci velikostně odpovídala přibližně 7,5 TB, proto DVD obsahuje pouze několik vzorků, které bylo nutné zazipovat. Pro zobrazení přiložených obrazových dat doporučuji využít volně stažitelný program Mango (Multi-image Analysis GUI). Veškerá data jsou dostupná na vyžádání u vedoucího práce a jsou vlastnictvím Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze.

V případě použití uvedených skriptů je nezbytné upravit cestu k adresáři.