

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Dizertační práce

Uplatnění funkční magnetické rezonance a MR traktografie pro neuropsychiatrické studie kognitivních funkcí

Mgr. Ibrahim Ibrahim

Školitel: Ing. Milan Hájek, DrSc.

Školitel konzultant: Ing. Jaroslav Tintěra, CSc.

Praha 2011

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a uvedl všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům. Za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze

*

Souhlasím – ~~Nesouhlasím~~

V Praze 17. 11. 2011

Ibrahim Ibrahim

.....

Dizertační práce byla vypracována na oddělení magnetické rezonance Institutu klinické a experimentální medicíny - IKEM v rámci postgraduálního doktorského studijního programu biomedicíny na 2. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze.

Mgr. Ibrahim Ibrahim

Oddělení magnetické rezonance – ZRIR

Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM

Vídeňská 1958/9

14021 Praha 4

E-mail: ibib@medicon.cz, ibrahimm@centrum.cz

Oborová rada: 11 – Lékařská biofyzika

Školitel: Ing. Milan Hájek, DrSc.

Školitel konzultant: Ing. Jaroslav Tintěra, CSc.

V Praze dne 17. 11. 2011

Poděkování

Chtěl bych poděkovat svým školitelům Ing. M. Hájkovi, DrSc. a konzultantovi Ing. J. Tintěrovi, CSc. za odborné vedení a připomínky během mého doktorského studia. Těž děkuji Prof. MUDr. J. Horáčkovi, PhD, Mgr. F. Jírů, PhD, Mgr. M. Dezortové, PhD, MUDr. A. Škochovi, PhD a Mgr. V. Herynkovi, PhD za všestrannou pomoc a spolupráci při přípravě dizertační práce a publikací. Velký dík patří mé rodině za pochopení a všestrannou podporu.

Tato práce byla podporována granty MŠMT č. 1M0517 a MZ0IKEM2005

Obsah

Obsah.....	1
Použité zkratky.....	3
1. Úvod.....	5
2. Cíl dizertační práce.....	7
3. Teoretická část.....	8
3.1. Funkční magnetická rezonance.....	8
3.1.1. Princip fMRI-BOLD.....	8
3.1.2. Akvizice fMRI dat.....	11
3.1.3. Zpracování fMRI dat.....	12
- Předzpracování.....	12
- Statistická analýza.....	13
3.2. Zobrazení difuzního tenzoru.....	15
3.2.1. Teoretické základy difuze.....	15
3.2.2. Zobrazení pomocí MR.....	19
3.2.3. Zpracování DTI dat.....	21
- Frakční anizotropie.....	21
- Aparentní difuzní koeficient a stopa tenzoru.....	23
3.2.4. Rekonstrukční algoritmy difuzního tenzoru a MR traktografie.....	24
3.3. Morfometrická analýza celého mozku.....	26
3.3.1. Standardní morfometrická analýza.....	26
3.3.2. Optimalizovaná morfometrická analýza.....	28
3.4. Studované choroby.....	29
3.4.1. Alzheimerova choroba.....	29
3.4.2. Roztroušená skleróza.....	29
3.4.3. Obsedantně-kompulzivní porucha.....	31
4. Experimentální část.....	32
4.1. Protokoly MR vyšetření.....	32
4.1.1. DTI protokol.....	32
4.1.2. Sekvence MPRAGE.....	33
4.1.3. Sekvence FLAIR a SWI.....	34
4.1.4. fMRI protokol.....	35
5. Výsledky.....	36

- Souhrn článků týkajících se tématu dizertační práce.....	36
5.1. Projekty týkající se problematiky Alzheimerovy choroby.....	36
- Souhrnná diskuze.....	49
- Závěry vyplývající ze studie.....	50
5.2. Projekt týkající se problematiky roztroušené sklerózy.....	52
- Diskuze.....	55
- Závěry vyplývající ze studie.....	55
5.3. Projekt týkající se problematiky obsedantně-kompulzivní poruchy.....	56
- Diskuze.....	57
- Závěry vyplývající ze studie.....	58
5.4. fMRI u vizuální pracovní paměti a verbální fluence.....	59
- Diskuze.....	62
- Závěry vyplývající ze studie.....	63
5.5. Uplatnění fMRI u předoperačního vyšetření.....	64
- Souhrnná diskuze.....	72
- Závěry vyplývající ze studie.....	72
6. Souhrn dizertační práce a závěry.....	73
7. Publikace autora dizertační práce.....	76
7.1. Publikace autora týkající se tématu dizertační práce.....	76
7.2. Ostatní publikace.....	77
8. Literatura.....	78
9. Přílohy.....	90

POUŽITÉ ZKRATKY

AD	Alzheimer disease (Alzheimerova nemoc, AN)
ADC	apparent diffusion coefficient (aparentní difúzní koeficient)
BG	bazální ganglia
BOLD	blood oxygenation level dependent
CC	corpus callosum
CE	capsula externa
CI	capsula interna
CNS	centrální nervový systém
CSF	cerebrospinal fluid (mozkomíšní mok, likvor)
DSI	diffusion spectrum imaging
DTI	diffusion tensor imaging (zobrazení difúzního tenzoru)
DWI	diffusion weighted imaging (difúzně-vážené zobrazování)
EC	entorinální kůra
EDSS	expanded disability status scale
ERD	event-related design
FA	fractional anisotropy (frakční anizotropie)
FACT	fiber assignment by continuous tracking
fMRI	functional MRI (funkční magnetická rezonance)
FWHM	full-width at half-maximum (pološírka)
G	amplituda difúzního gradientu [mT/m]
GE-EPI	gradient-echo echo-planar imaging
GLM	general linear model (obecný lineární model)
GM	grey matter (šedá hmota)
GP	globus pallidus
HARDI	high angular resolution diffusion imaging
OxyHB	oxyhemoglobin
DeoxyHB	deoxyhemoglobin
HRF	haemodynamic response function
LCD	liquid-crystal display
LDK	levá dolní končetina
LHK	levá horní končetina
LI	laterizační index

MCI	mild cognitive impairment (mírná kognitivní porucha)
MDRS	Mattis Dementia Rating Scale
MIP	minimum intensity projection
MK	mikrokrvácení
MMSE	mini-mental status examination
MNI	Montreal Neurological Institute
MRI	magnetic resonance imaging (zobrazení magnetickou rezonancí)
MS	multiple sclerosis (roztroušená skleróza, RS)
OCD	obsessive compulsive disorder (obsedantně-kompulzivní porucha)
ODF	orientation distribution function
PASAT	Paced auditory serial addition test
PDK	pravá dolní končetina
PHK	pravá horní končetina
QBI	q-ball imaging
RF	radiofrekvenční pulz
ROI	region of interest (oblast zájmu)
SE-EPI	spin-echo echo-planar imaging
SPM	statistical parametric mapping
T1-MPRAGE	T ₁ -weighted magnetization prepared rapid acquisition gradient echo
T2-FLAIR	T ₂ -weighted fluid attenuated inversion recovery
T2-SWI	T2-susceptibility weighted imaging
TE	echo time (echo čas)
TR	repetition time (repetiční čas)
v_1, v_2 a v_3	eigenvectors – hlavní (v_1) a vedlejší vlastní vektory (osy difúzního elipsoidu)
VBM	voxel based morphometry
WM	white matter (bílá hmota)
Y-BOCS	Yale-Brown obsessive compulsive scale
γ	gyromagnetický poměr
λ_1, λ_2 a λ_3	eigenvalues – hlavní (λ_1) a vedlejší vlastní čísla matice
δ	trvání difúzního gradientního pulzu
Δ	časový odstup difúzních gradientních pulzů

1. Úvod

Od objevení principu magnetické rezonance došlo díky nástupu nových technologií v medicíně k výraznému pokroku v oblasti diagnostických a zobrazovacích metod. Rozvoj výpočetní techniky pak umožnil data získaná z různých modalit integrovat a dále zpracovávat. Příkladem tohoto trendu může být výzkum centrálního nervového systému (CNS), kde v současné době existuje celá řada zobrazovacích technik umožňujících popis jeho struktury a funkce (1, 2). Mezi tyto metody patří i neinvazivní metody magnetické rezonance. Ačkoliv konvenční techniky zobrazení magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging, MRI) mají dominantní postavení při vyšetření CNS (poskytují detailní informace o anatomické struktuře mozku a vynikající tkáňový kontrast měkkých tkání), přesto tyto techniky nedokážou dát informaci o funkčních vlastnostech mozkové tkáně. Kromě konvenčních MRI technik však existují i MR metody umožňující některé z těchto vlastností zobrazit. Mezi ně můžeme zařadit funkční magnetickou rezonanci (functional magnetic resonance imaging, fMRI), difúzně vážené zobrazování (diffusion weighted imaging, DWI) resp. zobrazení difúzního tenzoru (diffusion tensor imaging, DTI) a morfometrickou analýzu (voxel based morphometry, VBM). Funkční magnetická rezonance je metoda sloužící k zjištění aktivity jednotlivých částí mozku při určitých činnostech, a tak k objasnění jejich funkce. FMRI je často metoda volby, zejména při plánování neurochirurgických zákroků, kdy je nutné znát vzájemnou polohu patologického ložiska a funkčních oblastí mozkové kůry (jako jsou například sensorická, motorická nebo jiná důležitá centra), a tím zmenšit rizika poškození související s neurochirurgickou operací. Difúzně vážené zobrazování a zobrazení difúzního tenzoru nám umožňují zkoumat mikroarchitekturu tkáně pomocí jejích difúzních vlastností. Na základě určení preferenčního směru difuze v mozku jsme schopni zobrazit hlavní svazky bílé hmoty a kvantitativně posoudit integritu těchto svazků. DTI našlo u onemocnění CNS široké uplatnění. Patofyziologické změny doprovázející neurodegenerativní a demyelinizační onemocnění (jako je Alzheimerova choroba (AD) a roztroušená skleróza (MS)) způsobují změny difuze molekul vody v postižených oblastech a jsou tak dobře detekovatelné na DWI obrazech. Difúzně vážené obrazy se v klinické praxi dále používají jako velmi důležitý protokol k detekci hyperakutní ischemie. Včasná detekce ischemických změn mozkové tkáně a kvantitativní měření difuze pomocí MR zvyšují šanci na rychlou a adekvátní léčbu, která může minimalizovat rizika poškození mozku

patologickými procesy. VBM sice nepatří mezi funkční zobrazování, nicméně představuje zcela objektivní MR metodu pro hodnocení strukturálních změn mozkové tkáně. Na rozdíl od konvenčních morfometrických technik používaných pro odhad atrofie na MR obrazech zahrnujících vizuální hodnocení zkušenými radiology nebo manuální výběr oblasti zájmu, VBM je automatická analýza strukturálních změn celého mozku mezi dvěma skupinami (např. mezi pacienty a zdravými subjekty) jak v šedé, tak v bílé hmotě mozkové. Neuropatologické změny v mozkové tkáni vedou ke ztrátě neuronů a lokální nebo celkové atrofii mozku. Charakteristické rysy atrofických změn mozkové tkáně jsou často specifické pro dané neurodegenerativní onemocnění. VBM se proto stává důležitou metodou jak ve výzkumu, tak v klinických aplikacích u různých neurologických a neuropsychiatrických chorob (MS, AD, schizofrenie, obsedantně-kompulzivní porucha - OCD).

Výše zmíněné metody byly použity v této dizertační práci jak u kontrolních skupin, tak u pacientů s Alzheimerovou chorobou (VBM, DTI), roztroušenou sklerózou (DTI) a u dětských pacientů (fMRI, DTI) a pacientů s obsedantní-kompulzivní poruchou (VBM). Přestože Alzheimerova choroba a roztroušená skleróza nepatří mezi psychiatrická onemocnění, díky jejich projevům a dopadům srovnatelným s vážnými psychiatrickými onemocněními a pro jejich vysokou četnost v současné stárnoucí populaci byly zařazeny do této práce.

Tato práce je rozdělená do dvou hlavních částí - teoretické a experimentální. V teoretické části jsou uvedeny principy zmíněných metod. V experimentální části jsou uvedeny hlavní výsledky a závěry práce na základě několika provedených studií fMRI, DTI a VBM. Detaily jednotlivých studií lze pak nalézt v jednotlivých publikovaných pracích, které jsou přiloženy v příloze.

2. Cíl dizertační práce

Cílem této práce bylo využití několika MR technik zahrnující funkční magnetickou rezonanci (fMRI), zobrazení difuzního tenzoru (DTI) a morfometrickou analýzu (VBM) u neurodegenerativních a neuropsychiatrických onemocnění CNS. Práce se zaměřuje především na tyto oblasti:

- 1) Využití metod VBM a DTI pro studium pacientů s Alzheimerovou chorobou
- 2) Posouzení přínosu metod DTI u pacientů s roztroušenou sklerózou
- 3) Využití metod VBM u pacientů s obsedantně-kompulzivní poruchou
- 4) Využití fMRI k objasnění vztahu jednotlivých mozkových funkčních struktur a daného patologického ložiska a uplatnění této znalosti při plánování neurochirurgického zákroku. Součástí této problematiky je i návrh vlastního paradigmatu k testování pracovní paměti.

3. Teoretická část

V následující části jsou popsány teoretické aspekty metod použité v této práci. Práce si neklade za cíl podat vyčerpávající teoretické vysvětlení jednotlivých metod, ale spíše poskytnout základ pro pochopení metodologie použité v jednotlivých studiích. Detaily jednotlivých technik lze nalézt v uvedených odkazech.

3.1. Funkční magnetická rezonance

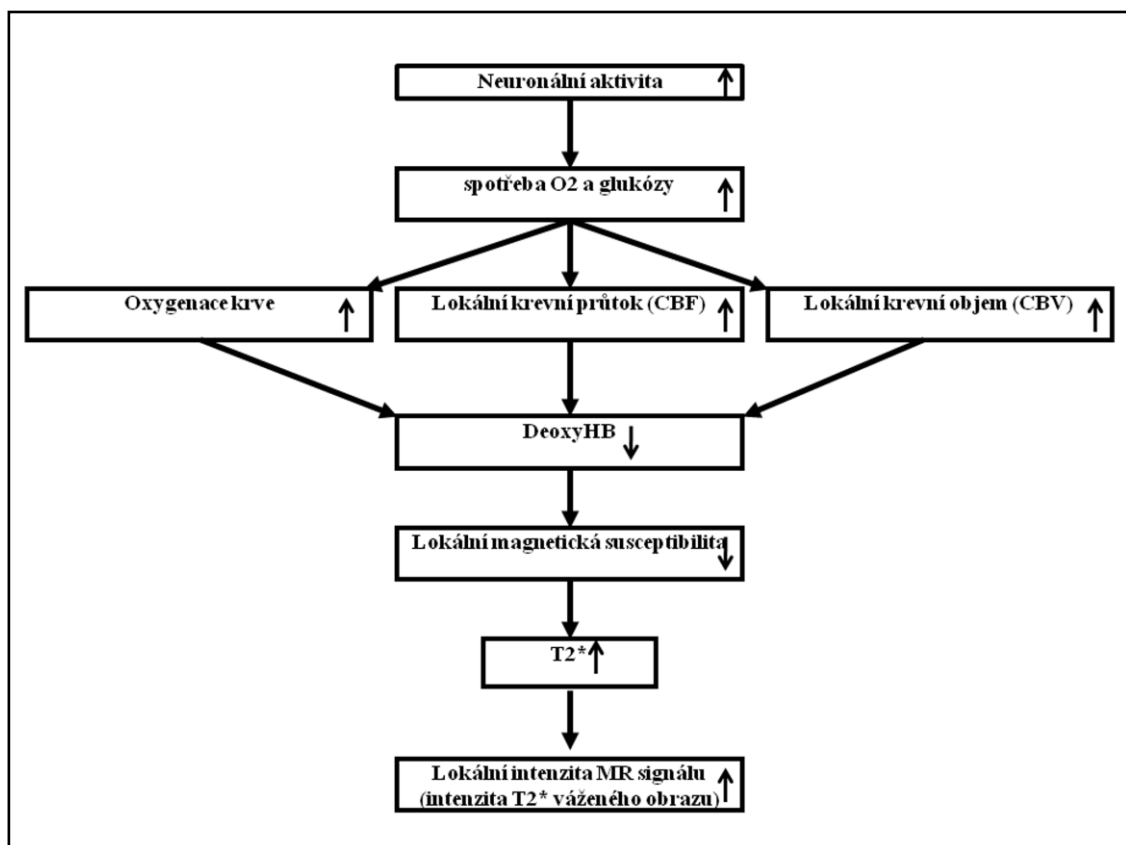
Funkční zobrazování magnetickou rezonancí (fMRI) otevřelo novou epochu zkoumání funkcí lidského mozku a našlo uplatnění v nejrůznějších oblastech. Praktickým příkladem aplikace fMRI mohou být fMRI vyšetření prováděná jako součást neurochirurgických předoperačních vyšetření. fMRI si ale našlo nezastupitelné místo i v nejrozmanitějších experimentálních psychologických studiích, jako je například studium emocí a podobně.

Tato neinvazivní MR technika umožňuje zobrazovat aktivitu neuronů v mozkové kůře. Pro cílenou aktivaci neuronů se přitom používá různých paradigmat senzoričtých, motorických či kognitivních procesů. Nejpoužívanější metodou fMRI je takzvaná BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) technika, která využívá rozdílné magnetické vlastnosti oxyhemoglobinu (diamagnetický) a deoxyhemoglobinu (paramagnetický) v aktivované oblasti mozku (3-6). Další možnou metodou funkčního mapování mozku je perfúzní fMRI, která je založená na změnách perfúze a objemu krve v lokální aktivované oblasti mozku (7). fMRI experimenty provedené v této práci jsou založené na standardní technice BOLD.

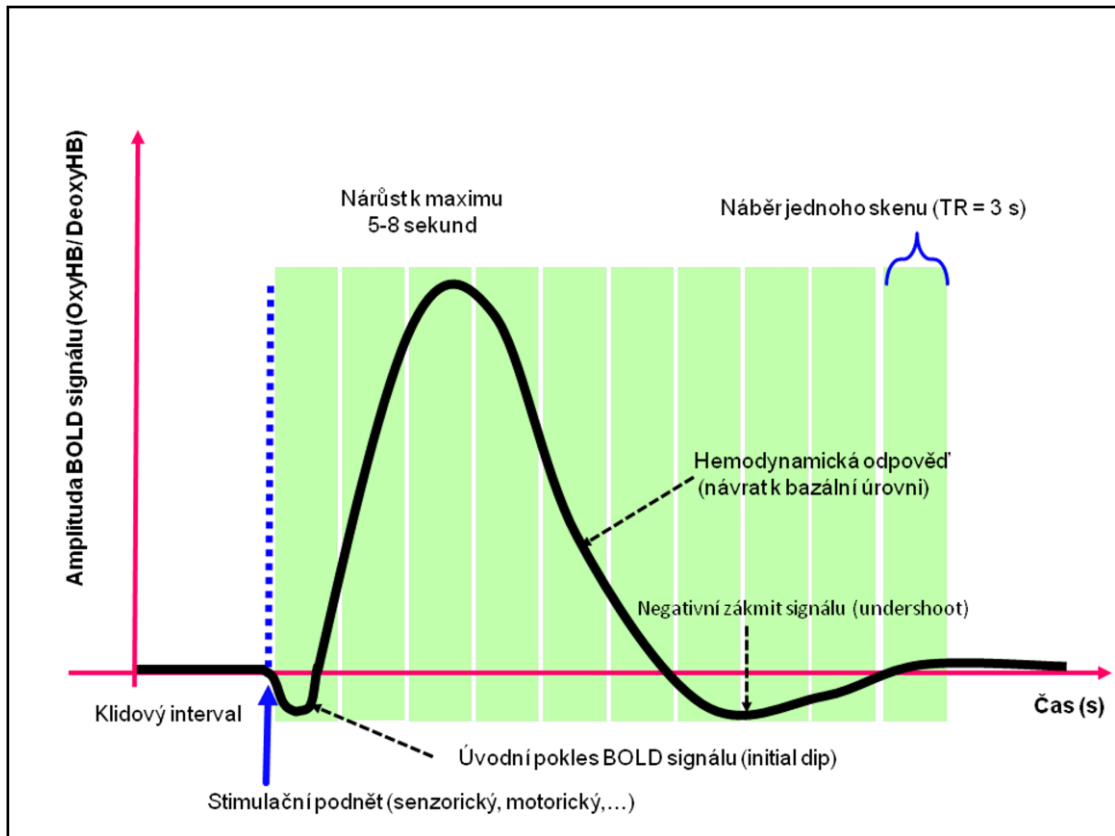
3.1.1. Princip fMRI-BOLD

Funkční fMRI technika BOLD je založená na detekci hemodynamických změn souvisejících s neuronální aktivitou (tzv. neurovaskulární vazba) a změnami lokální magnetické susceptibility v aktivované oblasti mozkové kůry (3, 8, 9). Neurony ke své činnosti potřebují energii produkovanou oxidací glukózy (10). Zvýšená aktivita neuronů se při určitém stimulu (jakým je například motorický podnět nebo kognitivní proces) projeví ve zvýšené spotřebě kyslíku a glukózy. Aktivovaná oblast po chvíli (přibližně 3s po stimulaci, tzv. *initial dip*) reaguje na zvýšenou koncentraci deoxyhemoglobinu a na požadavek mozkové kůry po kyslíku vasodilatací a zvýšením

lokálního cerebrálního průtoku (CBF). Průtok se přitom oproti bazálnímu stavu zvyšuje na nadbytečnou hodnotu (tzv. *overshoot*). Tento proces vede k zvýšení koncentrace diamagnetického oxyhemoglobinu (oxyHB) a poklesu paramagnetického deoxyhemoglobinu (deoxyHB) a tím ke změně magnetické susceptibility v aktivované oblasti. To má za následek prodloužení T_2^* relaxačního času, což se na T_2^* vážených obrazech projeví zvýšením intenzity MR signálu v aktivované oblasti. Stimulační podnět vede k dosažení maximální změny MR-BOLD signálu po 5-8 s od začátku stimulace a dále pak k návratu přes negativní zákmit signálu (tzv. *undershoot*) k jeho výchozí úrovni (11-13), (Obr. 3.1, Obr. 3.2).



Obr. 3.1. Schématické znázornění neurovaskulární vazby u BOLD techniky. Vysvětlení je v textu (viz princip fMRI BOLD).

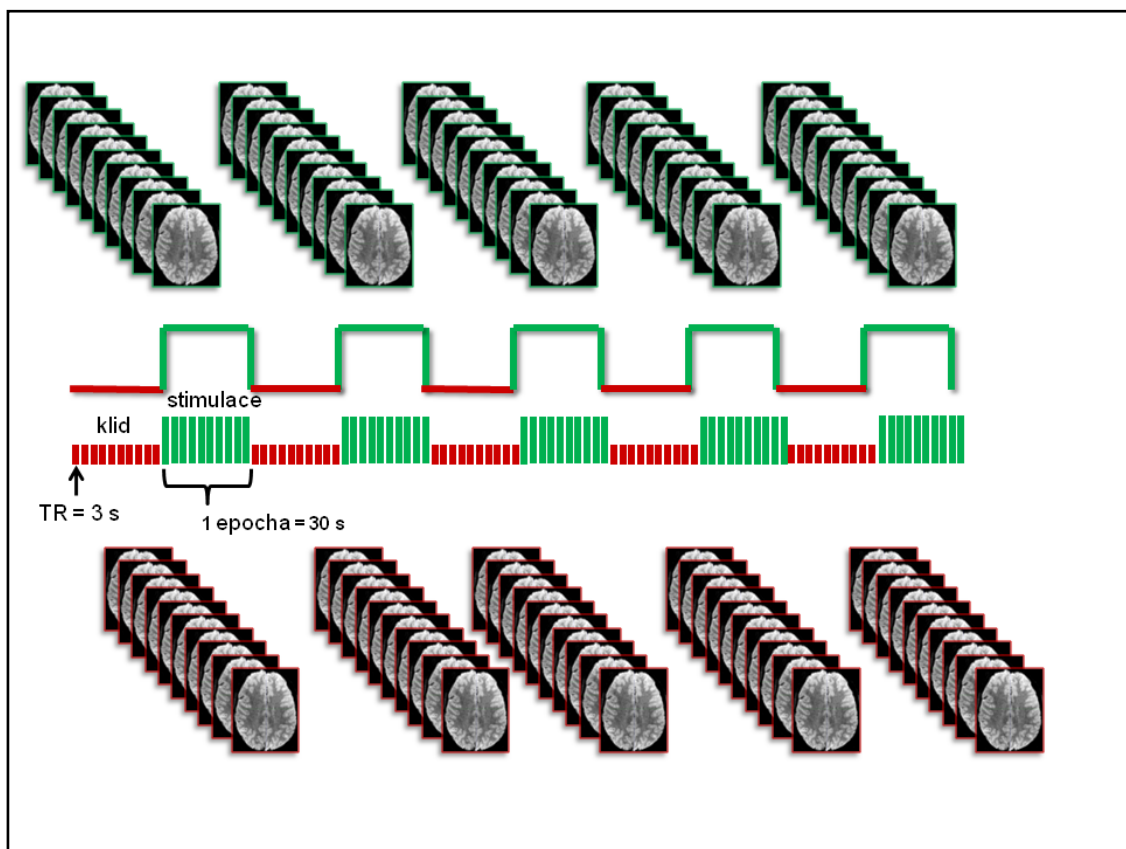


Obr. 3.2. Schematické znázornění hemodynamické odpovědi (HRF) lokální mozkové kůry na stimulační podnět. Na obrázku je znázorněn časový průběh změny měřeného signálu v lokální aktivované oblasti mozku.

Důležitou součástí fMRI experimentu je vhodné paradigma, tj. jakýsi návod, jak aktivovat určitou oblast mozkové kůry pomocí stimulačních podnětů. V současné době existují dva hlavní typy experimentálního designu: blokový (boxcar) a event-related design (ERD). U blokového designu se střídají období (epochy) klidu a stimulace (Obr. 3.3). Blokový design je jednoduchý design s dobrou detekční schopností aktivovaných oblastí mozkové kůry (14) a s poměrně krátkým časem realizace experimentu (přibližně 6 minut). Event-related design je určený pro detekci neznámé hemodynamické odpovědi (haemodynamic response function, HRF) na jednotlivé podněty (15). Ve srovnání s blokovým designem je ERD experiment časově náročnější i statisticky obtížnější na vyhodnocení. Proto, je-li to možné, je blokový design metodou volby.

3.1.2. Akvizice fMRI dat

Pro úspěšné provedení fMRI experimentu je třeba kromě správně navrženého paradigmatu i spolehlivá spolupráce pacienta při plnění jednotlivých pokynů vyplývajících z použitého paradigmatu. Stimulační podněty probíhají většinou vizuálně promítáním obrazů nebo slov datovým projektořem či speciálním LCD monitorem, popřípadě akusticky prostřednictvím sluchátek. Příkladem vizuální stimulace u blokového designu je test verbální fluence (slovní plynulost), kde se střídají jednotlivé obrazy v období klidu a stimulace (Obr. 3.3).



Obr. 3.3. Schematické znázornění náběru fMRI dat u blokového designu (box car), kde se střídají období klidu a stimulace (počet obrazů na sérii = 100 (10/stimulace, 10/klid, 5x opakující se schéma)).

Nejčastější používanou sekvencí pro měření fMRI dat je sekvence echo-planárního gradientního echa (GE-EPI). Důvody použití této sekvence spočívají ve vysoké rychlosti náběru dat a citlivosti k nehomogenitám magnetického pole způsobených BOLD efektem. Právě rozšíření rychlých měřících technik umožnilo rozšíření fMRI a jeho použití v klinické praxi.

3.1.3. Zpracování fMRI dat

Zpracování fMRI dat zahrnuje dva hlavní kroky - předzpracování dat a jejich statistickou analýzu.

Předzpracování

Po realizaci experimentu je zapotřebí získaná data předzpracovat (tj. provést několik kroků s naměřenými fMRI daty za účelem jejich optimalizace a jejich přípravy pro následnou statistickou analýzu). Předzpracování zahrnuje několik kroků: konverzi dat, korekci pohybových artefaktů, koregistraci s anatomickými obrazy (např. s T1-3D MPRAGE), normalizaci do stereotaktického prostoru a prostorovou filtraci dat (Obr. 3.4).

a) Konverze dat

Prvním krokem je konverze nativních dat získaných z MR tomografu do standardního formátu (do nejčastěji používaného formátu nifti - The Neuroimaging Informatics Technology Initiative, <http://www.nitrc.org/projects/nifti/>) - lze převést data například pomocí „DICOM conversion“ utility v programu SPM (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>) nebo pomocí utility dcm2nii (<http://www.cabiatl.com/mricro/mricron/dcm2nii.html>).

b) Korekce pohybových artefaktů

Jeden z rozhodujících faktorů úspěšné realizace fMRI experimentu a získání spolehlivých výsledků je spolupráce pacienta a dodržení všech pokynů potřebných k provedení úkolu. Každý nepatrný pohyb hlavy může být zdrojem signifikantních artefaktů a chybných fMRI výsledků. Proto je korekce pohybových artefaktů velmi důležitým krokem předzpracování funkčních dat (16).

c) Koregistrace s anatomickými obrazy

Funkční MRI data mají nižší prostorové rozlišení a horší anatomické detaily. Proto se často pro lepší vizualizaci výsledků funkčních map fMRI data koregistrují se strukturálními obrazy s vysokým rozlišením (např. T1 MPRAGE s rozlišením 1 x 1 x 1 mm).

d) Prostorová normalizace

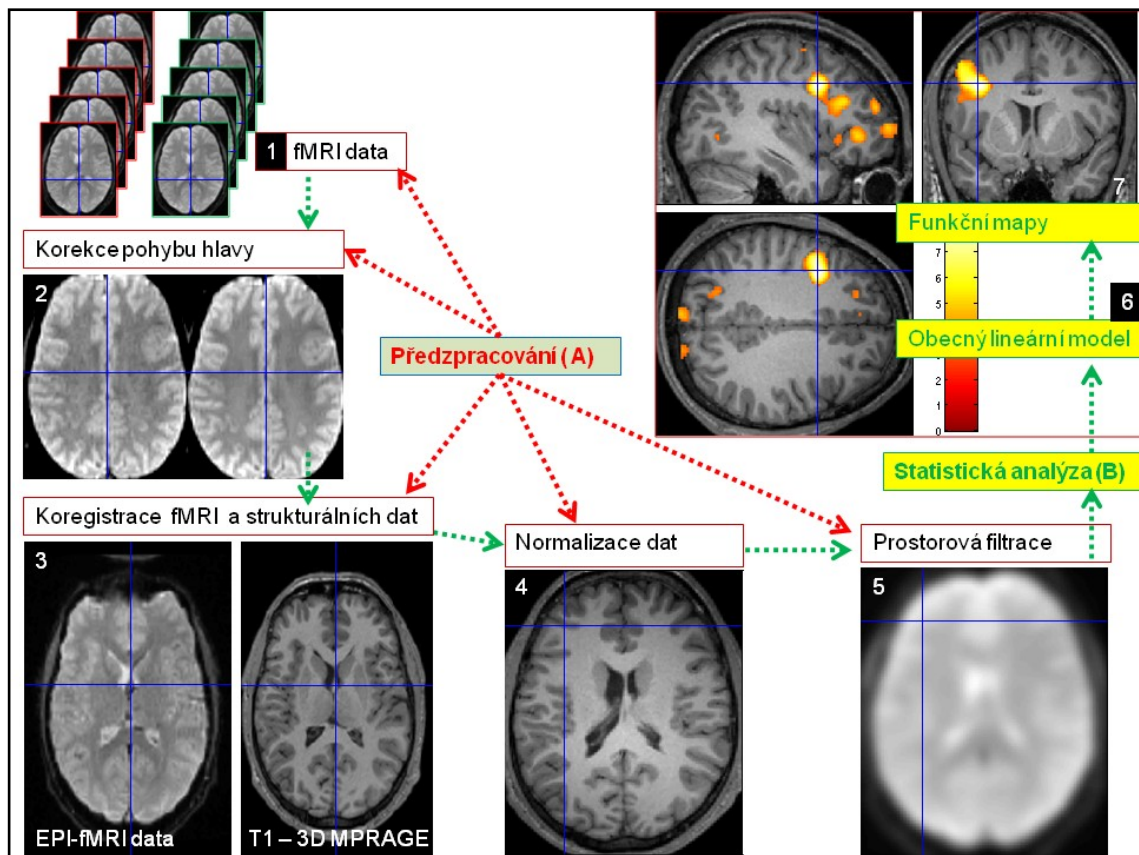
Prostorová normalizace funkčních a strukturálních dat do standardního stereotaktického prostoru (např. do MNI nebo Talairachova prostoru) se provádí za účelem možnosti porovnání výsledků různých osob nebo skupin (pacientů a kontrol). Normalizace se provádí pomocí transformační šablony (tzv. template). Transformace může zahrnovat jak lineární/afinní složku (jako je rotace, posun, zkosení, zmenšení a zvětšení obrázků), tak i složku nelineární, která bývá parametrizována jako lineární kombinace obecně nelineárních bazových deformačních funkcí (17).

d) Prostorová filtrace dat

Prostorová filtrace dat spočívá v „rozmazání“ naměřených dat s použitím Gaussova filtru, kde stupeň filtrace je definován pomocí parametru pološířky signálu FWHM (full width at half maximum, typicky 8-12 mm). Důvodem této filtrace je především zlepšení poměru signál/šum dat a dále zajištění správných statistických vlastností dat (Gaussovského rozdělení) potřebných pro další analýzu.

Statistická analýza

Nejpoužívanější statistickou metodou pro vyhodnocení fMRI dat je obecný lineární model (general linear model – GLM) umožňující řadu technik pro zkoumání vztahu mezi závisle proměnnou a nezávislými proměnnými. Zjednodušeně lze říci, že principem metody je porovnání naměřených fMRI dat a modelu, který odpovídá stimulaci mozku podle zvoleného paradigmatu. V oblastech, kde si data a model odpovídají, předpokládáme existenci aktivace mozku. Tato analýza se pak provádí pro každý voxel ve vyšetřovaném objemu. Výsledkem je statistická parametrická mapa (SPM), která se dále prahuje, tj. pro každý bod se určí významnost nebo nevýznamnost statistické hodnoty. Výsledná aktivační mapa je pak pro přesnou lokalizaci a interpretaci fMRI výsledků zobrazena na koregistrovaných anatomických obrazech s vysokým rozlišením (18, 19), Obr. 3.4.



Obr. 3.4. Jednotlivé kroky předzpracování (A) fMRI dat (1-6). (1) série naměřených funkčních dat, (2) korekce pohybových artefaktů a (3) koregistrace fMRI a strukturálních dat s vysokým rozlišením. (4) normalizace dat do stereotaktického prostoru (MNI nebo Talairachova prostoru) a prostorová filtrace dat ke zlepšení poměru signál/šum (5). B) Statistická analýza (obecný lineární model, 6), výsledná statistická aktivační mapa (7).

3.2. Zobrazení difuzního tenzoru

Difúzi rozumíme neustálý a neuspořádaný pohyb molekul. V biologickém prostředí má přitom difuze nepostradatelnou roli při transportu životně důležitých metabolitů (20, 21). Při zobrazování biologických tkání je zajímavá především difuze molekul vody, která může poskytnout informaci o mikrostruktuře pozorované tkáně. V následujících částech bude popsána nejdříve základní teorie difuze a dále pak její použití v MR zobrazování.

3.2.1 Teoretické základy difuze

Nejjednodušším případem difuze je tzv. *izotropní difuze*, kdy posuny molekul nezávisí na jejich směru. Pro tuto difúzi platí Einsteinova rovnice

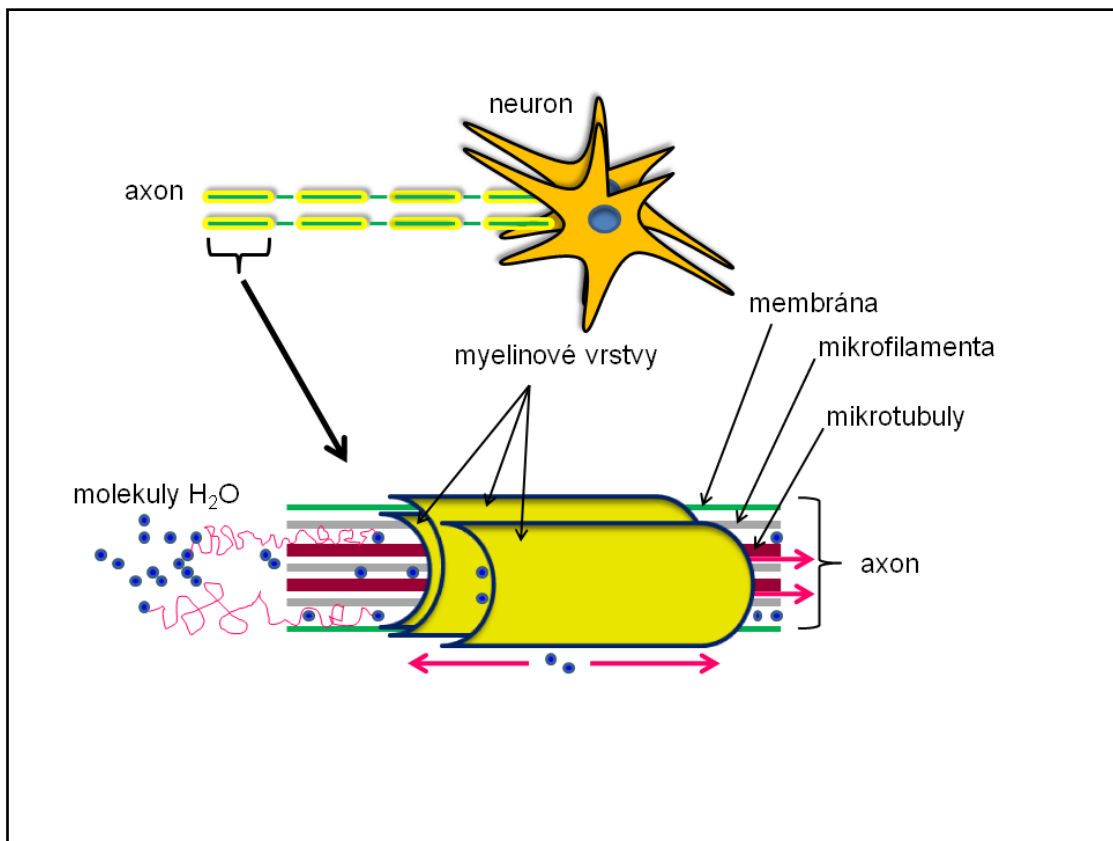
$$\langle r^2 \rangle = 2nDt_d,$$

kde je n dimenze prostoru, D difuzní koeficient v daném prostředí (udáván v jednotkách mm^2/s) a $\langle r^2 \rangle$ je střední vzdálenost, kterou molekuly urazí za difúzní čas t_d . Difuzní koeficient D , který je charakteristický pro studované médium, tedy vyjadřuje míru posunu molekul v důsledku jejich neuspořádaného pohybu za jednotku času. Příkladem izotropní difuze je difuze molekul vody v *mozkomíšním moku* (vysoká izotropie) nebo v *šedé hmotě* mozkové (velmi nízké hodnoty izotropie).

Biologické prostředí je ovšem obecně velice heterogenní a dochází v něm k řadě různých interakcí. Např. pohyb molekul vody v biologickém prostředí je ovlivněn nejen fyzikálně-chemickými vlastnostmi intracelulárního prostředí, ale také interakcí mezi intra a extracelulárními komponenty a přítomností různých struktur, jako jsou buněčné membrány, myelinové obaly axonů, makromolekuly, vaskulární a sub-celulární struktury. Tyto struktury a jejich vlastnosti představují překážky či omezení pro pohyb molekul vody v určitých směrech. Proto je difuze molekul v různých biologických systémech rozdílná v závislosti na geometrii a fyzikálně-chemických vlastnostech tkáně. Mluvíme pak o difuzi *anizotropní*. Protože biologické systémy zahrnují různé formy pohybu molekul v důsledku aktivního transportu, změny permeability membrán

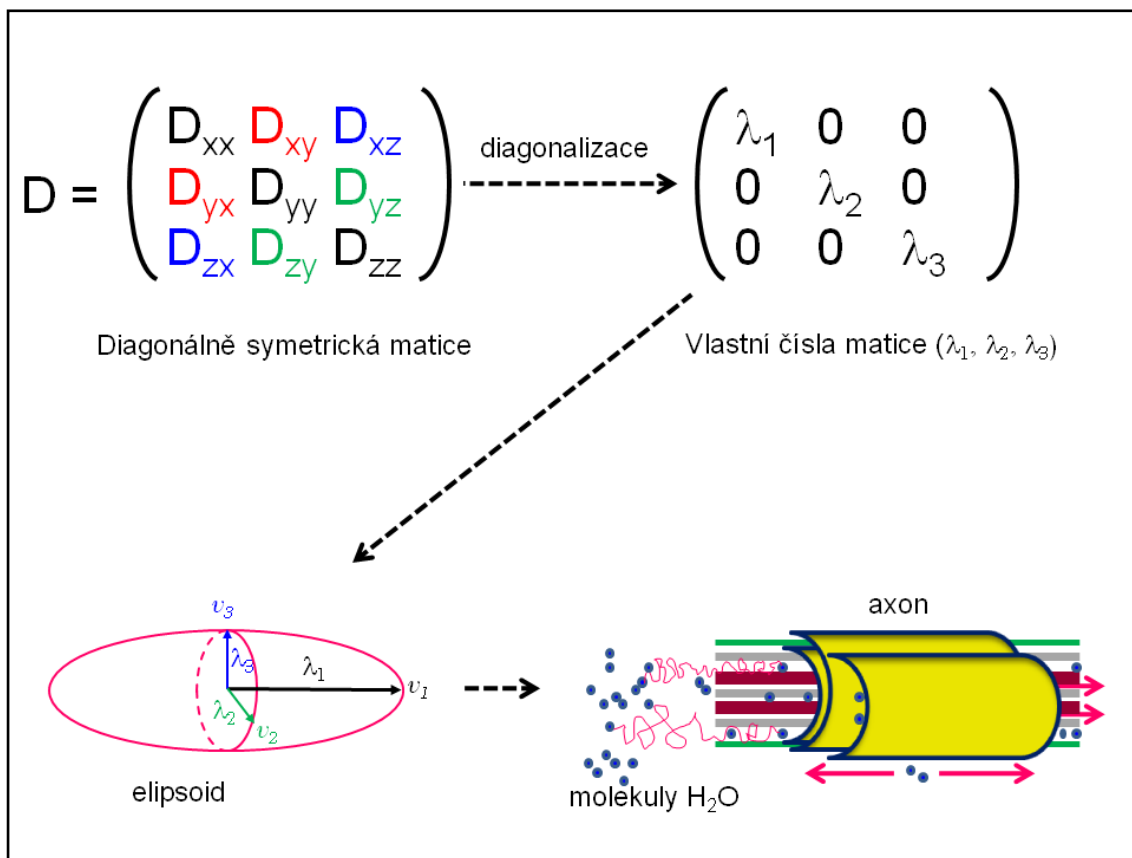
a toku molekul podél koncentračního gradientu, byl zaveden pojem *aparentní difuzní koeficient* - ADC (22, 23). ADC je tedy jakýsi zobecněný koeficient, který zahrnuje i další mechanismy přispívající k difuzi v biologickém prostředí. Dalším důvodem pro zavedení ADC je i konečná velikost měřeného pixelu. Každý pixel zahrnuje různá prostředí (intracelulární a extracelulární prostory), v kterých se molekuly pohybují. Dochází pak k přechodům mezi buňkou a extracelulárním prostředím, což opět zkresluje naměřený difuzní koeficient (24, 25).

Pro popis anizotropní difuze v biologickém prostředí na rozdíl od izotropní difuze nestačí jeden difuzní koeficient D . Pro úplný popis anizotropní difuze musíme použít takzvaný *difuzní tenzor*, který můžeme znázornit pomocí matice velikosti 3×3 . Tato matice je přitom diagonálně symetrická ($D_{ij} = D_{ji}$, tj. $D_{xy} = D_{yx}$, $D_{xz} = D_{zx}$ a $D_{zy} = D_{yz}$) a tedy pouze 6 z jejích 9ti složek je nezávislých. Matice tenzoru je proto definována 6ti difuzními koeficienty a může být graficky znázorněna jako elipsoid, jehož průměr v každém směru určuje velikost difuzního koeficientu (difuzivitu) v daném směru. Osy difuzního elipsoidu v_1 , v_2 , a v_3 , nazýváme vlastní vektory (eigenvectors) elipsoidu. Tvar elipsoidu závisí na konkrétních difuzních vlastnostech látky v daném místě. Např. v bílé hmotě je difuze molekul v paralelním směru k axonům volnější a rychlejší než ve směru kolmém na axony. Příčiny této difuzní anizotropie spočívají v paralelním uspořádání komponent axonu (myelinový obal, membrána, neurofilamenta a mikrotubuly) v podélném směru k ose axonu (26), Obr. 3.5. Proto je v bílé hmotě hlavní podélná osa elipsoidu orientována v paralelním směru k axonům.



Obr. 3.5. Schematické znázornění axonu. Komponenty axonu jsou upořádané paralelně k podélné ose axonu. Pohyb molekul ve směru podélné osy axonu je rychlejší a větší než v kolmém směru na axon.

Jednotlivé hodnoty tenzoru D_{ij} závisí na použitém souřadném systému, který je dán gradienty MR tomografu. Existuje však takový souřadný systém kdy má difuzní tenzor pouze diagonální prvky D_{11} , D_{22} , D_{33} a ostatní jeho prvky jsou rovny nule. Tento souřadný systém odpovídá vlastním vektorům difuzního elipsoidu v_1 , v_2 , v_3 a příslušné diagonální difuzivity D_{11} , D_{22} , D_{33} jeho vlastním číslům (eigenvalues) λ_1 , λ_2 , a λ_3 . Obecně naměřený difuzní tenzor můžeme převést do diagonální podoby matematickou operací známou jako diagonalizace tenzoru. Směry hlavních os a jejich příslušné difuzivity pak plně charakterizují difuzi v daném bodě (Obr. 3.6).



Obr. 3.6. Schematické znázornění difuzního tenzoru pomocí matice a elipsoidu. Difuzní tenzor je vyjádřen matematicky jako matice s 9ti komponentami difuzních koeficientů. Diagonalizací této matice obdržíme sadu tří vlastních vektorů, hlavní, střední a menší (v_1, v_2 a v_3 - eigenvectors) základní osy elipsoidu s odpovídajícími vlastními čísly matice (λ_1, λ_2 , a λ_3 - eigenvalues). Hlavní osa elipsoidu je orientovaná ve směru podélné osy axonu.

3.2.2 Zobrazení pomocí MR

Metoda difuzně váženého MR zobrazování (diffusion weighted imaging - DWI) je založena na citlivosti měřeného MR signálu v zobrazovaných tkáních na difuzi molekul vody. Tento efekt byl poprvé popsán Carrem a Purcellem (27) v roce 1954. Protože difuze vody je závislá na mikrostruktuře tkáně, poskytuje DWI nový typ kontrastu obrazu, který je užitečný v řadě klinických aplikací.

Citlivost MR signálu na difuzi je dána přítomností gradientů magnetického pole v měřicích sekvencích. Tuto citlivost lze názorně popsat na příkladě spinového echa. Aby došlo k refázování fází spinů a k vytvoření echa je nutné, aby byly spiny před a po aplikaci 180° pulzu vystaveny stejnému magnetickému poli. Pokud ale spiny podléhají difuzi a nacházejí se v době před a po aplikaci 180° pulzu v jiných podmínkách, k plné refokusaci jejich fáze nedojde. Výsledkem je akumulace fáze, která je úměrná disperzi pozic jednotlivých spinů a tedy (aparentnímu) difuznímu koeficientu ADC (Obr. 3.7). To vede k úbytku měřeného signálu S , který můžeme popsat následujícím vztahem:

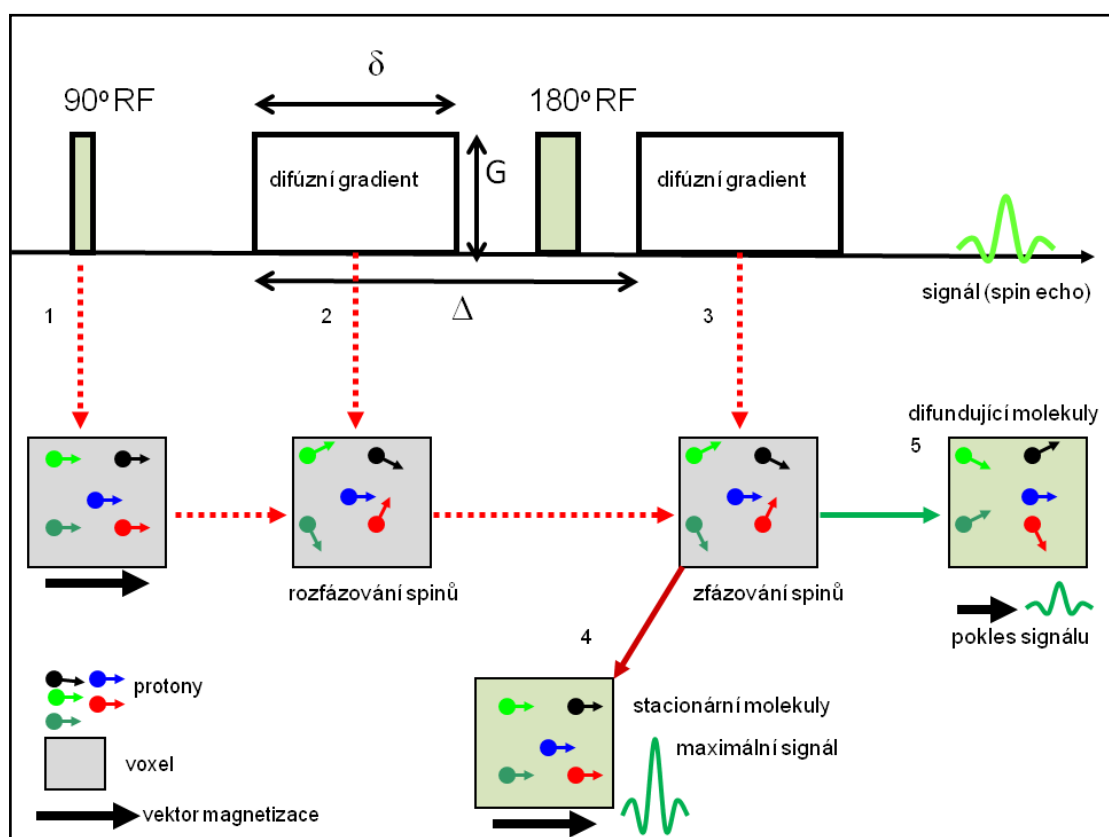
$$S = S_0 \exp^{-bADC}$$

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right)$$

kde γ je gyromagnetický poměr, S je intenzita pozorovaného signálu při aplikaci difuzních gradientů, S_0 je signál získaný bez aplikace difuzních gradientů, b (tzv. b-faktor, gradientní faktor), který je dán parametry akviziční sekvence, určuje citlivost pulzní sekvence k difuzi molekul. b -faktor závisí na časovém odstupu obou gradientních pulzů (Δ) a na trvání (δ) a amplitudě (G) difuzních gradientů. (25, 28, 29).

Výše popsaná sekvence spinového echa s difuzními gradientními pulzy byla poprvé popsána v roce 1965 Stejskalem and Tannerem (30) a stala se základem moderních difuzních sekvencí. K poklesu naměřeného signálu vlivem difuze přispívají všechny gradienty v sekvenci, nicméně pro zesílení tohoto efektu se po vzoru Stejskala a Tannera do měřicích sekvencí přidávají speciální silné gradienty a tím obraz dostává

dominantní difuzní vážení. Měříme-li MR obraz s jednou vybranou orientací gradientu s příslušným difuzním vážením mluvíme o difuzně váženém obraze (diffusion weighted imaging - DWI). Pokud měříme dostatek DWI obrazů s různou orientací difuzních gradientů, abychom mohli vypočítat difuzní tenzor, mluvíme o zobrazení difuzního tenzoru (diffusion tensor imaging - DTI) (31, 32). Pro vysokou rychlost náběru dat se difuzní gradienty aplikují převážně do EPI sekvencí, kdy se ke klasické spin-echo EPI sekvenci přidávají dva stejné silné gradientní pulzy, jeden před a druhý po 180° RF pulzu.



Obr. 3.7. Schematické znázornění sekvence spinového echa s párem gradientních pulzů pro měření difuze (DWI sekvence, Stejskal-Tannerova sekvence). (1) po aplikaci 90° RF pulzu dochází ve vyšetřovaném objemu tkáně (např. ve voxelu s 5 protony) ke sklopení vektoru magnetizace do transversální roviny. (2) První difuzní gradient před 180° RF pulzem způsobuje rozfázování spinů a druhý gradient je opět sfázuje (3). Pro stacionární molekuly budou fáze indukované oběma gradientními pulzy kompletně vyrušeny a signál bude maximální (4). V případě molekul difundujících ve směru aplikovaného gradientního pulzu dochází k posunům fází spinů (spiny nabývají různou fází). Tento rozdíl ve fázích spinů vede následně k poklesu MR signálu (5).

Od konce devadesátých let, kdy byly publikovány první aplikace DWI (33, 34), se DWI a DTI staly součástí klinických vyšetřovacích protokolů.

3.2.3. Zpracování DTI dat

Difuzní data jsou velmi citlivá k různým artefaktům a vyžadují aplikaci různých korekcí. Existuje celá řada volně dostupných programů na hodnocení difuzních dat a k rekonstrukci svazků bílé hmoty. Příkladem takových programů je MedINRIA (<http://www-sop.inria.fr/asclepios/software/MedINRIA/>), DTIstudio (<https://www.mristudio.org/>), FSL (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>) a 3D Slicer (<http://www.slicer.org/>). V našem zpracovávacím protokolu byla prvním krokem korekce vířivých proudů a pohybových artefaktů. Následoval výpočet difuzního tenzoru a jeho diagonalizace v každém voxelu.

Protože je informace difuzního tenzoru komplexní, používají se často v praxi různé odvozené veličiny (skalární mapy) charakterizující difuzi na základě složek difuzního tenzoru. Nejpoužívanějšími skalárními mapami jsou mapy frakční anizotropie (FA), aparentního difuzního koeficientu (ADC) a stopy tenzoru (Tr, trace), popř. prostý difuzně vážený obraz (DWI).

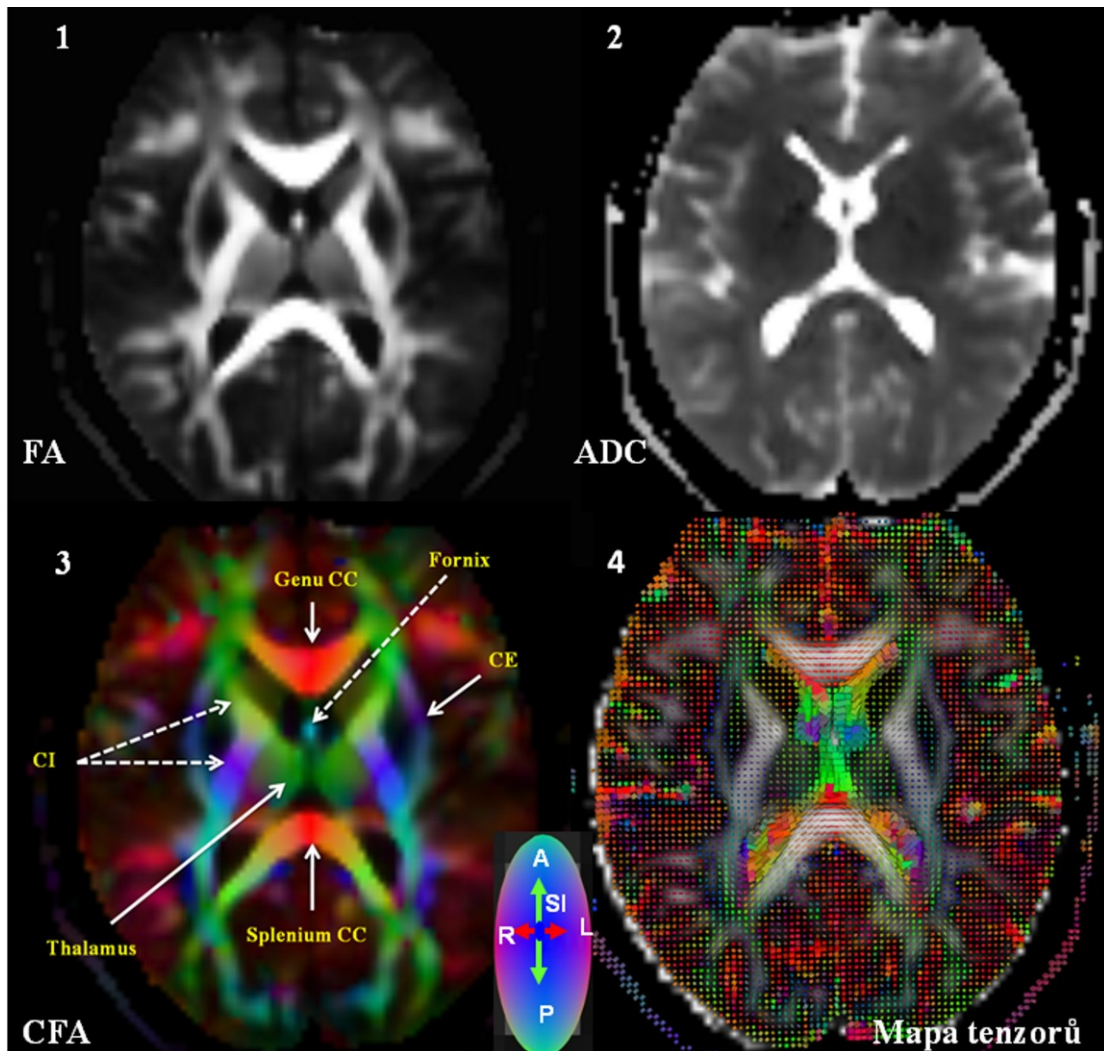
Frakční anizotropie

Frakční anizotropie (FA) je jeden z nejpoužívanějších DTI indexů odrážející uspořádání a mikroarchitekturu vyšetřované tkáně. FA je směrově závislá veličina, která se odvozuje od vlastních čísel matice tenzoru ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$) a pohybuje se v rozsahu od 0 (izotropie) do 1 (maximální anizotropie). Frakční anizotropie je vypočítána podle následující rovnice:

$$FA = \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2 + (\lambda_1 - \lambda_3)^2}}{\sqrt{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}}$$

λ_1, λ_2 a λ_3 jsou vlastní čísla difuzní matice (eigenvalues).

Všechny biologické faktory přispívající k výsledné hodnotě FA nejsou přesně známy. Nicméně zásadní roli při tvorbě této anizotropie v mozku hraje hustota axonů, směrová soudržnost svazků bílé hmoty a stupeň myelinizace axonů (26). FA je důležitým parametrem při posouzení stavu bílé hmoty, která ve zdravé tkáni vykazuje výraznou anizotropii difuze. Šedá hmota má velmi nízké hodnoty FA, a proto má na FA mapě šedou barvu, likvor je pak na FA mapách zobrazen černě (FA = 0 = izotropie). Směr maximální difuzivity může být na FA mapách mapován pomocí barev (nejčastěji RGB systém) a hodnota FA pomocí intenzity (jasu) jednotlivých pixelů mapy. Výsledkem je sumární mapa, ze které je možno určit jak stupeň anizotropie, tak i lokální orientaci nervového vlákna. (Obr. 3.8)



Obr. 3.8. Rekonstrukce skalárních map a směrové mapy difuzního zobrazení u zdravého dobrovolníka v programu MedINRIA metodou FACT. (1) Mapa frakční anizotropie (FA) bez informace o směru nervových svazků. (2) Mapa aparentního difuzního

koeficientu (ADC) udává průměrnou difuzivitu v každém voxelu bez ohledu na směr difuze. (3) Kombinací FA mapy a směrové mapy vzniká barevná mapa FA (color coded directionality FA map). Barvy RGB (red, green, blue) naznačují hlavní difuzní směry (směry traktů bílé hmoty) v každém voxelu: červená barva: levo-pravý, zelená barva: anterior-posterior, modrá barva: superior-inferior, CE: capsula externa, CI: capsula interna. (4) Mapa tenzorů ukazuje hlavní difuzní vektor v každém voxelu FA mapy.

Aparentní difuzní koeficient a stopa tenzoru

Další často používanou skalární mapou udávající průměrnou difuzivitu v každém voxelu bez ohledu na směr difuze je aparentní difuzní koeficient (ADC) (Obr. 3.8). ADC se vypočítá následujícím způsobem z vlastních čísel difuzní matice

$$ADC = \frac{(\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)}{3}$$

Často se také místo ADC používá tzv. stopa (Tr, trace) difuzního tenzoru, která je dána prostým součtem jeho vlastních čísel. Platí tedy

$$Tr = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3) = 3 \cdot ADC$$

V některých případech ADC mapa poskytuje přesnější informace než DWI obrazy, zejména při eliminaci takzvaného svítícího efektu v důsledku prodloužení T2 relaxačního času (T2 shine through effect). Příkladem využití ADC mapy může být určení abnormálního MR signálu v důsledku cytotoxického edému, kdy dojde k poruše Na⁺/K⁺ pumpy a nahromadění vody uvnitř buňky. Signál na ADC mapách u akutního infarktu (cytotoxického edému) je hypointenzní na rozdíl od difuzně váženého obrazu, kde je signál hyperintenzní (35, 36).

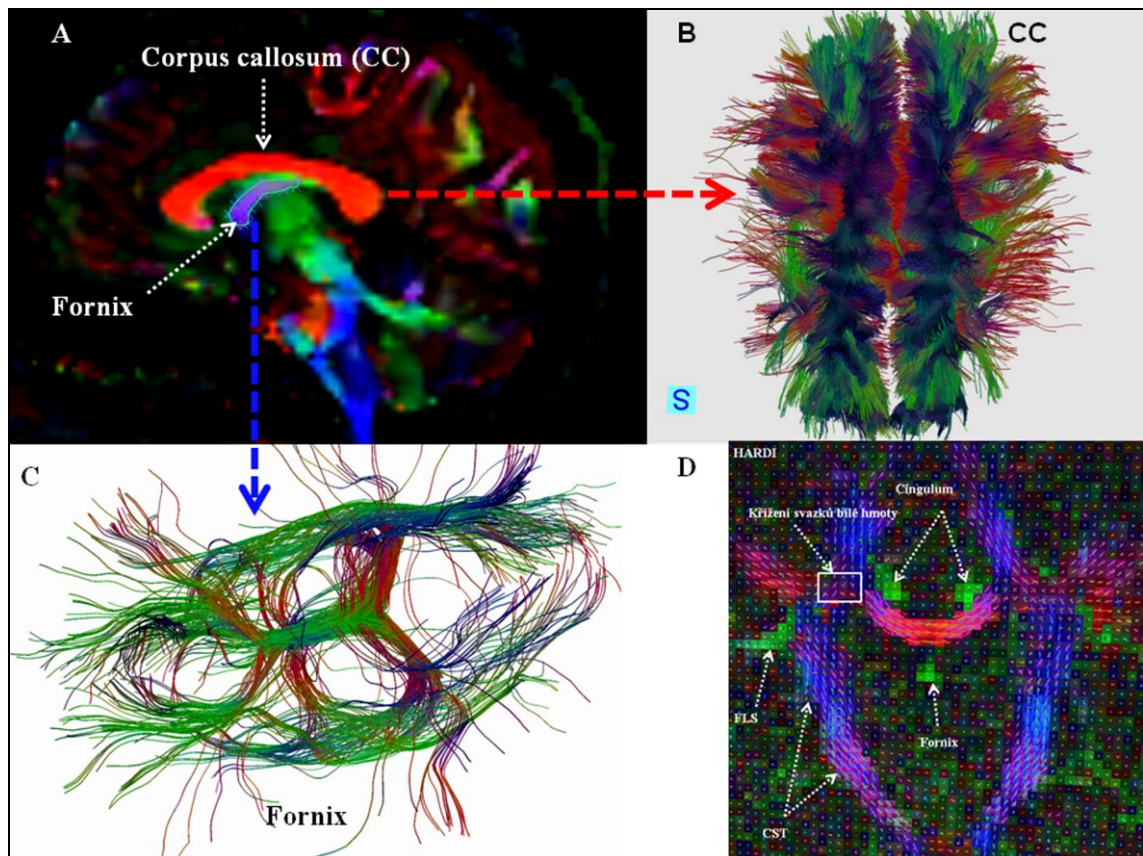
3.2.4. Rekonstrukční algoritmy difuzního tenzoru a MR traktografie

Pro rekonstrukci nervových svazků bílé hmoty byla navržena celá řada algoritmů, které lze rozdělit do dvou základních skupin: deterministické a pravděpodobnostní. Dále je uveden stručný výklad obou metod.

Deterministické metody jsou založeny na využití lokální informace tenzoru v každém voxelu. Mezi zástupce této skupiny patří tzv. *streamline tracking techniques* - sledování a spojení hlavních vektorů difuzního elipsoidu v jednotlivých voxelech (37). Příkladem této skupiny algoritmů je Fiber assignment by continuous tracking (FACT, 38). FACT algoritmus je jedna z nejpoužívanějších metod rekonstrukcí svazků bílé hmoty. Při rekonstrukci svazků axonů se zadá startovací bod (seed point) a spojuje se jeden hlavní vektor s dalším hlavním vektorem v sousedním voxelu. Pokračuje se při tom tak dlouho, dokud hodnota frakční anizotropie neklesne pod stanovenou kritickou hodnotu (např. $FA = 0.25 - 0.35$) nebo pokud velikost úhlu mezi hlavními vektory v sousedních voxelech nepřekročí stanovený mezní úhel (např. 45°). Ačkoliv rekonstrukční techniky streamline vystihují velmi dobře paralelně orientované svazky WM, selhávají tyto techniky při křížení (crossing fibers) nebo větvení (branching fibers) nervových drah. Tato limitace algoritmu vedla k vývoji nových metod takzvaných *high angular resolution diffusion imaging* (HARDI) metod, u kterých je směr svazků v každém voxelu popsán distribuční funkcí, tzv. *orientation distribution function* (ODF) a které umožňují zobrazení více než jednoho směru difuze ve voxelu. Příkladem HARDI technik jsou Q-ball imaging - QBI (39) nebo diffusion spectrum imaging - DSI (40). Ačkoliv jsou tyto techniky velmi žádoucí pro zpřesnění parametrů difuze, jsou časově velice náročné.

Pravděpodobnostní metody: Princip těchto metod spočívá v hledání spojnice mezi dvěma předem definovanými body (voxely) minimalizací určité funkce (tzv. globální energie) během hledání možné cesty. Pravděpodobnostní metody jsou velmi užitečné zejména při rekonstrukci svazků bílé hmoty v oblastech s nízkou FA - například v oblastech, kdy svazek vede skrze šedou hmotu, při křížení drah a při rekonstrukci složitějších svazků bílé hmoty (38).

Příklad rekonstrukce svazků bílé hmoty v corpus callosum a fornix u zdravého dobrovolníka v programu MedINRIA metodou FACT je na Obr. 3.9.



Obr. 3.9. Vizualizace svazků bílé hmoty v corpus callosum a fornix u 30letého dobrovolníka. Výběr oblasti zájmu v corpus callosum a fornix na střední sagitální vrstvě barevné FA mapy (A) a následné rekonstrukce svazků bílé hmoty v obou vybraných oblastech metodou FACT (B-C). D) Tvorba tenzorové mapy (ODF, distribuční funkce) technikou HARDI zachycuje křížení svazků. FLS: fasciculus longitudinalis superior. CST: kortikospinální trakt.

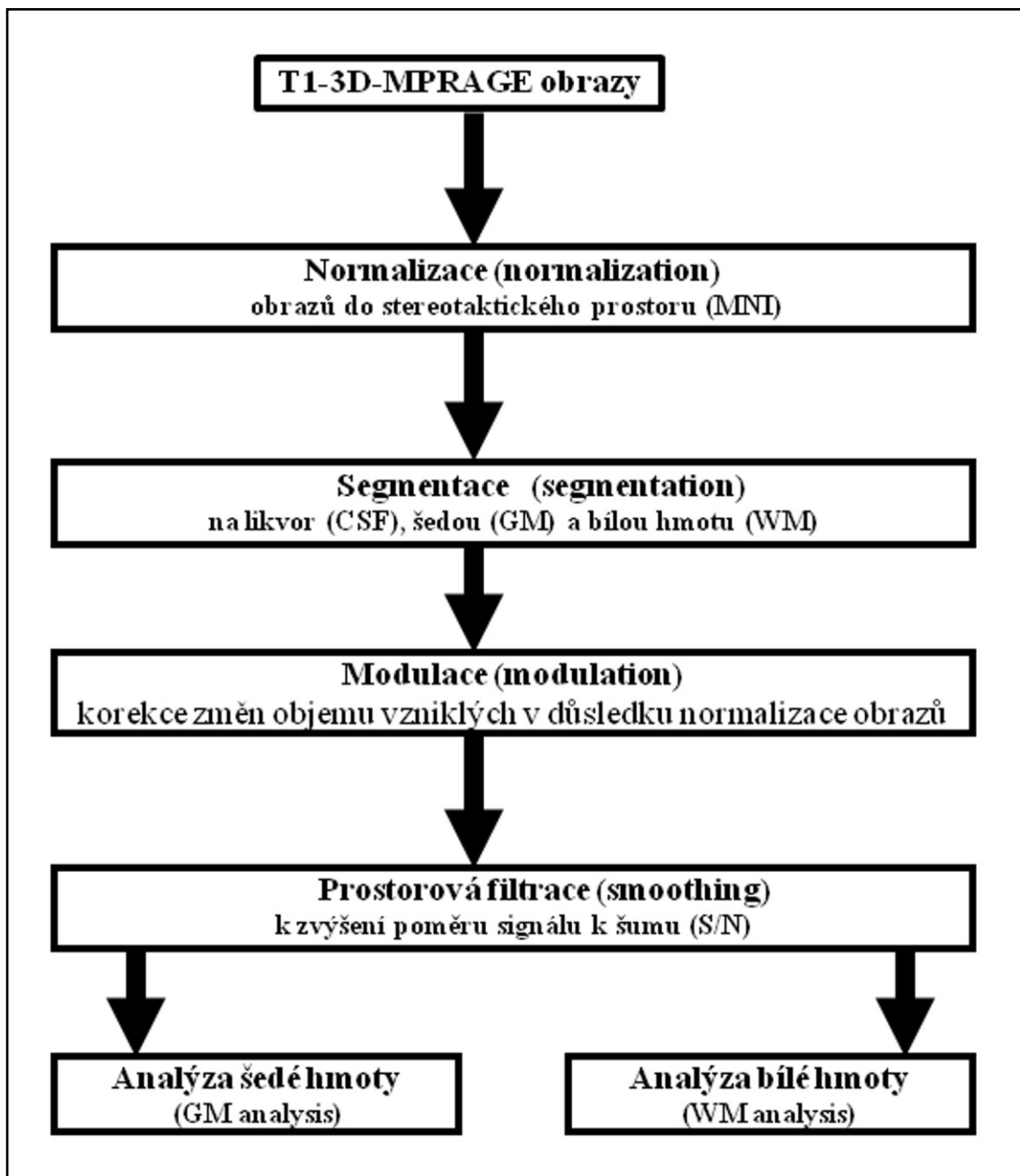
3.3 Morfometrická analýza celého mozku

Porovnávání strukturálních změn celého mozku na MR obrazech mezi dvěma skupinami (např. pacienti versus kontrolní subjekty) voxel po voxelu se stává důležitou metodou ve výzkumu různých neurologických a psychiatrických chorob CNS. Neuropatologické změny v mozkové tkáni často vedou k ztrátě neuronů a k lokální nebo celkové atrofii mozku. Charakteristické rysy atrofických změn mozkové tkáně jsou přitom často specifické pro dané neurodegenerativní onemocnění (41). Konvenční morfometrické techniky pro odhad atrofie na MR obrazech zahrnují vizuální hodnocení zkušenými radiology nebo manuální výběry oblasti zájmu (region of interest - ROI) technikou ROI-based morphometry (42). Morfometrická analýza (voxel based morphometry - VBM) je na rozdíl od ROI-volumetrie objektivní a automatická analýza celého mozku bez ohledu na neuroanatomické znalosti vyšetřujícího. Z 3D-MR obrazů můžeme pomocí VBM techniky identifikovat lokální rozdíly jak v šedé, tak v bílé hmotě mozkové. Podle komplexnosti použitých algoritmů můžeme VBM rozdělit na standardní a optimalizovanou VBM (43).

3.3.1 Standardní morfometrická analýza

Tato morfometrická analýza VBM vyžaduje čtyři hlavní kroky (Obr. 3.10):

- 1) Všechny anatomické MR obrazy měřené s vysokým rozlišením (T1-3D MPRAGE) jsou normalizovány do společného stereotaktického prostoru (MNI).
- 2) Normalizované obrazy jsou pak segmentovány na šedou a bílou hmotu mozkovou (GM, WM) a na likvor (CSF).
- 3) Pro zvýšení poměru signálu k šumu a pro zajištění správných statistických vlastností dat (Gaussovské rozdělení) potřebných pro další analýzu je segmentovaná šedá a bílá hmota prostorově filtrována konvolučním Gaussovým filtrem (FWHM 8-12 mm). Volitelným krokem je pak takzvaná modulace obrazu. Účelem modulace je korekce změn objemu vzniklých v důsledku normalizace MR obrazů.
- 4) Posledním krokem je statistická analýza pomocí obecného lineárního modelu pro zjištění signifikantních rozdílů mozkových struktur mezi studovanými skupinami.



Obr. 3.10. Schematické znázornění standardní morfometrické analýzy - VBM. Strukturální T1-3D MPRAGE obrazy jsou normalizovány, segmentovány, prostorově filtrovány a voxel po voxelu statisticky analyzovány pomocí obecného lineárního modelu v programu SPM8.

3.3.2. Optimalizovaná morfometrická analýza

Modifikovanou verzí standardní VBM je takzvaná optimalizovaná VBM (43). Optimalizace této metody spočívá zejména v odstranění chyb segmentace vzniklých u standardní VBM. Anatomické MR obrazy jsou nejdříve segmentovány na GM a WM, teprve potom jsou normalizovány do stereotaktického prostoru. Normalizované parametry jsou následně aplikovány na původní MR anatomické obrazy a potom znovu segmentovány na GM a WM. Další kroky jsou totožné jako u standardní VBM (modulace, prostorové vyhlazení a statistická analýza (44)).

Ačkoliv je VBM jednoduchá a citlivá metoda k subtilním změnám mozkových struktur, vyžaduje kvalitní vstupní MR obrazy, bezchybnou koregistraci a segmentaci.

3.4. Studované choroby

V následující části jsou stručně popsány choroby studované v této práci. Uvedené popisy mají pouze informativní charakter. Detaily jednotlivých onemocnění lze nalézt v uvedených odkazech.

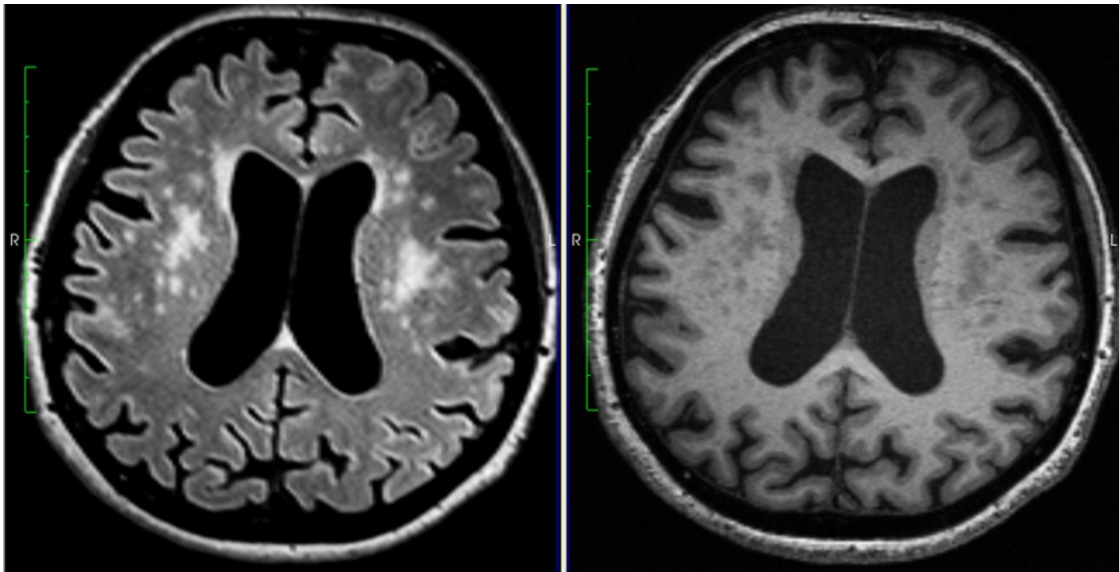
3.4.1. Alzheimerova choroba

Alzheimerova nemoc (AD) je chronické neurodegenerativní onemocnění, které postihuje jak šedou, tak bílou hmotu mozkovou (45, 46). Je nejčastější formou demence a v současné stárnoucí populaci představuje velký sociální problém. Hlavními rysy této choroby je celková atrofie mozku, především mediálních struktur temporálního laloku včetně hipokampu a entorinální kůry s progresivní kognitivní dysfunkcí a poruchou paměti (47). Příčiny vzniku AD nejsou přesně známy. Typickým histopatologickým nálezem u AD je přítomnost extracelulárních senilních plaků (depozita beta-amyloidu) a intracelulárních neurofibrilárních klubíček (tau protein). Tyto škodlivé proteiny způsobují degenerativní změny nebo destrukci neuronů a jejich synaptických spojů (48-51), a tím i změnu difuze molekul vody v mozkové tkáni, která je dobře zobrazitelná pomocí DWI a DTI. Tyto změny lze pak kvantifikovat měřením hodnot frakční anizotropie (FA) a aparentního difuzního koeficientu (ADC). Neurobiologické změny se u AD projevují mnohem dříve (roky) než se projevují symptomy. Proto kvantitativní hodnocení difuzních změn, volumetrické hodnocení, časná detekce a správná diagnostika jsou předpoklady pro adekvátní léčbu Alzheimerovy nemoci.

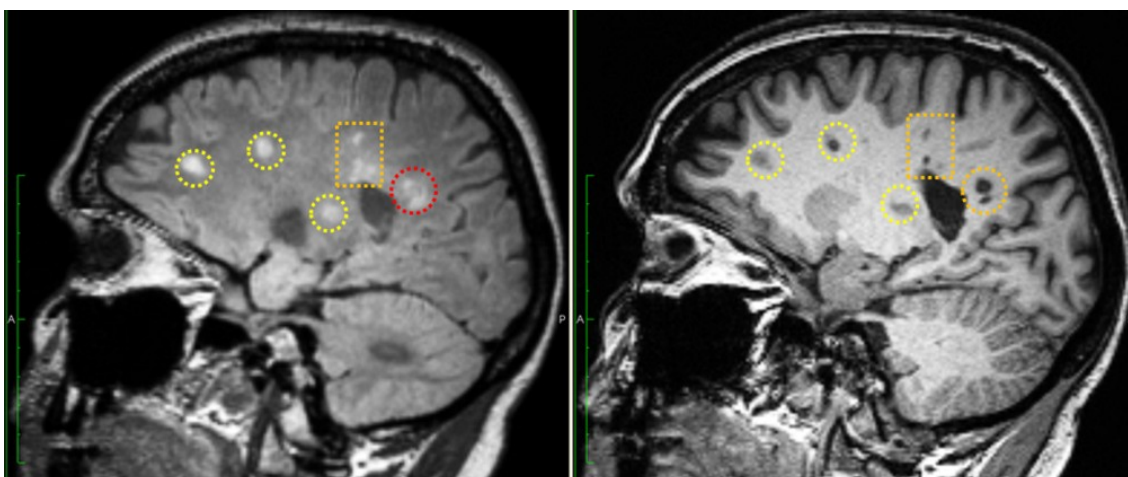
3.4.2. Roztroušená skleróza

Roztroušená skleróza je autoimunitní chronické zánětlivé onemocnění CNS s četnými demyelinizačními ložisky a vznikem gliotických plaků. Charakteristické rysy RS choroby na MR obrazech jsou léze bílé hmoty v mozku a míše a atrofie související s axonálními změnami (52, 53). Demyelinizační ložiska jsou přítomné hlavně v periventrikulárních oblastech (54, 55). Etiologie této choroby je dosud neznámá. Zásadní roli při vzniku této choroby pravděpodobně hrají genetická predispozice a virové infekce. Choroba postihuje zejména mladší dospělé jedince mezi 18. a 40. rokem života a je nejčastější příčinou předčasné invalidity těchto lidí. Demyelinizační procesy postihují svazky bílé hmoty včetně největšího komisurálního svazku bílé

hmoty, corpus callosum (CC). Protože hraje corpus callosum velmi důležitou roli při přenosu informací mezi oběma hemisférami mozku, může jeho poškození u pacientů s MS způsobit vážné kognitivní dysfunkce. Podobně jako u pacientů s AD, patofyziologické změny probíhají mnohem dříve, než se objevují symptomy nebo než jsou strukturální změny patrné na MR obrazech. Z tohoto důvodu jsme u pacientů s MS zkoumali integritu WM v CC (podrobnosti jsou uvedeny v experimentální části). Typické nálezy u obou zmíněných chorob jsou patrné na 3D FLAIR a MPRAGE obrazech (Obr. 3.11, Obr. 3. 12).



Obr. 3. 11. MR obrazy naměřené sekvencemi FLAIR a MPRAGE u pacienta s AD ukazují celkovou atrofii mozku, rozšířené komory a hyperintenzní změny bílé hmoty.



Obr. 3. 12. MR obrazy naměřené sekvencemi FLAIR a MPRAGE u pacienta s MS ukazují typická oválná demyelinizační ložiska v bílé hmotě v periventrikulárních oblastech.

3.4.3. Obsedantně-kompulzivní porucha

Obsedantně-kompulzivní porucha (OCD) je chronické duševní onemocnění, spojené s dysfunkcí serotoninového systému a hypersenzitivitou postsynaptických serotoninových receptorů (56). Pacienti s OCD trpí obavami a vtíravými a nepříjemnými myšlenkami, které vedou k psychickým problémům. Tyto obavy z obsesí nutí pacienty ke kompulzi (např. ritualizované jednání). Kompulzemi se pacienti zbavují obsesivních myšlenek. OCD je symptomatologicky různorodá. Ačkoliv morfologické změny na MR obrazech nejsou patrné, řada DTI a VBM studií ukázala změny jak v bílé, tak v šedé hmotě mozkové, především ve frontoorbitálních oblastech, přední kůře cingulum a nucleus caudatus (57-63).

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V následující části jsou uvedeny původní experimentální výsledky dizertační práce. Nejdříve jsou uvedeny protokoly MR vyšetření tak, jak byly použity v jednotlivých studiích. Dále následuje stručný obsah a hlavní závěry publikovaných článků týkající se tématu dizertační práce.

4.1. Protokoly MR vyšetření

4.1.1. DTI protokol

Pro měření DTI byla použita sekvence dvojitého spinového echa (SE) EPI (spin-echo echo-planar imaging) se dvěma páry bipolárních gradientních pulzů, které vytvářejí celkový b faktor $b = 1000 \text{ s/mm}^2$. Dva různé protokoly pro měření difuze, které byly použity na přístrojích Siemens Vision 1.5T (se standardní jednobáňovou hlavovou cívkou) a Siemens Trio 3T (s 12-ti kanálovou cívkou) jsou uvedeny v [Tabulce 4.1](#).

Tabulka 4.1. Použité protokoly pro měření difuze na přístrojích Siemens Vision 1.5T a Siemens Trio 3T.

DTI protokoly	1.5T Siemens Vision	3T Siemens Trio
Lokalizace (min:s)	0:10	0:10
Počet vrstev	27	44
Orientace	transverzální	transverzální
FOV (mm)	320 x 320	256 x 256
Rozlišení (mm)	2.5 x 2.5 x 2.5	2 x 2 x 2
TR (ms)	6000	6000
TE (ms)	110	93
Počet opakování	3	3
b-faktor (s/mm^2)	0, 1000	0, 1000
Počet difuzních směrů	6	20
Čas měření (min:s)	5:36	6:38
PAT faktor	-	2

FOV - *field of view*, TR - *repetiční čas*, TE - *echo čas*, PAT - *paralelní akviziční technika*.

4.1.2. Sekvence MPRAGE

Pro morfologické účely a zobrazení anatomických detailů byly měřeny T1-3D vážené obrazy MPRAGE (magnetization prepared rapid acquisition gradient echo) s vysokým prostorovým rozlišením. Příslušné měřící protokoly jsou uvedeny v [Tabulce 4.2](#).

Tabulka 4.2. *Protokoly pro měření sekvence MPRAGE, které byly použity na přístrojích Siemens Vision 1.5T a Siemens Trio 3T.*

3D - MPRAGE	1.5T Siemens Vision	3T Siemens Trio
Lokalizér (min:s)	0:10 min.	0:10
Počet vrstev	160	192
Orientace	sagitální rovina	sagitální rovina
FOV (mm)	256 x 256	326 x 326
Rozlišení (mm)	1.0 x 1.0 x 1.0	0.85 x 0.85 x 0.85
TR (ms)	2010	2000
TE (ms)	7	4.73
Počet opakování	1	1
Sklápěcí úhel	10°	10°
Čas měření (min:s)	10:00	10:42

FOV - *field of view*

TR - *repetiční čas*

TE - *echo čas*

4.1.3. Sekvence FLAIR a SWI

Pro detekci lézí v bílé hmotě u pacientů s MS a AD byla použita sekvence FLAIR (fluid attenuated inversion recovery). Zároveň u pacientů s AD byla použita sekvence susceptibilitně vážených MR obrazů (susceptibility weighted imaging - SWI), která je velmi citlivá k paramagnetickým substancím a je vhodným vyšetřovacím protokolem k detekci mikrokrvácení a intrakraniální kalcifikace. Oba protokoly měření byly provedeny na přístroji Siemens 3T Trio. Příslušné měřicí protokoly jsou uvedeny v [Tabulce 4.3](#).

Tabulka 4.3. Protokoly pro měření sekvencí 3D FLAIR a 3D SWI, které byly použity na přístroji Siemens 3T Trio.

	FLAIR	SWI
Lokalizace (min:s)	0:10 min	0:10
Počet vrstev	176	104
Orientace (rovina)	sagitální	transverzální
FOV (mm)	256 x 256	230 x 230
Rozlišení (mm)	1.0 x 1.0 x 1.0	0.6 x 0.6 x 0.8
TR (ms)	6000	33
TE (ms)	422	20
Počet opakování	1	1
Sklápěcí úhel	10°	15°
Čas měření (min:s)	6:38	5:20
PAT faktor	2	-

FOV - *field of view*

TR - *repetiční čas*

TE - *echo čas*

4.1.4. FMRI protokol

Všechna měření fMRI (functional magnetic resonance imaging) byla provedena na přístrojích Siemens Vision 1.5T a Siemens Trio 3T s použitím sekvencí gradientního echa GE EPI u dobrovolníků, a zejména u dětských pacientů v rámci předoperačního vyšetření. V této práci byly použity různé typy stimulace: test verbální fluence (VF), test krátkodobé paměti (WM-working memory), stimulace zrakové kůry a motoriky (pravá a levá horní a dolní končetina (PHK-LHK, PDK-LDK)). Příslušné měřicí protokoly jsou uvedeny v [Tabulce 4.4](#).

Tabulka 4.4. Protokoly pro měření sekvence GE EPI, které byly použity na přístrojích Siemens Vision 1.5T a Siemens Trio 3T.

BOLD protokoly	1.5T (Siemens Vision)	3T (Siemens Trio)
Lokalizér (min:s)	0:10 min	0:10 min
Počet vrstev	24	44
Orientace (rovina)	transverzální	transverzální
FOV (mm)	230 x 230	208 x 208
Rozlišení (mm)	1.8 x 1.8 x 4.0	2.0 x 2.0 x 2.0
TR (ms)	4000	3000
TE (ms)	54	30
Počet opakování	1	1
Sklápěcí úhel	90°	90°
Čas měření (min:s)	4:26	5:11
Počet obrazů	64 (8/klid, 8/stimulace)	100 (10/klid, 10/stimulace)
PAT faktor	-	2

FOV - field of view

TR - repetiční čas

TE - echo čas

5. Výsledky

Souhrn článků týkajících se tématu dizertační práce

V následující části je uveden stručný obsah a hlavní závěry vybraných publikovaných článků týkajících se tématu dizertační práce. Projekty se týkají Alzheimerovy nemoci (studie 1-4), roztroušené sklerózy (studie 5) a obsedantně-kompulzivní poruchy (studie 6). Dále studie 7 a další se týkají vyšetření fMRI provedených u kontrol a u dětských pacientů s různou patologií mozkové tkáně. Detaily jednotlivých studií lze nalézt v příslušných článcích v příloze dizertační práce.

5.1. Projekty týkající se problematiky Alzheimerovy choroby

Studie 1

Kombinace morfometrie a zobrazení difuzního tenzoru u pacientů s Alzheimerovou chorobou

Úvod

S prodlužováním střední délky života a stále stárnoucí populací se zvyšuje počet pacientů s demencí, zejména pak s Alzheimerovou nemocí (AD). Identifikace anatomických rozdílů charakteristických pro danou chorobu se stává důležitým nástrojem jak ve výzkumu, tak v klinických aplikacích u různých neurodegenerativních onemocnění centrálního nervového systému. Tato studie se zabývá hodnocením strukturálních změn šedé hmoty (GM) a změn frakční anizotropie (FA) v bílé hmotě (WM) mozkové u pacientů s AD v porovnání s kontrolní skupinou pomocí morfometrického hodnocení (voxel-based morphometry-VBM) bílé a šedé hmoty (43, 64,65). Zároveň je u obou skupin provedeno kvantitativní vyhodnocení difuzních vlastností corpus callosum pomocí techniky difuzního tenzoru (DTI).

Metody a materiál

Dvacet jedna pacientů s AD (průměrný věk $73,7 \pm 7,6$ roků) a 23 zdravých kontrol, (průměrný věk $66,7 \pm 5,8$ roků) bylo podrobena kognitivnímu testu MMSE a vyšetření magnetickou rezonancí na 1.5T tomografu Siemens Vision s následujícím protokolem: 1) T1-vážený 3D MPRAGE. 2) Pro měření DTI byla použita sekvence SE-EPI se 6 směry difuzních gradientů a s dvěma b-faktory 0 a 1000 s/mm^2 . Strukturální data byla analyzována v SPM5 použitím protokolu pro optimalizovanou VBM. Normalizované, segmentované a prostorově filtrované obrazy šedé a bílé hmoty a FA mapy byly statisticky testovány s použitím obecného lineárního modelu s t-testem a věkem jako kovariátou. Závislost objemu GM na věku a MMSE byla testována vícenásobnou regresní analýzou jak u pacientů, tak u kontrolní skupiny. Na DTI datech byla provedena korekce pohybových artefaktů a normalizace dat do stereotaktického prostoru – Montreal Neurological Institute (MNI). Analýza DTI dat byla provedena softwarem MedINRIA. Jako oblast zájmu (region of interest analysis - ROI) byla manuálně vybrána oblast corpus callosum (CC) na střední sagitální vrstvě normalizovaných FA map. Pro každý subjekt v obou skupinách pak byly v CC spočteny hodnoty frakční anizotropie a následně provedena korelační analýza mezi FA hodnotami a věkem a mezi FA a MMSE (Obr. 5.1, Tabulka 5.1).

Výsledky

U pacientů s AD byla ve srovnání s kontrolami prokázána signifikantní redukce objemu GM ($p < 0,005$) a to převážně v *temporálních lalocích* (TL) a v *insule* (Obr. 5.2). Zároveň byl u AD zaznamenán pokles v hodnotách FA bílé hmoty ve frontálních a temporálních lalocích (Obr. 5.2). U pacientů s AD jsme neprokázali korelaci mezi úbytkem GM ani s věkem ani s MMSE. Kontrolní skupina také neprokázala signifikantní korelaci mezi GM a MMSE. Nicméně u kontrolní skupiny byla prokázána negativní korelace objemu šedé hmoty s věkem v temporálních, frontálních a okcipitálních lalocích. Zároveň nebyla ani u jedné skupiny prokázána signifikantní korelace mezi FA ani s věkem ani s MMSE (Obr. 5.1). Průměrná hodnota frakční anizotropie (FA) v corpus callosum byla u pacientů signifikantně nižší ($p < 0,0001$) a průměrná difuzivita (MD) vyšší ($p < 0,0001$) ve srovnání s kontrolními subjekty (Tabulka 5.1).

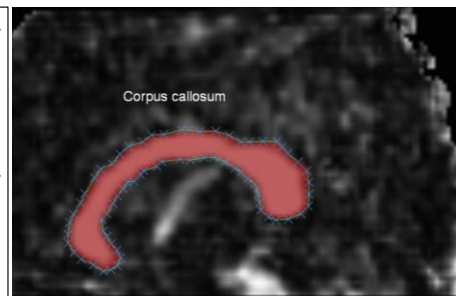
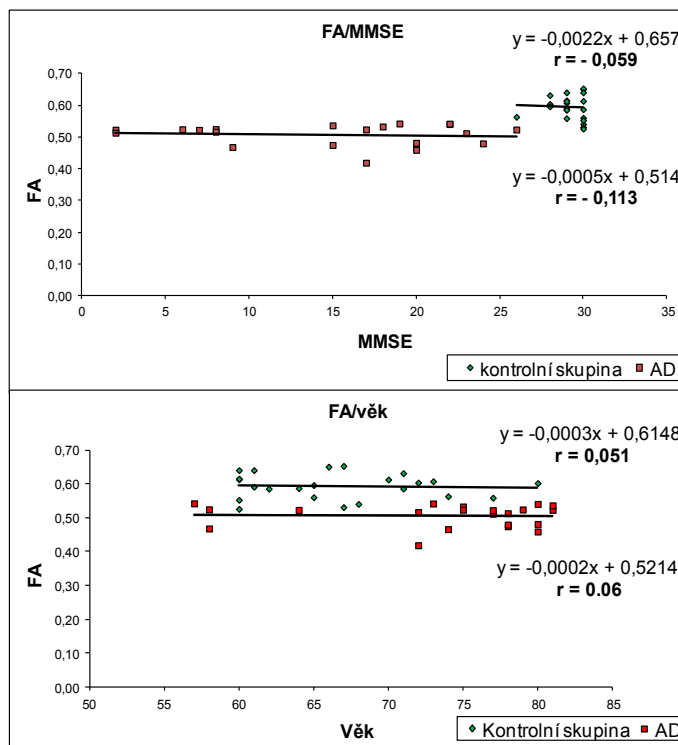
Závěr

Závěr této studie ukazuje, že u pacientů s AD dochází k redukci objemu GM, poklesu hodnot FA a k nárůstu MD ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých dobrovolníků. Absence signifikantní korelace objemu GM s věkem u pacientů svědčí o tom, že AD není kontinuální věkově podmíněný proces morfologických změn, ale představuje kvalitativní změny šedé hmoty mozkové.

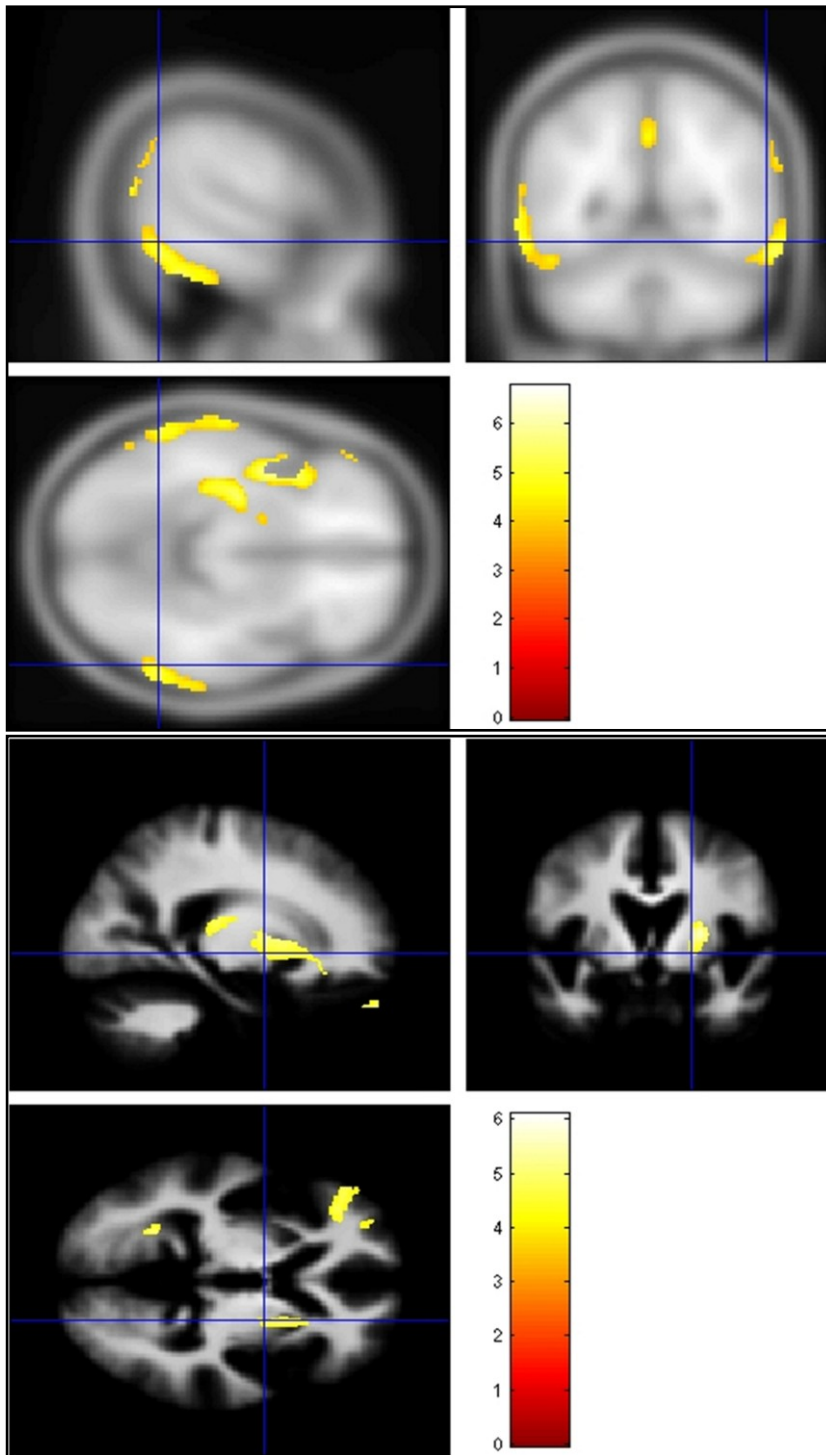
Tabulka 5.1. Průměrné hodnoty frakční anizotropie (FA) a průměrné difuzivity (MD) v corpus callosum u pacientů s AD a kontrolních subjektů.

Difuzní indexy	AD (n = 21)	Kontroly (n = 23)	Hladina významnosti
FA (min – max)	0,51 (0,42–0,54)	0,59 (0,53–0,65)	$p < 0,0001$
MD (min – max)	1,26 (1,10–1,58)	1,03 (0,93–1,17)	$p < 0,0001$

n: počet subjektů, MD: průměrná difuzivita ($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$), min-max: minimální a maximální hodnoty FA a MD, AD: Alzheimerova nemoc.



Obr. 5.1. Výběr corpus callosum jako oblasti zájmu (ROI) na střední sagitální vrstvě normalizovaných map FA (A). Bodové grafy ukazují korelaci mezi frakční anizotropií (FA) a výsledky kognitivního testu MMSE (horní graf) a mezi FA a věkem (dolní graf).



Obr. 5.2. Morfometrická analýza (VBM) ukazuje signifikantní redukci objemu šedé hmoty (horní obrázek) u pacientů s AD ve srovnání s kontrolní skupinou hlavně v temporálních lalocích. Dále v insule, pravém parietálním laloku a pravém cuneus. Analýza VBM ukazuje nižší hodnoty FA u pacientů ve srovnání s kontrolami (dolní obrázek) především ve frontálních a temporálních oblastech. Dále v corpus callosum a v insule. Barevné kódování reprezentuje T-hodnoty.

Studie 2

Hodnocení integrity bílé hmoty in vivo v corpus callosum u pacientů s Alzheimerovou nemocí pomocí zobrazení difuzního tenzoru.

Úvod

Ačkoliv je Alzheimerova nemoc považovaná za chorobu především šedé hmoty, histologické studie ukazují patologické změny také v bílé hmotě (66). Cílem této studie bylo hodnocení změn mikroarchitektury bílé hmoty in vivo v corpus callosum metodou DTI u pacientů s AD.

Metody a materiál

Deset pacientů s AD s průměrným věkem $78,90 \pm 3,98$ roků a 10 kontrol s průměrným věkem $79,30 \pm 4,81$ roků bylo podrobena kognitivnímu testu MMSE a vyšetřeno magnetickou rezonancí na 3T tomografu Siemens Trio následujícím protokolem: 1) Pro morfologické účely byly provedeny T1-vážené 3D MPRAGE. 2) Pro měření DTI byla použita sekvence spinového echa SE-EPI s 20-ti směry difuzních gradientů a s dvěma hodnotami b-faktoru 0 a 1000 s/mm^2 . Na DTI datech byla provedena korekce pohybových artefaktů pomocí programu FSL. Data byla následně normalizována do stereotaktického prostoru (MNI). Analýza DTI dat byla provedena softwarem MedINRIA. Jako oblast zájmu (ROI) byl na střední sagitální vrstvě normalizovaných map FA manuálně vybrán corpus callosum (CC). Pro každý subjekt byly v celém corpus callosum a dále i zvláště v jeho hlavních částech (genu, truncus a splenium) spočteny hodnoty frakční anizotropie (FA) a aparentního difuzního koeficientu (ADC), (Obr. 5.3).

Výsledky

Výsledky ukazují, že ve srovnání s kontrolní skupinou dochází u pacientů s AD k signifikantní redukci hodnot FA ve všech vybraných oblastech zájmu – genu ($p < 0,006$), truncus ($p < 0,005$) a splenium ($p < 0,001$) i v celém corpus callosum ($p < 0,002$) (Tabulka 5.3). Výsledky zároveň ukazují nárůst v hodnotách ADC u pacientů s AD ve splenium ($p < 0,0002$), truncus ($p < 0,02$) a v celém corpus callosum ($p < 0,01$) (Tabulka 5.4). Oproti předchozí studii (studie 1 na 1.5T tomografu) zde byla

nalezena významná korelace mezi hodnotami FA v CC a věkem u kontrolní skupiny ($r = -0,8784$, $p = 0,0008$). Tyto rozdíly můžeme odůvodnit: 1) vyšším poměrem signál/šum při 3T tomografu a 2) vyšším věkovým průměrem kontrolních subjektů v této studii (79 roků) oproti předchozí studii (67 roků). Na rozdíl od kontrolní skupiny, kde FA signifikantně koreluje s věkem, jsme u pacientů s AD nepotvrdili závislost FA na věku ($r = 0,1284$, $p = 0,7237$, Obr. 5.4). Obě skupiny se signifikantně lišily v kognitivním testu MMSE ($p = 0,000001$), přičemž ve věku se nelišily ($p = 0,842$, Tabulka 5.2). Skóre kognitivního testu MMSE bylo u pacientů s AD $19 \pm 3,09$ a u kognitivně zdravých kontrol $28,70 \pm 1,06$.

Závěr

U pacientů s AD dochází v porovnání s kontrolní skupinou k významnému poklesu hodnot FA v corpus callosum v důsledku poškození axonů. Tyto změny mohou souviset s kognitivní a motorickou dysfunkcí u pacientů s AD.

Tabulka 5.2. Demografická data obou skupin (věk, MMSE)

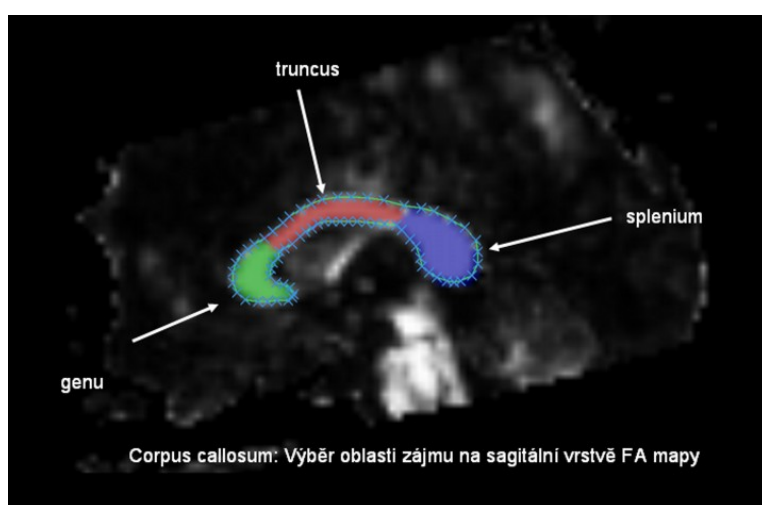
	Kontrolní skupina	Pacienti s AD	p -hodnota
Demografická data	průměr \pm SD	průměr \pm SD	
věk	$79,30 \pm 4,81$	$78,90 \pm 3,98$	0,842
MMSE	$28,70 \pm 1,06$	$19,00 \pm 3,09$	0,0000001

Tabulka 5.3. Signifikantní pokles hodnot FA u pacientů s AD v corpus callosum a jeho hlavních částech ve srovnání s kontrolní skupinou.

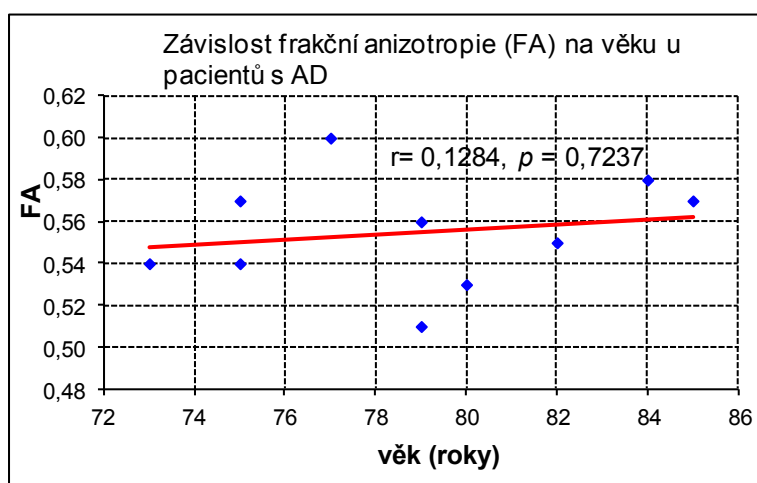
FA	Kontrolní skupina	Pacienti s AD	p -hodnota
	průměr \pm SD	průměr \pm SD	
genu	$0,60 \pm 0,03$	$0,53 \pm 0,06$	0,006
splenium	$0,71 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,05$	0,001
truncus	$0,60 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,06$	0,005
CC	$0,61 \pm 0,04$	$0,55 \pm 0,03$	0,002

Tabulka 5.4. Signifikantní nárůst hodnot ADC ($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) u pacientů s AD v corpus callosum a jeho hlavních částech ve srovnání s kontrolní skupinou

ADC ($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$)	Kontrolní skupina	Pacienti s AD	<i>p</i> -hodnota
	průměr ± SD	průměr ± SD	
genu	1,08 ± 0,07	1,19 ± 0,16	0,06
splenium	0,92 ± 0,06	1,08 ± 0,09	0,0002
Truncus	1,13 ± 0,08	1,23 ± 0,09	0,02
CC	1,07 ± 0,13	1,19 ± 0,04	0,01



Obr. 5.3. Výběr oblastí zájmu (corpus callosum, genu, truncus, splenium) na střední sagitální vrstvě normalizovaných map FA.



Obr. 5.4. Absence korelace FA hodnot s věkem u pacientů s AD.

Studie 3

Využití susceptibilitně váženého zobrazování (SWI) k charakterizaci stavu pacientů s Alzheimerovou chorobou: detekce mikrokrvácení a tkáňových změn v bazálních gangliích.

Úvod

Technika susceptibilitně váženého zobrazování (SWI) se díky své citlivosti k paramagnetickým substancím stala vyhledávaným nástrojem k detekci mikrokrvácení (MK) a intrakraniální kalcifikace v tkáních (67-70). Cílem této studie bylo zhodnotit vliv mikrokrvácení (MK) a pozorovaných změn signálu v bazálních gangliích - BG (nucleus caudatus (NC), putamen (PUT) a globus pallidus (GP)) na stav pacientů s Alzheimerovou nemocí (AD) a s mírnou kognitivní poruchou (MCI) oproti kontrolní věkově přizpůsobené skupině zdravých dobrovolníků.

Metody a materiál

Do studie bylo celkem zařazeno 47 subjektů (19 pacientů s AD, 16 pacientů s MCI a 12 zdravých subjektů). Subjekty byly podrobeny kognitivnímu testu MMSE a dále vyšetřeny magnetickou rezonancí na 3T tomografu Siemens Trio protokolem pro měření SWI. V obrazech 3D-SWI byl hodnocen relativní signál v BG a v celém zobrazeném objemu mozku byl pak zaznamenán počet jednotlivých MK. Signál v BG byl měřen na projekcích minimální intenzity (MIP - minimum intensity projection) a zprůměrován přes objemy struktur v obou hemisférách. Změny signálu v BG a počet MK byly korelovány s údajem MMSE. Pro statistickou analýzu byla použita lineární regrese.

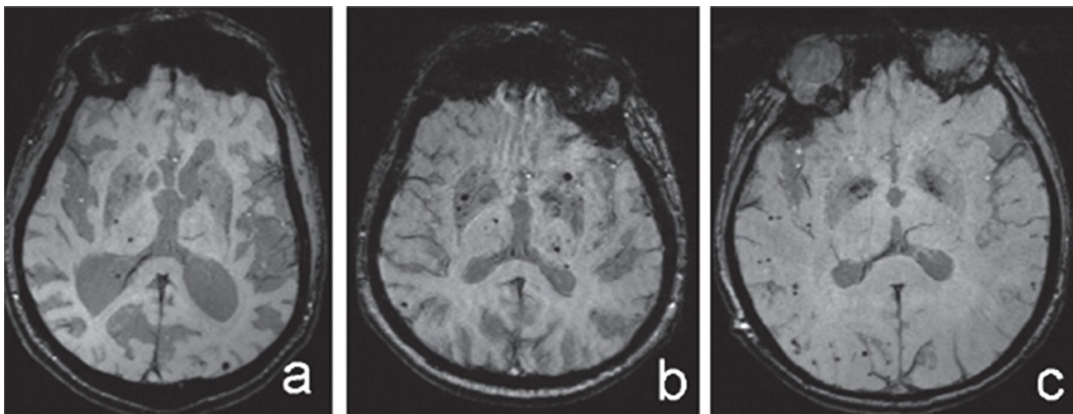
Výsledky

Klinická a demografická data jsou shrnuta v Tabulce 1 (příloha 3). Vynikající citlivost SWI k detekci MK a hemoragii je patrná na Obr. 5.5. Ze všech vyšetřených subjektů byla alespoň 1 léze MK nalezena u 29 (62 %) a více než 4 léze u 8 subjektů (17 %). U pacientů s AD se přitom MK vyskytovaly ve vyšší míře (v průměru 1,89 léze na pacienta) než u MCI (1,38 léze na pacienta) a u kontrol (0,41 léze na pacienta). Tyto

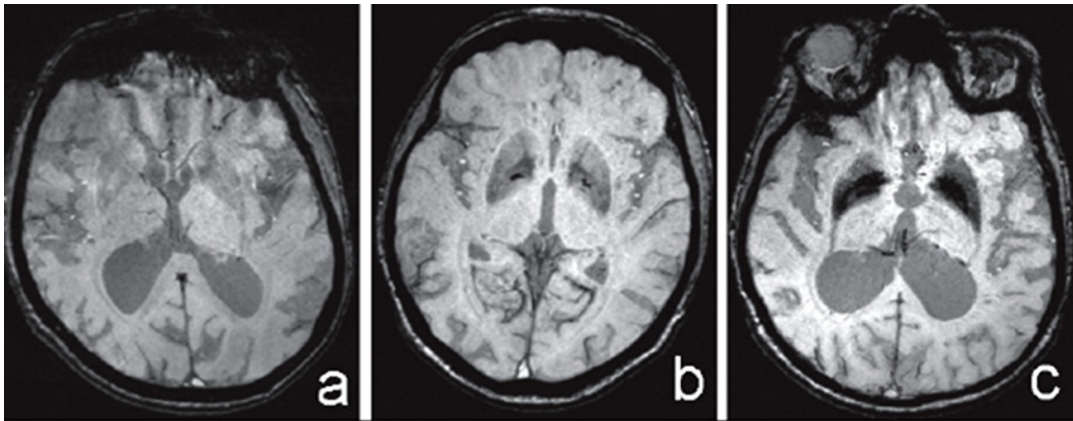
rozdíly však nebyly signifikantní ($p = 0,19$, graf 5.1). Nejvyšší pokles signálu ve strukturách BG byl zaznamenán v GP a v PUT, naopak změny v NC prakticky pozorovány nebyly (Obr. 5.6). I v tomto případě je častější výskyt poklesu signálu u pacientů, lze ho však najít i u řady zdravých kontrol ($p = 0,29$, graf 5.2) v důsledku ukládání železa s věkem v BG.

Závěr

Oba jevy MK a změny signálu v BG studované pomocí SWI představují jiný aspekt možného příspěvku k progresi demence typu AD (vaskulární příspěvek a degradace tkáně v BG). Změny pozorované na SWI mohou přispět do celkového morfologického skóre pacienta a v některých případech mohou pomoci vysvětlit příčinu onemocnění.

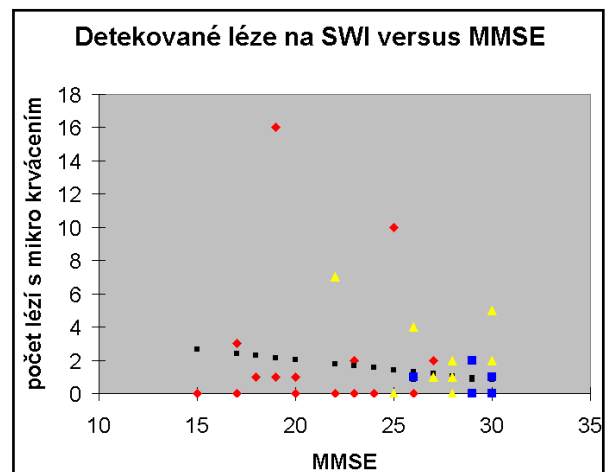


Obr. 5.5. *Demonstrace záhytu MK (mnohočetná tmavá kulatá ložiska) na SWI obraze. Celkový počet detekovaných lézí MK byl u pacientů na a) 16, b) 30 a c) více než 30.*

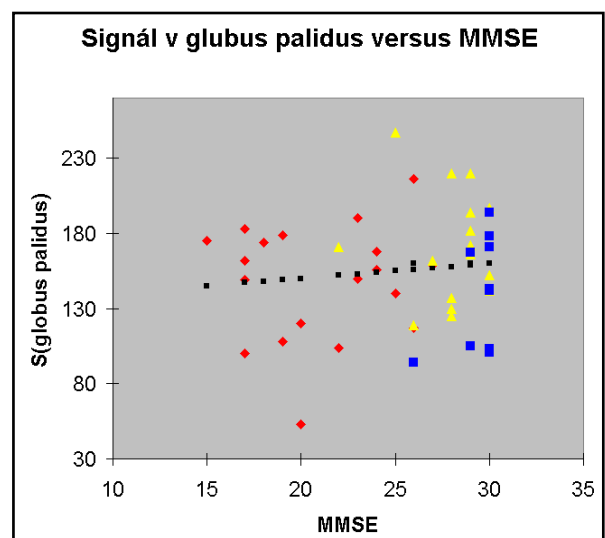


Obř. 5.6. Příklad SWI MR obrazu v oblastech BG u 3 pacientů: a) prakticky žádný pokles signálu v BG u pacienta s AD, b) mírný (ale typický) pokles signálu zejména v GP u pacienta s MCI a c) dramaticky pokles signálu v GP a PUT u pacienta s AD.

Graf 5.1. Souvislost počtu detekovaných MK s MMSE (jednotlivé body reprezentují subjekty s AD (červené kosočtverce), s MCI (žluté trojúhelníky) a kontrolní subjekty (modré čtverce). Trend nárůstu počtu lézí MK s poklesem MMSE není signifikantní (regrese je vynesena černými body), protože u řady pacientů s AD nebyly nalezeny žádné léze MK.



Graf 5.2. Souvislost změny signálu v GP s MMSE (jednotlivé body reprezentují subjekty s AD (červené kosočtverce), s MCI (žluté trojúhelníky) a kontrolní subjekty (modré čtverce)). Trend poklesu signálu s poklesem MMSE není signifikantní (regrese je vynesena černými body). Jak je z obrázku patrné, ke změnám signálu dochází i u zdravých dobrovolníků.



Studie 4

Studium atrofie mozkové kůry a bílé hmoty u Alzheimerovy nemoci pozorované na magnetické rezonanci

Úvod

Rozpoznat včas a správně odlišit přirozené stárnutí od neurodegenerativní demence je ve stále více stárnoucí populaci obtížným úkolem. Pomocí MR, která poskytuje vynikající tkáňový kontrast a detailní anatomické struktury, můžeme sledovat jeden ze základních histopatologických rysů AD, a to ubývání neuronů vedoucí k lokální, nebo celkové atrofii mozku (71). Ke zvýšení diagnostické výtěžnosti z jednorázového MR vyšetření jsme se zaměřili na vybrané oblasti mozkové kůry a bílé hmoty.

Metody a materiál

U 20 pacientů s AD a 20 kontrolních seniorů byla změřena tloušťka, šířka či výška následujících oblastí v obou hemisférách mozku: a) šedá hmota mozková – entorinální kůra (EC), dvě oblasti frontální kůry (dorzální F1, ventrální F2), temporální (T) kůra a okcipitální kůra, b) bílá hmota mozková – capsula interna (CI), corpus callosum (CC), Obr. 5.7. U všech subjektů bylo provedeno MR zobrazení mozku (3D T1 vážený obraz MPRAGE v sagitální rovině na přístroji Siemens Vision 1.5 T) a vyšetření testem MMSE (72) a komplexní kognitivní škálou Mattis Dementia Rating Scale (MDRS). Vyhodnocení dat bylo provedeno v programu ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>) při trojnásobném zvětšení bez znalosti diagnózy subjektů. Stranové vztahy jsme hodnotili lateralizačním indexem (LI) podle vzorce $(L-P) / (L+P) * 100$, kde L a P značí tloušťku v mm vlevo, resp. vpravo. Vzhledem k normálnímu rozložení dat byl použit při porovnávání šíře vybraných oblastí obou skupin nepárový t-test a při korelačních analýzách mozkových oblastí s věkem Pearsonův koeficient. Jako signifikantní pravděpodobnost byla považována hodnota $p < 0,05$. Pacienti s AD trpěli vesměs středně závažnou demencí.

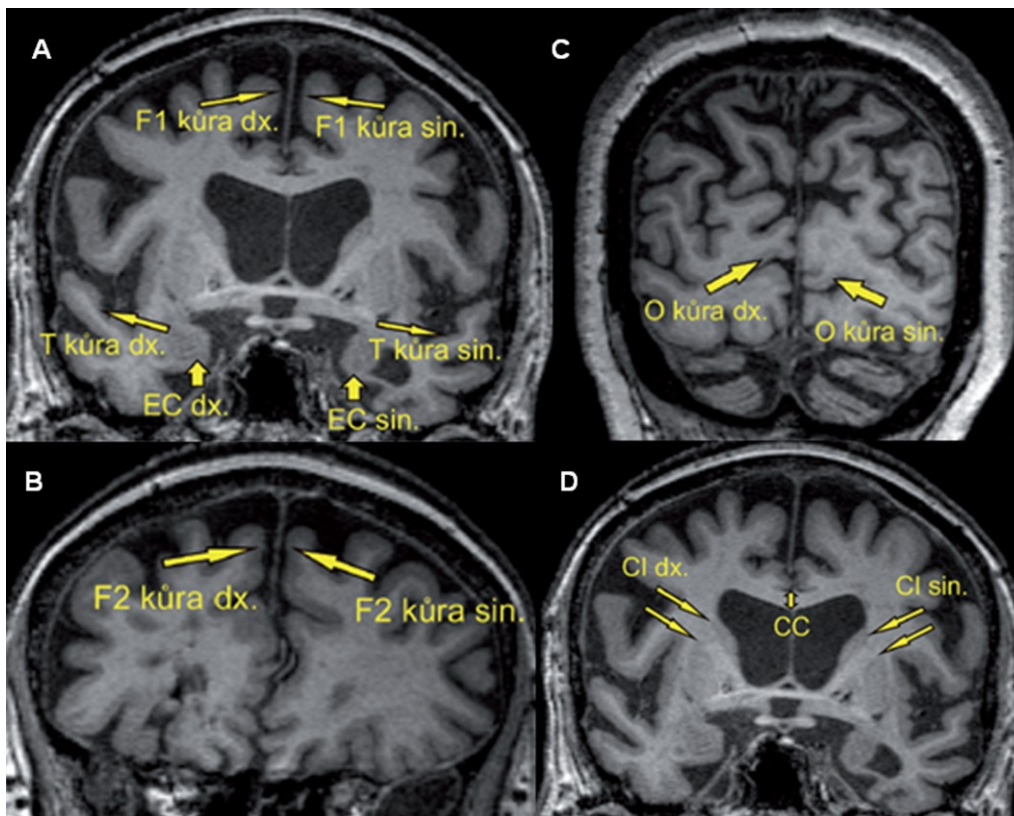
Výsledky

Oproti kontrolním seniorům měli pacienti s AD významně atrofovány tyto oblasti: pravou a levou EC, levou F2 kůru, pravou T kůru a všechny oblasti měřené bílé hmoty,

nejvíce CI vlevo. Významná asymetrie byla u pacientů s AD prokázána pro EC a F2 kůru ([příloha 4 - Tabulka 1, Obr. 2-6](#)).

Závěr

Výsledky studie naznačují, že Alzheimerova nemoc vede k celkové difuzní atrofii mozku, z níž největší úbytek mozkové tkáně nastává v oblasti EC oboustranně a v levé CI. Degenerativní proces postihuje nerovnoměrně pravou a levou hemisféru. Výsledky ukazují, že rozdíly mezi oběma skupinami v ostatních částech mozkové kůry jsou minimální.



Obr. 5.7. Zobrazení vybraných oblastí zájmů na frontálních řezech.

(A) Ukázky míst měření tloušťky mozkové kůry na frontálním řezu MR mozku v úrovni commissura anteriorus. F1 kůra dx a sin – frontální kůra (vpravo a vlevo) v místě nejkraniálnějšího frontálního gyru v oblasti naléhajícím mediálně na falx cerebri.

T kůra dx a sin – gyrus temporalis superior (vpravo a vlevo) v místě zúžení na straně přivrácené ke kůře insuly, EC dx a sin – entorinální kůra (vpravo a vlevo) mezi sulcus semiannularis a sulcus collateralis.

(B) Ukázky míst měření tloušťky mozkové kůry na frontálním řezu MR mozku v úrovni nejventrálnějšího okraje cornu anteriorus postranní komory mozkové. F2 kůra dx a sin – kůra frontálních gyrů měřená poblíž jejich konvexity a mediálně v blízkosti falx cerebri podobně jako na Obr. A.

(C) Ukázky míst měření tloušťky mozkové kůry na frontálním řezu MR mozku v úrovni nejdorzálnějšího výběžku cornu occipitale postranní komory. O kůra vpravo a vlevo – kůra okcipitálních gyrů vpravo a vlevo poblíž fissura calcarina.

(D) Ukázky míst měření bílé hmoty mozkové na frontálním řezu MR mozku v úrovni commissura anteriorus. CI dx a sin – capsula interna vpravo a vlevo. Šipky ukazují body, mezi kterými byla capsula interna měřena. CC – kraniokaudální výška corpus callosum.

Souhrnná diskuze

Ačkoliv zobrazení magnetickou rezonancí poskytuje unikátní informace o detailní anatomické struktuře mozku, diagnostika AD a rozlišení pacientů od kontrol je ve stále stárnoucí populaci obtížným úkolem. Morfometrické hodnocení (VBM) u našich pacientů s AD ukazuje redukci objemu GM a FA hlavně v temporálních a frontálních lalocích (TL, FL), což potvrzují i výsledky jiných autorů (73-79). Tyto atrofické změny souvisejí pravděpodobně s progresivní kognitivní dysfunkcí u těchto pacientů (80). Absence korelace objemu GM s věkem svědčí o tom, že AD není kontinuálním fyziologickým procesem morfologických změn s věkem, ale představuje kvalitativní změny šedé hmoty mozkové. Naopak, negativní korelace objemu GM s věkem u kontrolní skupiny v TL a FL je důkazem ztráty neuronů jako důsledek fyziologického procesu stárnutí. (81, 82).

AD choroba postihuje jak šedou, tak bílou hmotu mozkovou (66, 79). Patofyziologické změny, které doprovázejí Alzheimerovu nemoc, způsobují změny difuze molekul vody také v největším komisurálním svazku bílé hmoty - corpus callosum. Signifikantní redukce FA a nárůst MD u pacientů s AD v CC ve srovnání s kontrolní skupinou je v souladu s výsledky jiných autorů (78, 83, 84) a demonstrují difuzní změny, které jsou důsledkem poškození axonů v corpus callosum (příloha 2 - Tabulka 2-3). Absence korelace FA s MMSE v CC v naší studii (příloha 1 - Fig. 1) u obou skupin ($r = -0.059$ u kontrol, $r = -0.113$ u AD) je v souladu s předchozími výsledky (85-87). Skóre kognitivního testu MMSE u pacientů s AD může souviset s hodnotami FA, ačkoliv tato závislost není úplně jasná. Někteří autoři prokázali závislost celkové průměrné hodnoty FA v bílé hmotě mozkové u pacientů s AD na MMSE skóre ($r = 0,78$, $p = 0,002$) (83). Jiní tuto závislost prokázali ve frontálních ($r = 0,721$, $p = 0,002$), temporálních ($r = 0,711$, $p = 0,002$) a parietálních ($r = 0,700$, $p = 0,003$) oblastech bílé hmoty (88) a také v genu ($p = 0,0008$) a splenium ($p = 0,002$) (89). Další studie tuto závislost nepotvrdily (85, 86). Pro podrobnější analýzu závislosti FA hodnot na MMSE skóre je třeba větší počet subjektů. Na rozdíl od kontrolních subjektů, kde byla pozorována korelace FA s věkem (90-92), absence korelace FA s věkem ($r = 0,1284$, $p = 0,7237$, příloha 2 - Obr. 2-3) u pacientů s AD v CC svědčí o tom, že změny neodpovídají normálnímu fyziologickému stárnutí. Rozdílné závěry přítomnosti či absence korelace mezi FA a věkem v jednotlivých studiích může spočívat, mimo jiné, v různých metodách vyhodnocení (např. umístění a velikosti oblasti zájmu a v širším věkovém

rozpětí studovaných skupin (např. Salat et al (91), viz příloha 1). Mediotemporální regionální atrofie je pro AD charakteristická a to již v časných stádiích nemoci (93-95). Největší úbytek mozkové tkáně u našich pacientů zaznamenávají mediální struktury temporálního laloku včetně hipokampu a entorinální kůry (příloha 1 - Tabulka 2, příloha 4 - Tabulka 1), (96, 97). Tyto výsledky potvrzuje i naše semikvantitativní volumetrické hodnocení hipokampu (98). U AD můžeme využít dalších technik, například techniku SWI. Ačkoliv, má technika SWI vynikající detekční schopnost na mikrokrvácení (MK) a citlivost na změny susceptibility v BG v důsledku ukládání paramagnetických látek, její využití u AD poskytuje omezenou informaci, protože MK a hypointenzní signál v BG se vyskytuje jak u MCI, tak u kontrol. Navíc u více než poloviny pacientů s AD nebyly nalezeny žádné MK (příloha 3 - Tabulka 1, Obr. 1-2, grafy 1-2). Vzhledem k patofyziologické, prostorové a objemové heterogenitě lézí bílé hmoty není snadné charakterizovat jejich vztah ke klinickým projevům nemoci AD (99, 100). Na jedné straně změny bílé hmoty (ZBH) u starších jedinců jsou častým jevem, aniž by se zřetelněji projevíly v globálním kognitivním výkonu podle MMSE nebo MDRS. Na druhé straně podobná struktura ZBH i u pacientů s demencí (tj. s jasně sníženým kognitivním výkonem) podporuje představu, že rozhodujícím faktorem pro kognitivní deficit je neurodegenerativní složka a naproti tomu podíl ZBH nebude zásadní (101). Metody, které byly použity u našich pacientů, mohou být užitečné v detekci AD. Kombinace použitých metod a laboratorních či SPECT nebo PET vyšetření mohou hrát zásadní roli pro detekci morfologicko-funkčních změn odehrávajících se v mozkové tkáni, a to i v časných stádiích nemoci bez přítomnosti symptomů AD.

Závěry vyplývající ze studie

- 1) u pacientů s AD dochází k redukci objemu šedé hmoty hlavně v mediotemporálních oblastech včetně hipokampu a entorinální kůry;
- 2) u pacientů s AD dochází k poklesu frakční anizotropie ve frontálních a temporálních oblastech;
- 3) nekorelující zmenšení objemu GM s věkem svědčí o tom, že AD není kontinuální proces morfologických změn s věkem, ale představuje kvalitativní změny šedé hmoty mozkové;
- 4) u pacientů s AD dochází k poklesu hodnot FA a nárůst MD v největším komisurálním svazku bílé hmoty - corpus callosum;

- 5) rozhodujícím faktorem pro kognitivní deficit jsou pravděpodobně neurodegenerativní procesy v šedé a bílé hmotě mozku;
- 6) u pacientů s AD je vyšší výskyt mikrokrvácení a hypointenzní signál v bazálních gangliích.

5.2. Projekt týkající se problematiky roztroušené sklerózy

Studie 5

Roztroušená skleróza:

Kvantitativní hodnocení frakční anizotropie a průměrné difuzivity v corpus callosum před a po fyzioterapii

Úvod:

Ovlivnění degenerativních změn nervové tkáně pomocí fyzioterapie je aktuální téma současného výzkumu roztroušené sklerózy (MS). Cílem naší studie bylo kvantitativní hodnocení bílé hmoty v corpus callosum metodou difuzního tenzoru u pacientů s MS před a po fyzioterapii.

Metoda a materiál

Jedenáct pacientů s MS (průměrný věk $43,2 \pm 9,1$ roků) bylo podrobeno neurologickému vyšetření Expanded Disability Status Scale (EDSS), kognitivnímu testu Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) a bylo vyšetřeno magnetickou rezonancí na 3T tomografu Siemens Trio na začátku studie (MS1), po 1 měsíci bez fyzioterapie (MS2) a po dvouměsíční fyzioterapii (MS3) ([graf 5.3](#), [Tabulka 5.5](#)) následujícím protokolem: T1-vážené 3D MPRAGE a T2-FLAIR obrazy s rozlišením $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$. Pro měření DTI byla použita sekvence SE-EPI a difuzní gradienty v 20 směrech s b-faktory 0 a 1000 s/mm^2 . Zároveň bylo 11 zdravých kontrol (průměrný věk $39,45 \pm 12,2$ roků) podrobeno testu PASAT a vyšetření MR na začátku studie (C1) a po 1 měsíci (C2). Na DTI datech byla nejdříve provedena korekce pohybových artefaktů v programu FSL. Data byla následně normalizována v SPM8 a analyzována softwarem MedINRIA. Pro každý subjekt byly na střední sagitální vrstvě na T1-3D MPRAGE obrazech koregistrovaných s difuzními MR obrazy vybrány oblasti zájmu ([Obr. 5.8](#)), ve kterých byly následně z difuzních obrazů spočteny hodnoty frakční anizotropie (FA), průměrné difuzivity (MD), axiální difuzivity ($\lambda_{ax} = \lambda_1$) a radiální difuzivity ($\lambda_{rad} = (\lambda_2 + \lambda_3)/2$). Data byla analyzována s použitím lineárních modelů se smíšenými efekty a párovými a dvouvýběrovými t-testy.

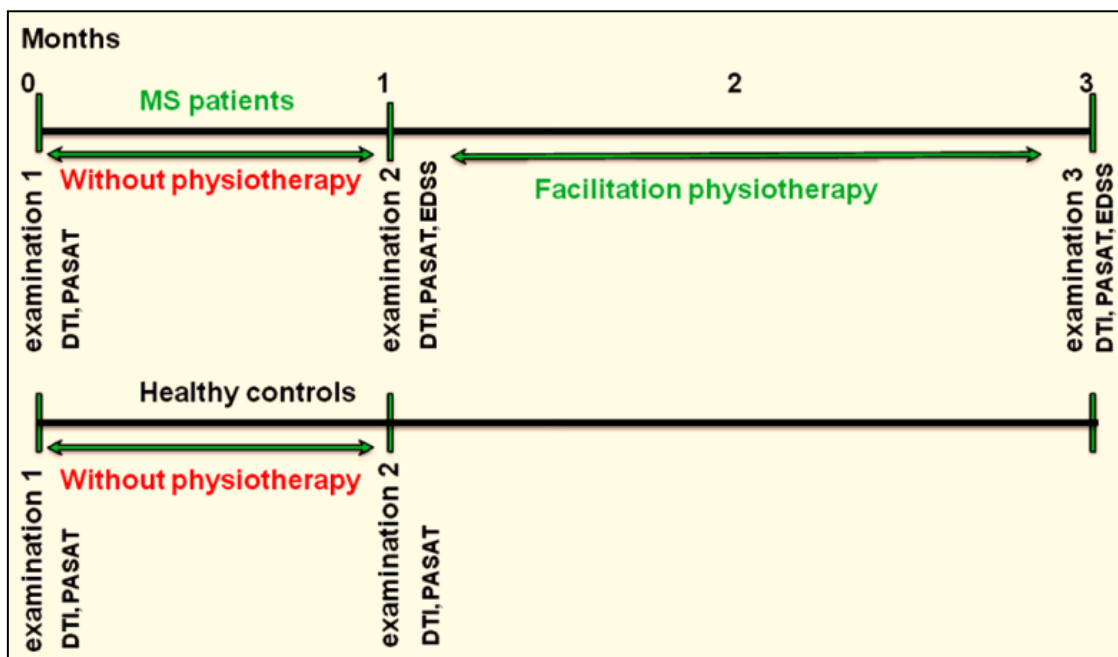
Výsledky

U pacientů s RS byl zjištěn signifikantní pokles v hodnotách FA ($p < 0,001$) a nárůst v hodnotách MD, λ_{ax} a λ_{rad} ($p < 0,00$, $p = 0.003$ a $p < 0,001$) ve srovnání se zdravými kontrolami na začátku studie. Hodnoty FA a MD se po měsíci bez fyzioterapie v obou skupinách neměnily. Rozdíly v FA a MD byly po dvouměsíční fyzioterapii u pacientů větší než u zdravých kontrol. U pacientů došlo k signifikantnímu nárůstu hodnot FA ($p < 0,001$) a poklesu hodnot MD a λ_{ra} ($p < 0.014$ a $p = 0,002$) (příloha 5 - Tabulka 3-5).

Závěr

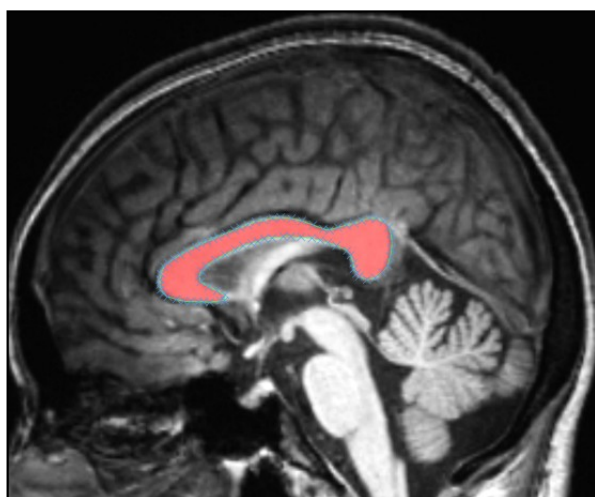
Výsledky ukazují, že fyzioterapie ovlivňuje mikrostrukturu mozkové tkáně a může být účinnou metodou ke zpomalení progresu patologického stavu u pacientů s MS.

Graf 5.3. Design studie



0: První provedené testy u pacientů a kontrol na začátku studie (DTI a PASAT)

1: Druhé provedené testy po měsíci bez fyzioterapie (DTI, PASAT a EDSS). Toto měření u pacientů bylo vybráno jako kontrolní měření bez fyzioterapie k odhalení efektu fyzioterapie v dalším třetím měření. 3: Třetí provedené testy u pacientů na konci studie po dvouměsíční fyzioterapii (DTI, PASAT a EDSS).



Obr. 5.8. Oblasti zájmu byly manuálně vybrány na střední sagitální vrstvě na T1-3D MPRAGE obrazech koregistrovaných s difuzními MR obrazy, ve kterých byly z difuzních obrazů následně spočteny hodnoty difuzních indexů.

Tabulka 5.5. Výsledky testů (DTI, PASAT a EDSS) u pacientů (MS) a kontrol (C) pro měření 1, 2 a 3

		MS1	MS2	MS3	C1	C2
FA	průměr	0,52	0,51	0,55	0,68	0,67
	SD	0,07	0,08	0,08	0,02	0,02
MD	průměr	1,20	1,18	1,13	0,86	0,86
	SD	0,21	0,20	0,21	0,05	0,04
λ_{ax}	průměr	1,89	1,86	1,86	1,64	1,64
	SD	0,21	0,18	0,20	0,07	0,07
λ_{rad}	průměr	0,86	0,84	0,77	0,46	0,47
	SD	0,22	0,21	0,22	0,04	0,04
PASAT	průměr	43,00	45,73	49,36	51,40	51,60
	SD	13,66	12,63	9,65	9,22	8,11
EDSS	průměr		3,59	3,41		
	SD		0,86	0,94		

FA-Frakční anizotropie, **MD**-Průměrná difuzivita ($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$), λ_{ax} -axiální difuzivita ($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$), λ_{rad} -radiální difuzivita ($\times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$), **MS1**-Difuzní indexy, měřené na začátku studie u pacientů s roztroušenou sklerózou (vyšetření 1), **MS2**-Difuzní indexy, měřené u pacientů po měsíci bez fyzioterapie (vyšetření 2), **MS3**-Difuzní indexy, měřené na konci studie u pacientů po dvouměsíční fyzioterapii (vyšetření 3), **C1**-Difuzní indexy, měřené na začátku studie u kontrol (vyšetření 1), **C2**-Difuzní indexy, měřené po měsíci u kontrol (vyšetření 2), **PASAT**-Paced Auditory Serial Addition Test, **EDSS**-Expanded Disability Status Scale.

Diskuze

Patologické procesy u MS způsobují difuzní změny v mozkové tkáni a ovlivňují integritu nervových svazků bílé hmoty. Jeden z největších komisurálních svazků, corpus callosum, bývá často touto chorobou postižen (102-104). Roztroušená skleróza jako chronické onemocnění postihuje mladé lidi v produktivním věku a představuje velký sociální problém. Ačkoliv současná medicína dokáže zpomalit progresi této choroby, úplně ji vyléčit nedokáže (105, 106). Proto fyzioterapie s využitím senzomotorického učení může mít velký potenciál při ovlivnění plasticity a startování adaptačních změn v CNS (107-111). Poklesy v FA a nárůst v MD hodnotách v CC na začátku studie u našich pacientů jsou ve shodě s publikovanými výsledky (112, 113) (příloha 5 - Tabulka 4). Nicméně, rozdíly v FA a MD byly po dvouměsíční fyzioterapii u pacientů větší než u zdravých kontrol. U pacientů došlo k signifikantnímu nárůstu hodnot FA ($p < 0,001$) a poklesu hodnot MD a λ_{ra} ($p < 0,014$ a $p = 0,002$) (příloha 5 - Tabulka 5). Signifikantní nárůst radiální difuzivity na začátku studie a jejím následným poklesu po dvouměsíční fyzioterapii souvisí s demyelinizačními a remyelinizačními procesy v axonech (115, 116). Pacienti se také signifikantně zlepšili v kognitivním testu PASAT ($p = 0,037$) a byl pozorován trend k zlepšení EDSS ($p = 0,087$). Fyzioterapie vede k zlepšení funkce horních a dolních končetin, a především ke zlepšení posturálních reakcí. Naše fMRI vyšetření u bimanuální sekvenční motorické úlohy horních končetin u MS po dvouměsíční fyzioterapii rovněž ukazuje signifikantní zlepšení aktivace v primárních motorických oblastech rukou (117, 110). Na základě senzomotorického učení může facilitační fyzioterapie hrát důležitou roli při aktivaci globálního motorického programu požadované motorické funkce (118).

Závěry vyplývající ze studie

Můžeme konstatovat, že fyzioterapie:

- 1) ovlivňuje mikrostrukturu mozkové tkáně (kortikální reorganizace, remyelinizace, aktivace globálního motorického programu);
- 2) může být v kombinaci s farmakoterapií užitečnou metodou ke zlepšení kvality života pacientů s MS.

5.3. Projekt týkající se problematiky obsedantně-kompulzivní poruchy

Studie 6

Volumetrické abnormality v mediálních a dorzálních frontálních oblastech mozku spojené s obsedantně-kompulzivní poruchou

Obsedantně-kompulzivní porucha (OCD) je duševní onemocnění spojené s dysfunkcí serotoninového systému (56). Cílem studie bylo využití optimalizované VBM u pacientů s OCD a u kontrolní skupiny k zjištění subtilních rozdílů v objemu struktur GM a WM u obou skupin. Dále vztah mezi objemem šedé a bílé hmoty mozkové a klinickými projevy OCD.

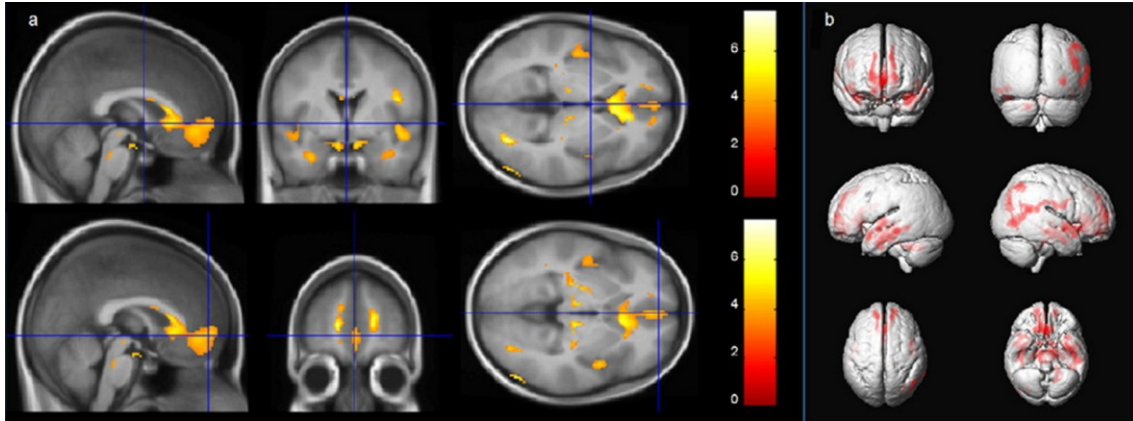
Metoda a materiál:

Čtrnáct pacientů s OCD podle mezinárodní klasifikace nemoci - MKN-10, (průměrný věk $28,6 \pm 6,1$ roků) a 15 zdravých dobrovolníků (průměrný věk $28,7 \pm 6,5$ roků) bylo vyšetřeno magnetickou rezonancí na 3T tomografu Siemens Trio následujícím protokolem: T1-vážené 3D MPRAGE s rozlišením $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$. Strukturální data byla analyzována v SPM5 s protokolem pro optimalizovanou VBM. Normalizované, segmentované a prostorově filtrované obrazy GM, WM byly statisticky testovány s použitím obecného lineárního modelu (general linear model - GLM) s t-testem. Závislost objemu GM a WM na věku pacienta při nástupu choroby, trvání choroby a skóre Y-BOCS (Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale) byla testována vícenásobnou regresní analýzou.

Výsledky

U pacientů s OCD bylo zjištěno Y-BOCS skóre ($16,4 \pm 7,0$), což představuje vážný psychopatologický stav. Skóre Y-BOCS korelovalo negativně s věkem pacientů při nástupu choroby ($r = -0,63$, $p = 0,015$). Dále trvání choroby korelovalo negativně s věkem pacientů při nástupu OCD ($r = -0,59$, $p = 0,026$). Pacienti a kontroly

se v celkovém mozkovém objemu ($p = 0,098$) nelišili, nicméně se významně lišili v objemu bílé hmoty ($p = 0,040$). Pacienti ve srovnání s kontrolami vykazovali redukcí GM hlavně v mediálních a dorzálních oblastech frontální kůry (Obr. 5.9).



Obr. 5.9. Změny GM u pacientů s OCD ve srovnání s kontrolami. Pacienti vykazují bilaterálně signifikantní redukcí objemu GM hlavně v mediální frontální kůře, předním cingulu, temporální kůře, v pontu (pons Varoli) a mesencephalu.

Diskuze

Nejčastější abnormální změny mozkové tkáně u pacientů s OCD detekované pomocí multimodálních neurozobrazovacích metod jsou v prefronto-striáto-thalamickém okruhu (119) a fronto-temporo-parietálních a fronto-mozečkových okruzích (120). Meta-analýza funkčních dat ukazuje také změny v orbitofrontální kůře, předním gyrus cinguli a nucleus caudatus (121, 122). Kromě zmíněných abnormálních změn mohou hrát roli při vzniku této choroby také genetické faktory (123, 124). Ve shodě s publikovanými výsledky (125-127) ukazují naši pacienti ve srovnání s kontrolami bilaterálně signifikantní redukcí objemu GM hlavně v mediální frontální kůře, předním cingulu, temporální kůře, v pontu (pons Varoli) a mesencephalu. Dále v levém mozečku, pravém precentrálním gyru, parietálních a okcipitálních oblastech (příloha 6 - Tabulka 2). Změny mozkové tkáně v temporo-parieto-okcipitálních oblastech mohou souviset s deficitem prostorově vizuálních úloh u pacientů s OCD (128).

Shodně s předchozími výsledky PET a SPECT, kde byla prokázána negativní korelace mezi závažností projevů OCD a objemem GM v parietálních oblastech, pravém temporo-parietálním spojení a levém gyru supramarginalis (129-132), naše výsledky potvrzují negativní korelaci mezi závažností symptomů a objemem GM v gyru supramarginalis. Zároveň, jsou naše výsledky shodné s předchozími nálezy, kde byla zjištěna souvislost mezi objemem WM ve frontálních a parietálních oblastech a věkem při nástupu OCD a jejím trvání (133-136). Změny bílé hmoty mohou hrát zásadní roli v patofyziologii OCD choroby (137). Z našich výsledků vyplývá, že proces choroby OCD zasahuje nejen orbitofrontální oblasti a přední gyrus cinguli, ale i temporální, parietální a okcipitální oblasti.

Závěry vyplývající ze studie:

U pacientů s OCD

- 1) dochází k změnám hlavně v mediálních a dorzálních frontálních oblastech mozkové tkáně a v předním gyrus cinguli.
- 2) celkový objem mozku se u pacientů od kontrol významně neliší.
- 3) pacienti se významně liší od kontrol v objemu bílé hmoty.
- 4) byla nalezena korelace stupně závažnosti symptomů, věku při nástupu choroby a její trváního trvání s redukcí šedé a bílé hmoty.

5. 4. fMRI u vizuální pracovní paměti a verbální fluence

Studie 7

Úvod

Funkční zobrazování magnetickou rezonancí (fMRI) otevřelo nové možnosti ve zkoumání kognitivních funkcí lidského mozku. Tato práce se zabývá vyšetřením procesu vizuální pracovní paměti pomocí paradigmatu, který je založen na aktivním zapamatování série hracích karet.

Metody a subjekty

Funkční zobrazování magnetickou rezonancí bylo použito k mapování aktivních míst mozkové kůry během testu vizuální pracovní paměti u skupiny osmi zdravých dobrovolníků (vysokoškoláků) s průměrným věkem 28,14 roků. Proces zapamatování promítaných hracích karet (vlastní paradigma) byl použit ke stimulaci vizuální pracovní paměti (Obr. 5.10A). Aktivace spojené s vizuální pracovní pamětí byly porovnány s aktivacemi testu verbální fluence (Obr. 5.10B). Oba testy byly v rámci předoperačního vyšetření také provedeny u dvou pacientů: 1) U dětské pacientky s kavernomem v oblasti pravého sluchového kortexu a 2) u mladého pacienta s dysplazií v pravém frontálním laloku a farmakorezistentní epilepsií. V prvním případě byl kromě obou zmíněných testů proveden ještě test akustické stimulace (poslechem hudby). Vyhodnocení dat bylo provedeno programem SPM2. Veškerá měření fMRI byla provedena na přístroji Siemens Vision 1.5T.

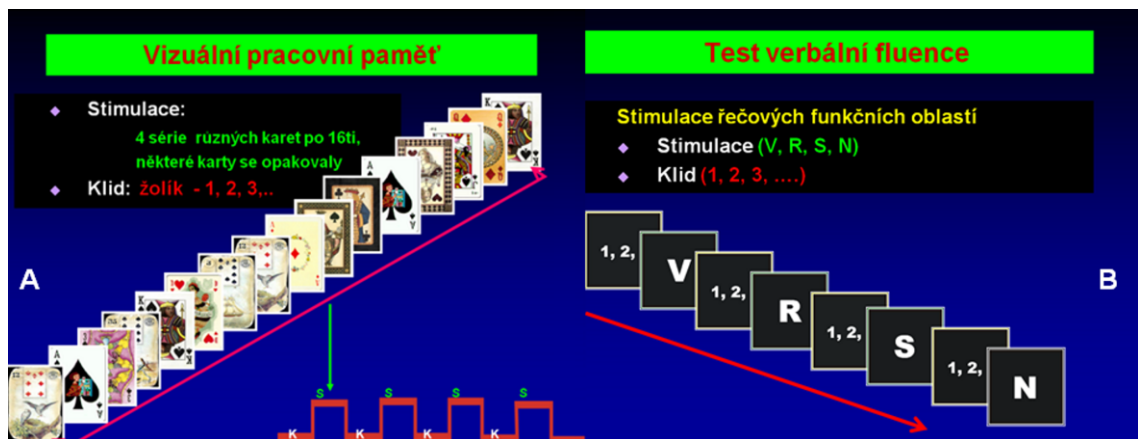
Výsledky

Funkční mapy u testu vizuální pracovní paměti ukázaly oboustranné aktivace frontálních a parieto-okcipitálních oblastí. Oproti testu verbální fluence byla nalezena výraznější aktivace v pravém frontálním laloku (Obr. 5.11).

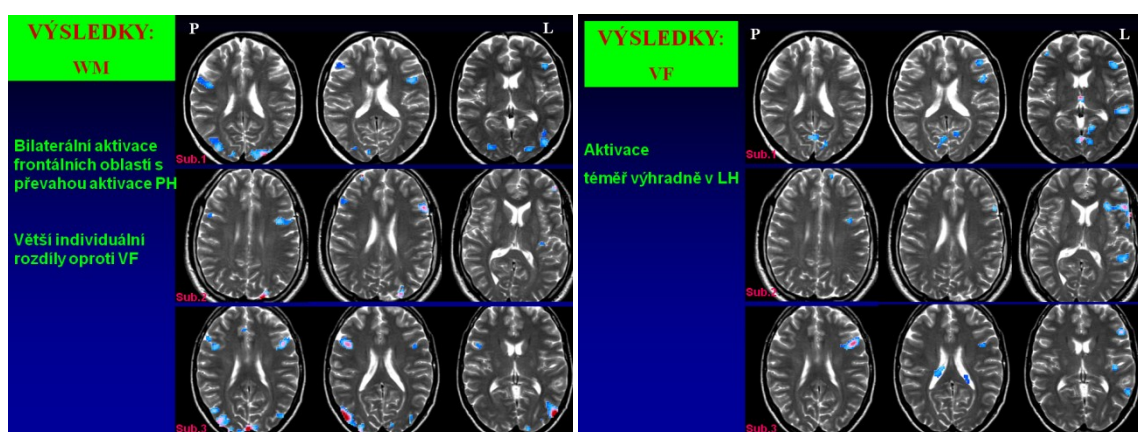
V případě první pacientky byly výsledky shodné s výsledky zdravých dobrovolníků a jsou patrné z Obr. 5.12. Avšak aktivace způsobené testem verbální fluence byly nalezeny nejen v levém frontálním laloku, ale v menší míře i v pravém frontálním laloku, a to i přestože se jedná o pacientku s pravostrannou dominancí (Obr. 5.12B). V tomto případě byly také netypické výsledky testu akustické stimulace. Zatímco

v levé hemisféře došlo k rozsáhlé aktivaci oblastí primárního sluchového kortexu, v pravé hemisféře v oblasti postižené kavernomem nebyly nalezené téměř žádné aktivity (Obr. 5.13).

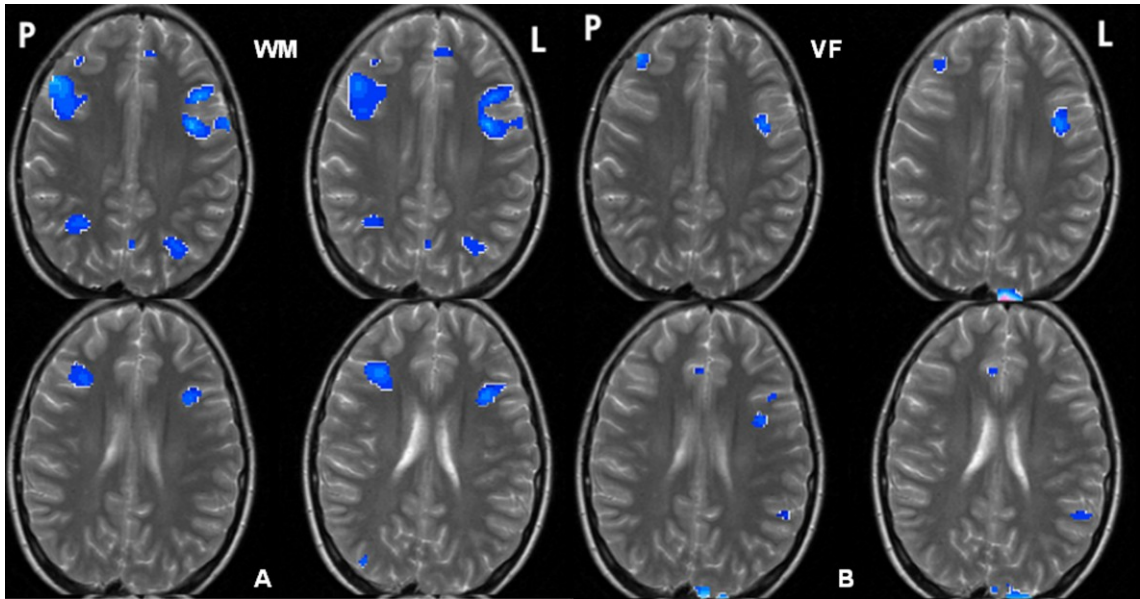
U druhého pacienta byly nalezeny pouze velmi malé aktivity v případě obou testů (VF, VWM - visual working memory). Tento negativní výsledek může souviset se sníženou kognitivní schopností tohoto pacienta nebo nedostatečnou spoluprací při provedení testu.



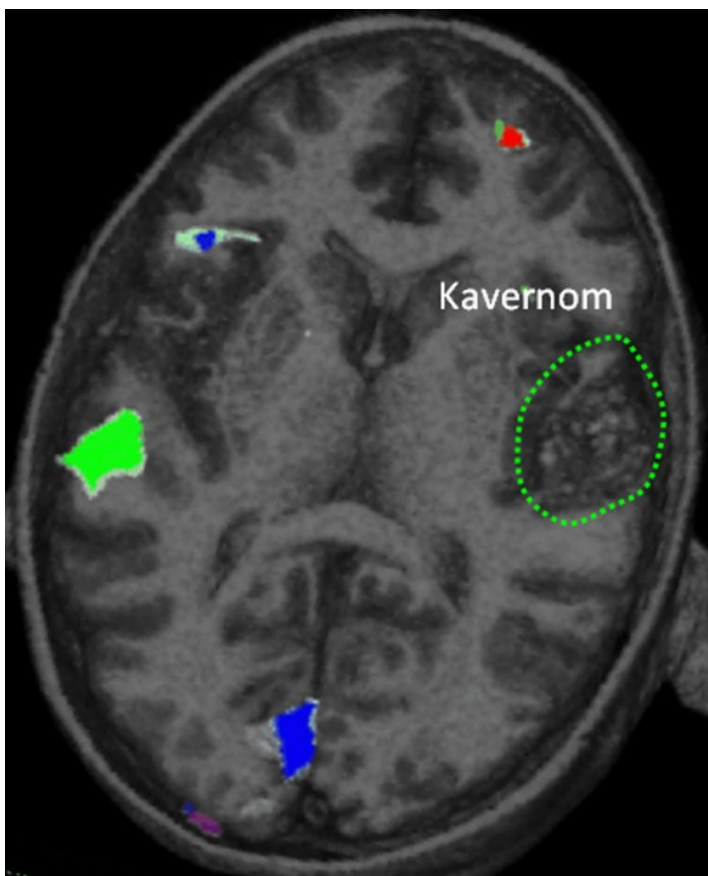
Obr. 5.10. (A) Test vizuální pracovní paměti – promítání sérií 4 různých hracích karet. Na obrázku je vidět experimentální schéma, při kterém se střídají intervaly klidu (k) a stimulací (s). (B). Test verbální fluence – střídání 4 intervalů klidu (subjekt v duchu počítal 1, 2, 3...) a 4 stimulačních intervalů, během kterých subjekt v duchu vytvářel slova začínající zadaným písmenem (V, R, S, N).



Obr. 5.11. Individuální výsledky testu vizuální pracovní paměti (WM) u 3 subjektů s oboustrannou aktivací frontálních laloků a s převahou aktivací na pravé straně oproti testu verbální fluence (VF) s aktivací v levé hemisféře.



Obr. 5.12. Pacientka s kavernomem v oblasti pravého sluchového kortexu ukazuje oboustrannou aktivaci jak u testu vizuální pracovní paměti (A), tak u testu VF (B).



Obr. 5.13. Test akustické stimulace u pacientky s kavernomem v pravém sluchovém kortexu. Zatímco levý sluchový kortex je testem aktivován, pravý nevykazuje žádnou aktivaci.

Diskuze

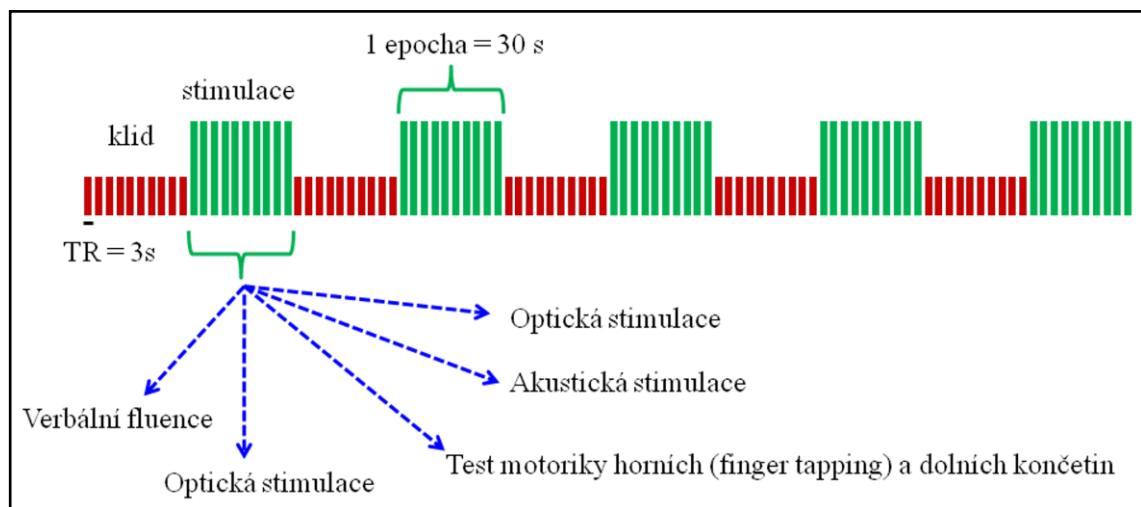
Řada studií ukázala, že pracovní paměť používá síť jak kortikálních, tak subkortikálních struktur v závislosti na konkrétním testu. Zatímco verbální pracovní paměť je obvykle lokalizována v levé hemisféře, prostorová pracovní paměť je spíše lokalizovaná v hemisféře pravé (138). Při námi navrženém testu vizuální pracovní paměti je bilaterální aktivace frontálních a parietálních oblastí u našich dobrovolníků pravděpodobně způsobena komplexností použitého paradigmatu, kdy svou úlohu hraje jak vlastní paměť, tak pozornost při řešení testu. Lokalizace aktivace v případě zatížení pracovní paměti je prakticky shodná s již publikovanými výsledky, přestože námi použité stimulační schéma není stejné (139). Mnoho studií zabývajících se pracovní pamětí také potvrzuje, že při řešení náročnějších úloh dochází k oboustranné aktivaci frontálních, parietálních a okcipitálních oblastí (140). Patrné aktivace v nedominantní (pravé) hemisféře při testu verbální fluence u pacientky 1 nejsou tak neobvyklé. U mladých subjektů je zřetelná tendence aktivovat mozkovou kůru více než u dospělých jedinců a aktivace zahrnuje často i pravý frontální lalok. Tato situace pravděpodobně reflektuje vývojovou plasticitu pokračující organizace neuronální sítě dětského mozku (141). Absence aktivace v oblasti pravého primárního sluchového kortexu u této pacientky při akustické stimulaci může být způsobena přítomností kavernomu, poškozující funkční tkáň. Navržené paradigma má podobný efekt jako n-back test, při kterém také dochází k oboustranné aktivaci frontálních a parietálních oblastí. Použití n-back testu se nám však jeví náročnější na kooperaci pacienta a jeho porozumění provádění testu. To může být problém právě u dětských pacientů a pacientů s výrazným kognitivním deficitem. Zde vidíme výhodu navrženého schématu stimulace sérií hracích karet, které jsou subjektům blízké z praktického života. Pracovní paměť závisí na síti aktivit zahrnující subkortikální struktury, frontální a parietální oblasti. Mnoho neurodegenerativních onemocnění jako jsou Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc nebo demence poškozují pracovní paměť (142). Dále může být paměť poškozena i u dalších onemocnění jako např. u schizofrenie, deprese, hyperaktivních onemocnění s poruchou pozornosti a obsedantních kompulsivních poruch (139). Z tohoto hlediska může být navržené schéma užitečné při vyšetření pacientů se zmíněnými chorobami.

Závěry vyplývající ze studie:

- 1) použitý test vizuální pracovní paměti se ukázal jako vhodný nástroj k docílení fMRI aktivace frontálních oblastí, ale vede i k bilaterální aktivaci parietálních a okcipitálních oblastí.
- 2) oproti testu VF byla nalezena výraznější aktivace v pravém frontálním laloku.

5.5. Uplatnění fMRI u předoperačního vyšetření

V rámci předoperačního vyšetření bylo od roku 2007 do současnosti provedeno vyšetření fMRI a DTI na 3T tomografu Siemens Trio u několika desítek dětských pacientů s epilepsií, kavernomy a tumory. Vyšetření bylo soustředěno hlavně na motorickou (pohyby horních či dolních končetin), vizuální (zrková kůra), sluchovou a řečovou oblast (Brocovo centrum, Wernickeovo centrum) podle lokalizace lézí. Schématické znázornění provedených experimentů u dětských pacientů je na Obr. 5.14.

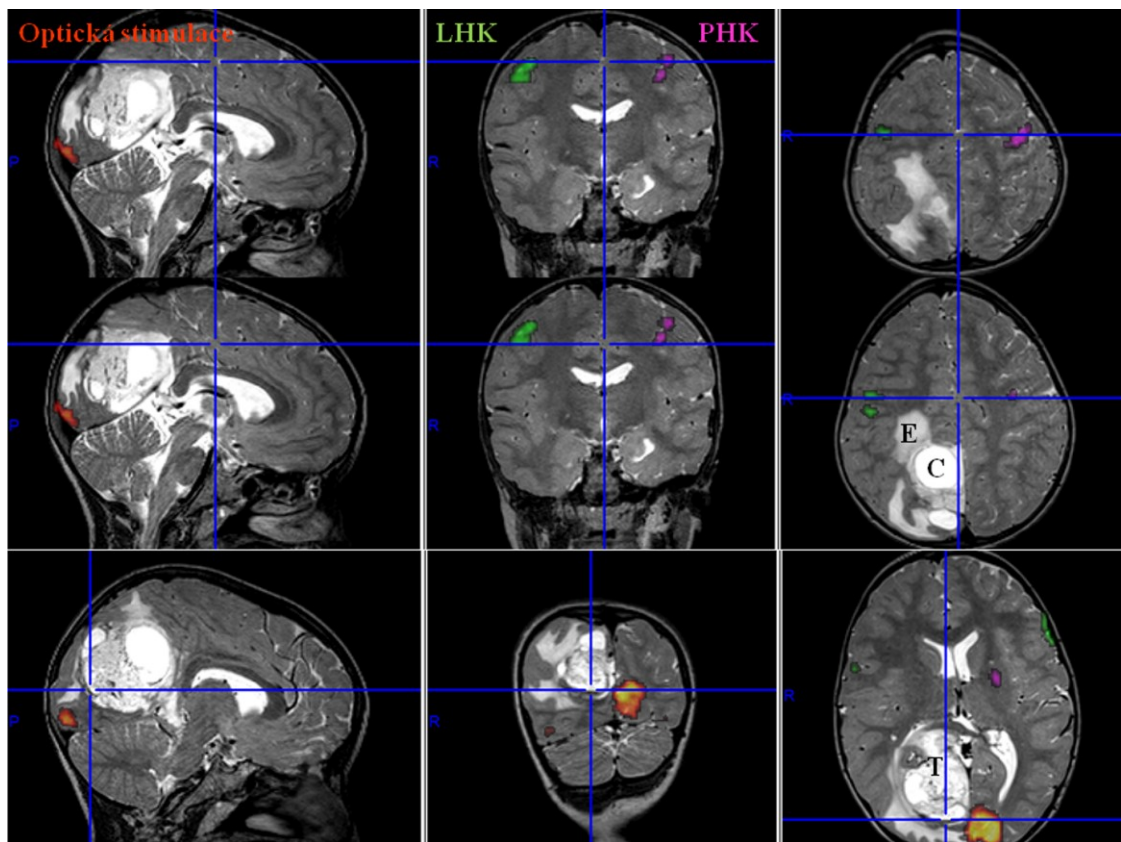


Obr. 5.14. Schématické znázornění provedení fMRI blokového designu u dětských pacientů při testování motoriky horních (pohybem prstů, finger tapping) a dolních (pohybem prstů na nohou) končetin. Podobné schéma bylo provedeno i při testování verbálních funkcí (test verbální fluence, střídání 5 intervalů klidu (subjekt v duchu počítal 1, 2, 3...) a 5 stimulačních intervalů, během kterých subjekt v duchu vytvářel slova začínající zadaným písmenem V, R, S, L, B), optické stimulaci (střídání 5 intervalů klidu (černá obrazovka) a 5 intervalů stimulace (černobílá šachovnice)) a testu akustické stimulace (poslechem úryvku textu (pohádek)).

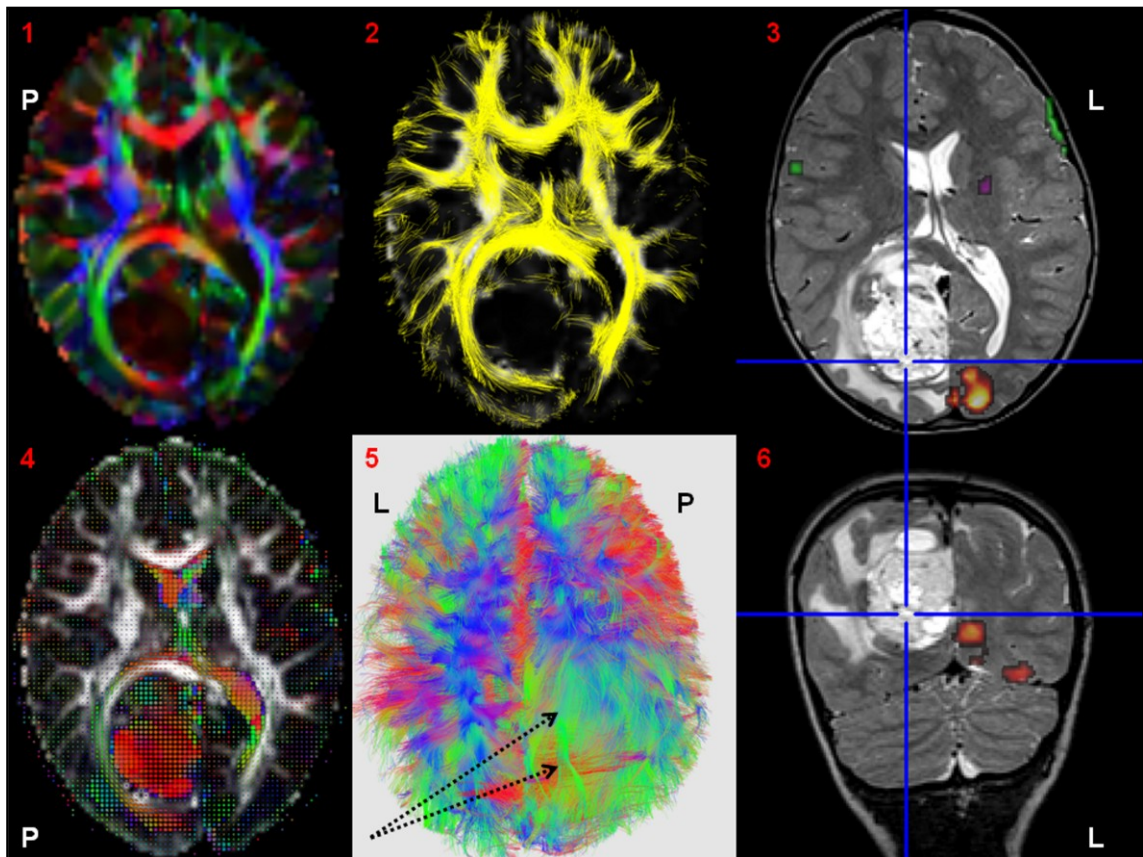
Zde uvádím čtyři příklady fMRI a DTI a jejich využití v předoperačním vyšetření.

Příklad 1

Pacientka (7 roků) s cystickou expanzí parietálně a parietookcipitálně vpravo v těsné blízkosti falx cerebri s perifokálním edémem a dislokací okolních struktur. Při fMRI byla provedena optická stimulace (aktivace – červeně označené oblasti), stimulace motoriky prstů levé (zeleně) a pravé ruky (fialově). Použitá paradigmata aktivovala relevantní motorické oblasti levé a pravé ruky jak ukazují Obr. 5.15-16. Asymetrická aktivace při optické stimulaci (větší v levé hemisféře) je pravděpodobně způsobena přítomností lézí s dislokací okolních struktur. U pacientky bylo provedeno i měření difuze s DTI protokolem. Na DTI datech byla provedena korekce vířivých proudů a pohybových artefaktů v programu FSL a následně byly vypočteny skalární mapy a rekonstrukce svazků bílé hmoty v programu MedINRIA (Obr. 5.16). Ze skalárních map a rekonstrukcí svazků WM jsou patrné dislokace okolních struktur a změny směrů vláken (změny barev) především parietookcipitálně.



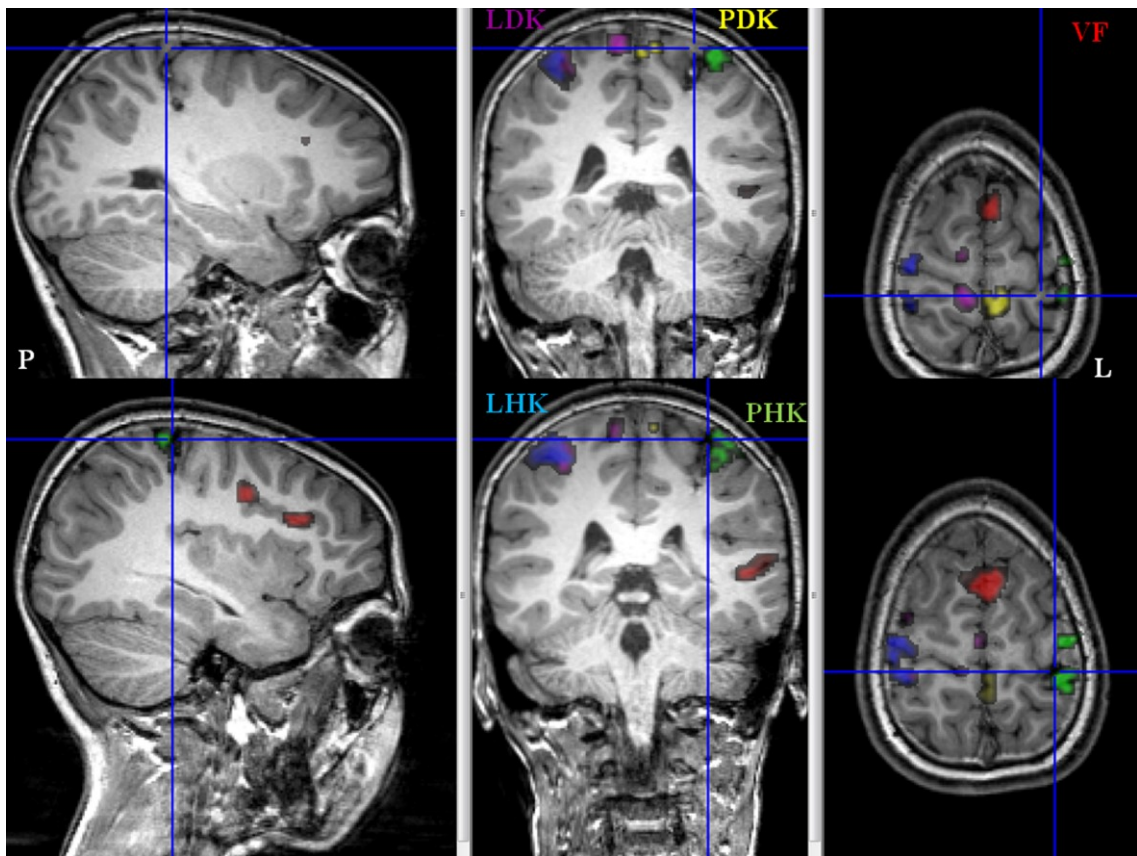
Obr. 5.15. Zobrazení aktivační mapy fMRI při motorické a optické stimulaci. LHK – levá horní končetina, PHK – pravá horní končetina E – edém, C – cysta, T – tumor.



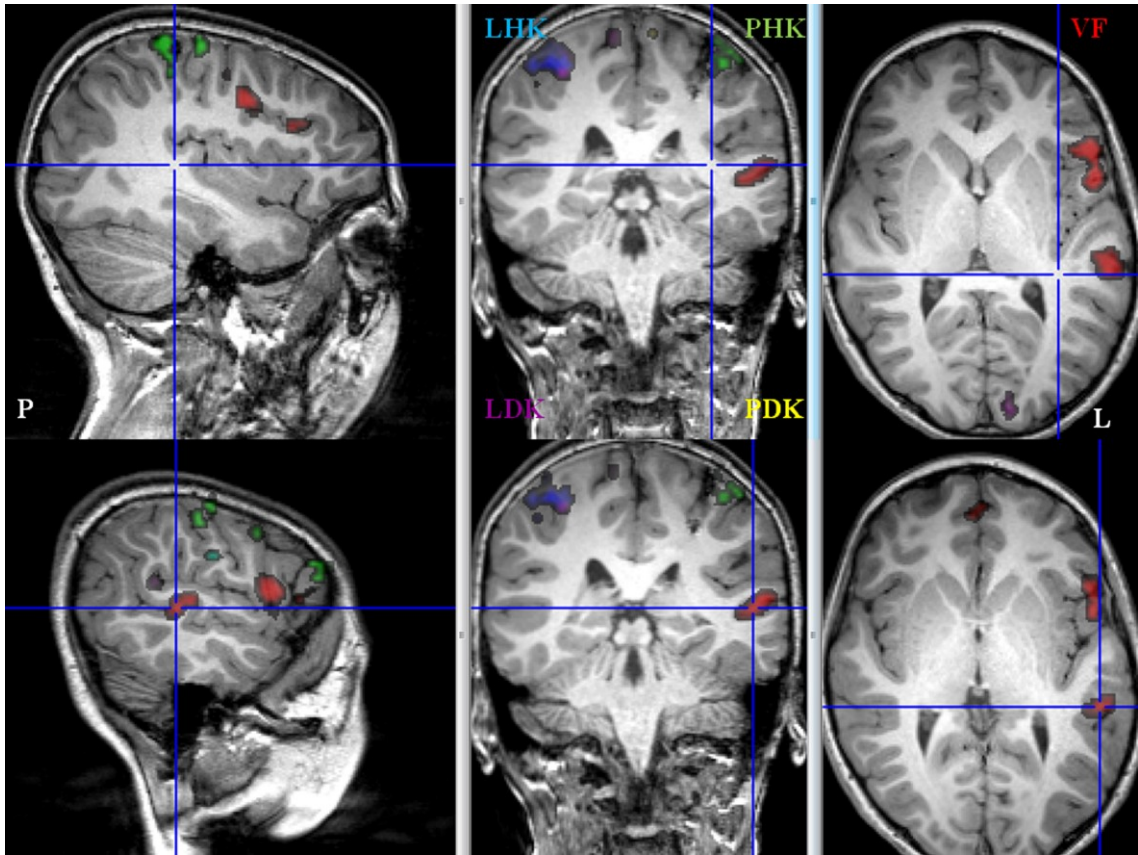
Obr. 5.16. Zobrazení DTI skalární mapy, rekonstrukce vláken bílé hmoty a fMRI aktivace při optické stimulaci. 1) Barevně kódovaná mapa, 2) projekce svazků na 2D FA mapě, 3) a 6) fMRI výsledky při motorické a optické stimulaci, 4) mapa tenzorů, 5) 3D rekonstrukce svazků WM. Šipky ukazují změny směrů a barev svazků v pravé hemisféře parietálně a parietookcipitálně v důsledku dislokací okolních struktur (obraz 5 je v tzv. neurologické konvenci). P – pravá, L - levá.

Příklad 2

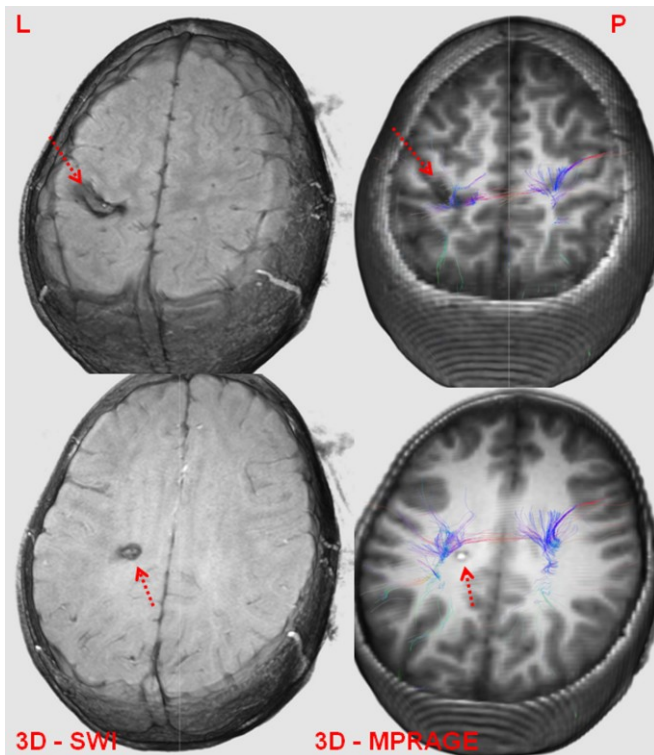
Pacientka (11 roků) s kavernomy supratentoriálně parietálně vlevo a s parezemií pravostranných končetin byla vyšetřena na 3T tomografu s protokoly pro fMRI, DTI, SWI a 3D MPRAGE. Při fMRI vyšetření byl proveden test verbální fluence (VF - červeně), stimulace motoriky prstů (finger tapping) levé (LHK - modře) a pravé ruky (PHK - zeleně), motoriky levé (LDK - fialově) a pravé (PDK - žlutě) dolní končetiny. Aktivace pro PHK (zeleně) jsou v těsné blízkosti největšího ložiska kavernomu levé hemisféry. Aktivace pro pravou DK jsou již vzdálenější (žlutě). Stimulace testem VF vedla k aktivaci řečových center v levém temporálním (Wernickeovo centrum) a frontálním laloku (Brocovo centrum). Funkční aktivace jsou zobrazeny přes 3D T1 vážené morfologické obrazy (MPRAGE) s vysokým prostorovým rozlišením 1 x 1 x 1 mm (Obr. 5.17, Obr. 5.18). Také projekce kortikospinálního traktu levé hemisféry (Obr. 5.19) ukazuje těsný vztah ke kavernomu. Vynikající detekci kavernomu ukazují obrazy SWI (susceptibilní efekt), na kterých byly detekovány další menší či větší léze (Obr. 5.19).



Obr. 5.17. Výsledek aktivace testem verbální fluence (VF), motorických oblastí horních (LHK, PHK) a dolních končetin (LDK, PDK).



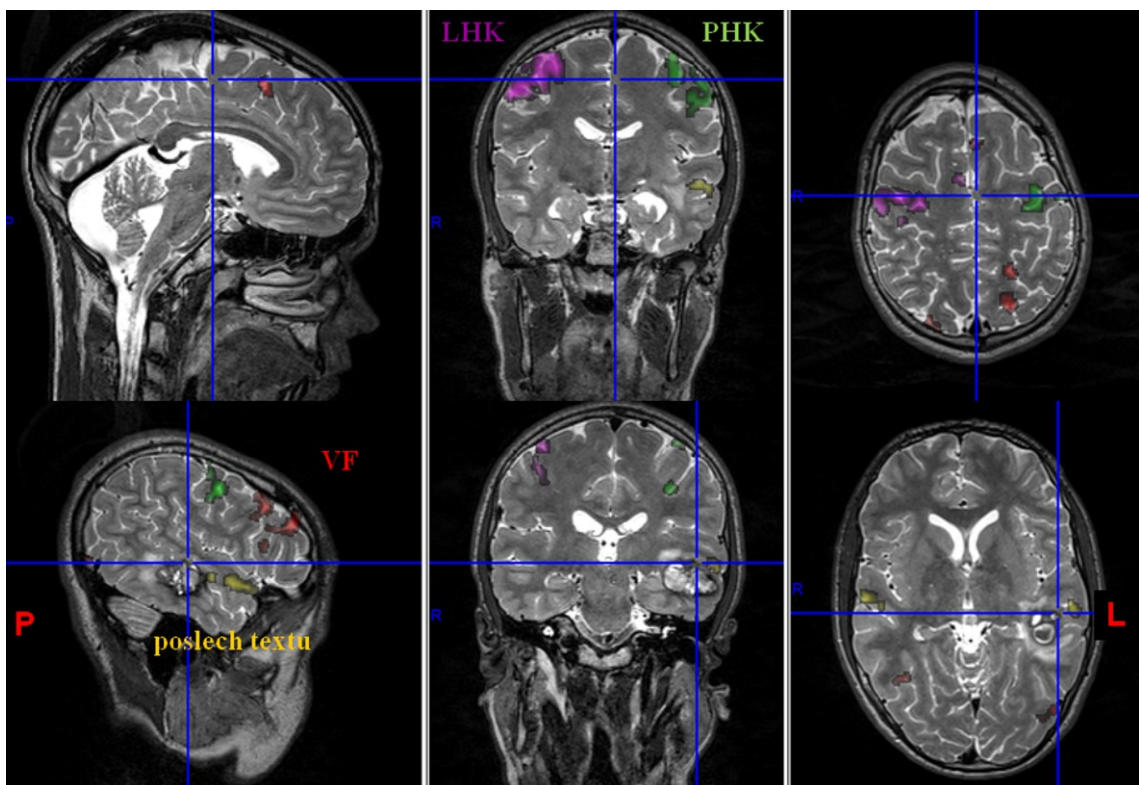
Obr. 5.18. Výsledek aktivace testem verbální fluence (VF), motorických oblastí horních (LHK, PHK) a dolních končetin (LDK, PDK).



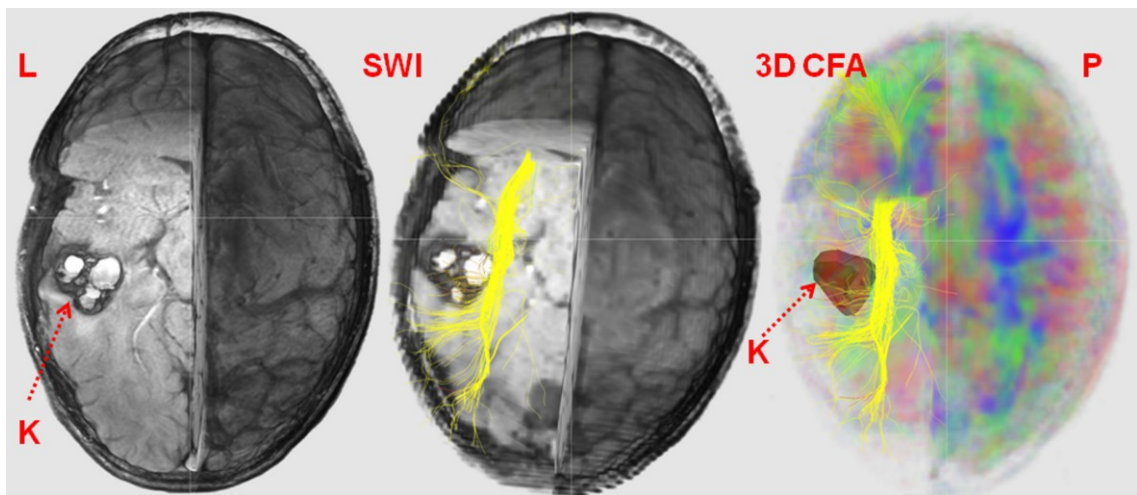
Obr. 5.19. 3D obrazy SWI a MPRAGE ukazují kavernomy v motorické oblasti levé hemisféry v těsné blízkosti kortikospinálního traktu.

Příklad 3

Pacient (13 roků) s velkým kavernomem v temporální oblasti levé hemisféry byl vyšetřen standardním protokolem pro fMRI, DTI, SWI a 3D T2 vážené morfologické zobrazování. Motorika horních končetin byla stimulována pohybem prstů (finger tapping), aktivace pro PHK (zeleně) a aktivace pro LHK (fialově). Aktivace řečové funkce byla realizována testem verbální fluence (červeně), a sluchové kůry poslechem textu (žlutě). Funkční mapy ukazují aktivace levého frontálního laloku testem verbální fluence a motorické oblasti horních končetin. Akustická stimulace poslechem textu aktivovala oboustrannou sluchovou kůru. Aktivace levého sluchového kortexu je v těsném vztahu s patologickým ložiskem (kavernomem). Funkční aktivace jsou zobrazeny přes 3D T2 vážené morfologické obrazy s prostorovým rozlišením 1 x 1 x 1 mm (Obr. 5.20). Difuzní měření a následné rekonstrukce vláken bílé hmoty ukazují těsný vztah svazků bílé hmoty a patologického ložiska zejména fasciculus frontooccipitalis inferior (143), (Obr. 5.21).



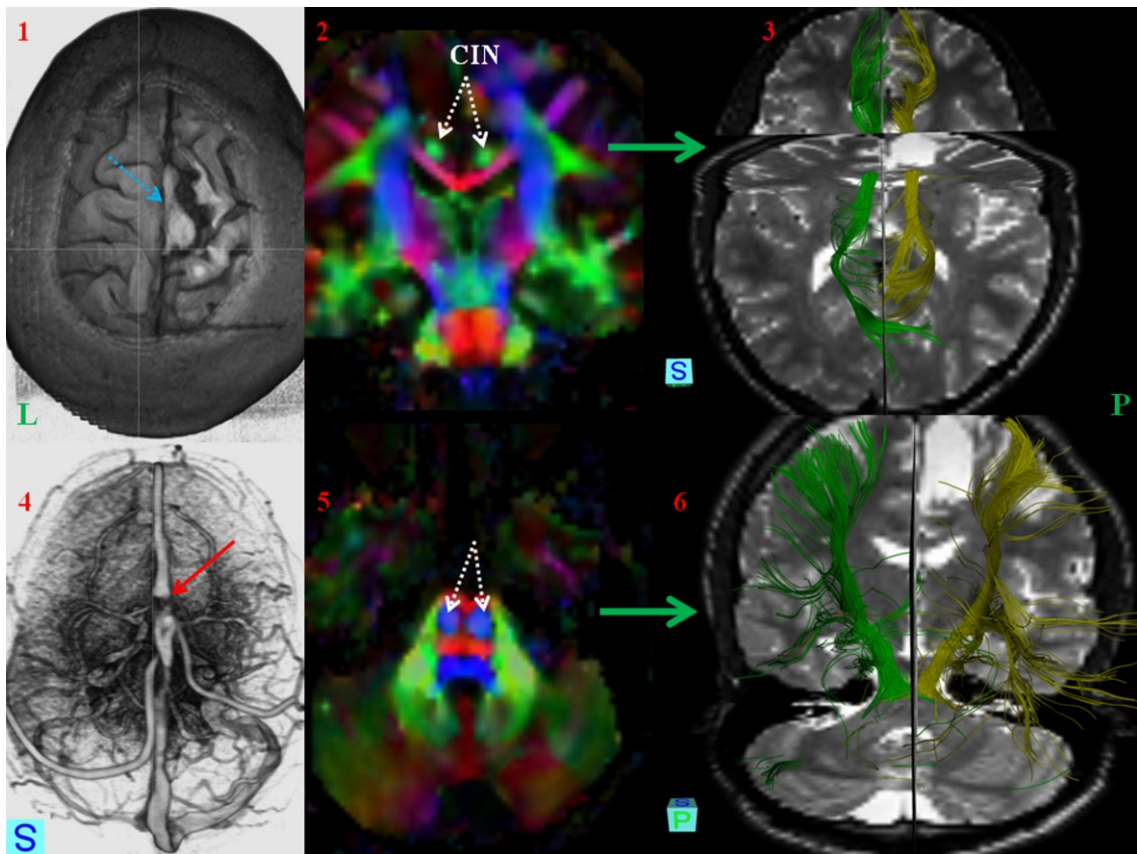
Obr. 5.20. Funkční mapy ukazují aktivace v motorických oblastech horních končetin, řečových a sluchových oblastech.



Obr. 5.21. Projekce fasciculus frontooccipitalis inferior na obrazech 3D SWI (vlevo, uprostřed) a na 3D barevné mapě frakční anizotropie (3D CFA, vpravo) v blízkosti kavernomu(K).

Příklad 4

Pacient (19 roků) po resekci meningeomu s recidivou v okraji resekční dutiny paramediálně frontálně vpravo byl s rozvojem sekundární epilepsie vyšetřen protokoly pro DTI a morfologické obrazy na 3T tomografu Siemens Trio. Dále bylo z důvodu lokalizace recidivy meningeomu v oblasti průchodu splavu sinus sagitalis superior u pacienta provedeno MR angiografické vyšetření. Obraz recidivy s edémem okolních struktur je patrný na sekvenci T2 FLAIR (Obr. 5.22). MR angiografické vyšetření ukazuje hypointenzní signál ve splavu sinus sagitalis superior v blízkosti léze, což pravděpodobně naznačuje stenózu nebo neprůchodnost splavu. Měření difuze a následné rekonstrukce svazků v blízkosti léze ukazuje Obr. 5.22.



Obr. 5.22. Obrazy T2 FLAIR, MRA a rekonstrukce kortikospinálního traktu a cingulum. 1) Meningeom s edémem na 3D FLAIR obrazu. 2-3) Barevná FA mapa s oběma svazky cingulum (CIN). 4) MR angiografický obraz splavů ukazuje hypointenzní signál sinus sagitalis superior. 5-6) Barevná FA mapa s oběma svazky kortikospinálního traktu. P: pravá, L: levá, S: superior, P: posterior.

Souhrnná diskuze

Vývoj mozkových struktur u dětí doprovázejí významné duševní a kognitivní změny. Pomocí neurovizuálních metod můžeme lépe porozumět souvislosti dysfunkce jednotlivých mozkových center s klinicky manifestovanými alteracemi funkcí behaviorálních a kognitivních (144, 145).

I přes určitá omezení a specifika u dětských pacientů (jako je například strach z hlučného vyšetření a úzkého prostoru, nízký stupeň spolupráce, neznalost písmen či nižší schopnost porozumět zadanému úkolu) může být fMRI vyšetření (v kombinaci s dalšími vizuálními metodami) vhodnou metodou pro plánování neurochirurgických operací a může tak přispět ke zmenšení rizika poškození důležitých mozkových center. Vzhledem k zvláštnostem souvisejícím s dětskými pacienty je však pro dosažení relevantních výsledků nutné kombinovat různé typy stimulačních paradigmat.

Další metoda, kterou jsme použili u dětských pacientů, bylo měření difuzního tenzoru (DTI). Stejně tak jako u fMRI zobrazení svazků WM v blízkosti lézí může snížit riziko poškození důležitých svazků v motorických či jiných oblastech (146).

Koregistrace funkčních, difuzních a strukturálních MR obrazů do navigačního systému může být velkým přínosem pro pacienta s onemocněním CNS.

Závěry vyplývající ze studie

Metody fMRI a DTI mohou přispět k plánování neurochirurgických operací u dětských pacientů. Dosažení relevantních výsledků fMRI u těchto pacientů však vyžaduje kombinaci různých stimulačních paradigmat.

6. Souhrn dizertační práce a závěry

Vývoj neurozobrazovacích modalit a pokroky v neurovědách otevřely nové možnosti ve zkoumání kognitivních funkcí lidského mozku, neurodegenerativních a psychosociálních poruch a ukázaly jejich spojitost s morfológickými a patofyziologickými změnami mozkových struktur. Magnetická rezonance se díky vynikajícímu kontrastu měkkých tkání a zobrazení detailních anatomických struktur stala oblíbenou metodou jak v klinické praxi, tak ve výzkumu CNS. Cílem této dizertační práce bylo uplatnění MR metod (fMRI, DTI a VBM) u pacientů s AD, MS, OCD a u dětských pacientů s různými chorobami CNS.

V první části této dizertační práce jsme využili VBM, DTI a SWI metod u pacientů s Alzheimerovou nemocí. Tato část se zaměřuje na kombinaci uvedených metod k detekci abnormálních změn u pacientů ve srovnání s kontrolami. Metoda VBM ukazuje redukci GM a FA u pacientů hlavně v temporálních a frontálních oblastech. Zároveň kvantitativní hodnocení difuzního měření u těchto pacientů ukazuje signifikantní rozdíly v FA a MD v corpus callosum. Absence korelace FA v CC a objemu šedé hmoty s věkem u pacientů s AD svědčí o tom, že Alzheimerova nemoc není kontinuálním procesem morfológických změn s věkem (změny neodpovídají normálnímu fyziologickému stárnutí), ale představuje kvalitativní změny mozkové tkáně. Dále bylo pomocí volumetrie zjištěno, že největší úbytek mozkové tkáně měly u našich pacientů mediální struktury temporálního laloku včetně hipokampu a entorinální kůry. Technika SWI, která má vynikající schopnost detekce mikrokrevání a je citlivá na změny susceptibility v BG v důsledku ukládání paramagnetických látek, může mít uplatnění i u pacientů s AD. Ačkoliv k mikrokrevání a ukládání paramagnetických látek dochází i u zdravých seniorů, tyto změny jsou u AD větší a mohou přispět do celkového morfológického skóre pacienta a v některých případech vysvětlit příčinu onemocnění.

Druhá část této práce se zabývala uplatněním DTI techniky u pacientů s roztroušenou sklerózou před a po fyzioterapii k detekci a kvantifikaci mikroskopických změn FA a MD. Patologické procesy u onemocnění MS způsobují difuzní změny v mozkové tkáni a ovlivňují integritu nervových svazků bílé hmoty. Signifikantní nárůst radiální difuzivity v corpus callosum na začátku studie a jejím

následném poklesu po fyzioterapii souvisí s demyelinizačními a remyelinizačními procesy v axonech. Z našich výsledků vyplývá, že fyzioterapie ovlivňuje mikrostrukturu mozkové tkáně a může být užitečnou metodou v kombinaci s farmakoterapií ke zpomalení progresu patologického stavu a zlepšení kvality života u pacientů s MS.

Třetí část dizertační práce se zabývala uplatněním VBM techniky u pacientů s obsedantně-kompulzivní poruchou. Analýza VBM u pacientů s OCD ukázala redukcí objemu GM hlavně v mediálních a dorzálních oblastech frontální kůry a předním gyrus cinguli. Naše výsledky dále potvrzují negativní korelaci mezi závažností symptomů choroby a redukcí objemu GM v gyrus supramarginalis. Časná detekce abnormálních morfologických změn mozkových struktur pomocí VBM a správná diagnostika u těchto pacientů je předpokladem účinné a adekvátní léčby.

Čtvrtá část této práce se zabývá fMRI vyšetřením procesu vizuální pracovní paměti pomocí paradigmatu, které je založeno na aktivním zapamatování série hracích karet a řečových funkcí pomocí testu verbální fluence jak u zdravých kontrol, tak u pacientů. Použitý test vizuální pracovní paměti se ukázal jako vhodný nástroj pro realizaci fMRI aktivace frontálních oblastí, ale i k bilaterální aktivaci parietálních a okcipitálních oblastí. Oproti testu VF byla nalezena výraznější aktivace v pravém frontálním laloku u obou vyšetřených skupin.

Navržené paradigma má podobný efekt jako n-back test, při kterém také dochází k oboustranné aktivaci frontálních a parietálních oblastí. Použití n-back testu se nám však jeví náročnější na kooperaci pacienta a jeho porozumění provádění testu. To může být problém právě u dětských pacientů a pacientů s výrazným kognitivním deficitem. Zde vidíme výhodu navrženého schématu stimulace pomocí sérií hracích karet, které jsou subjektům blízké z praktického života.

Dále byly v rámci předoperačních vyšetření provedeny desítky fMRI a DTI vyšetření za účelem lokalizací funkčních oblastí či svazků bílé hmoty v blízkosti patologického ložiska. fMRI a DTI vyšetření jsou doménou výzkumu, ale pronikly i do klinické praxe jako součást předoperačního vyšetření. Tyto neinvazivní metody mohou při neurochirurgických zákrocích snížit riziko poškození důležitých svazků bílé hmoty (DTI, anatomie bílé hmoty) či mozkových center (aktivace oblasti).

Pokroky v oblastech zobrazovacích a diagnostických modalit s kratším měřicím časem a větším prostorovým rozlišením budou v budoucnu pravděpodobně hrát zásadní roli při detekci patologických změn CNS v časných stádiích nemoci a tím přispívat ke zmírnění popř. eliminaci rizika poškození důležitých mozkových center.

7. Publikace autora dizertační práce

7.1. Publikace autora týkající se tématu dizertační práce

V následující části jsou uvedeny originální publikované články týkající se tématu dizertační práce

1. **Ibrahim I**, Tintěra J, Škoch A, Jírů F, Hlušík P, Řasová K. Fractional anisotropy and mean diffusivity in the corpus callosum of patients with multiple sclerosis: the effect of physiotherapy. *Neuroradiology* 2011;53(11):917-26. IF: 2.870
2. **Ibrahim I**, Horáček J, Bartoš A, Hájek M, Řípová D, Brunovský M, Tintěra J. Combination of Voxel Based Morphometry and Diffusion Tensor Imaging in Patients with Alzheimer's Disease. *Neuroendocrinology Lett* 2009;30(1):39-45. IF: 1.047.
3. **Ibrahim I**, Bartoš A, Škoch A, Řípová D, Tintěra J. Hodnocení integrity bílé hmoty in vivo v corpus callosum u pacientů s Alzheimerovou nemocí pomocí zobrazení difuzního tenzoru. *Psychiatrie* 2009;13(4):157-159.
4. **Ibrahim I**, Tintěra J. fMRI u vizuální pracovní paměti a verbální fluence. *Čes Radiol* 2007;61(3):300-303.
5. Kopřivová J, Horáček J, Tintěra J, Praško J, Raszka M, **Ibrahim I**, Höschl C. Medial frontal and dorsal cortical morphometric abnormalities are related to obsessive-compulsive disorder. *Neurosci Lett*. 2009;464(1):62-6. IF: 1.925.
6. Řasová K, Brandejský P, Tintěra J, Krásenský J, Zimová D, Medová E, Herbenová A, Kalistová H, Jech R, Řasová M, Zemanová P, Zeman J, **Ibrahim I**, Martinková P, Doležil D, Jandová D. Bimanuální sekvenční motorická úloha u roztroušené sklerózy mozkomíšní v obraze funkční magnetické rezonance: Vliv fyzioterapeutických technik – pilotní studie. *Ces Slov Neurol N* 2009;72/105(4):350-358. IF: 0.246
7. Bartoš A, Zach P, **Ibrahim I**, Řípová D. Atrofie mozkové kůry a bílé hmoty na magnetické rezonanci mozku u Alzheimerovy nemoci. *Psychiatrie* 2009;13(4):140-144.
8. Tintěra J, Horáček J, Španiel F, **Ibrahim I**. MR traktografie - přehled metodiky a klinická aplikace. *Psychiatrie* 2005; 9(3):43-50.
9. Bartoš A, Zach P, Tintěra J, **Ibrahim I**, Řípová D. Jednoduchá klasifikace změn bílé hmoty na MR mozku ve stáří. *Psychiatrie* 2010;14(2):44-47.

10. Tintěra J, **Ibrahim I**, Bartoš A, Řípková D. Využití SWI k charakterizaci stavu pacientů s Alzheimerovou chorobou: detekce mikro krvácení a tkáňových změn v bazálních gangliích. *Psychiatrie* 2010;14(2):48-51.
11. Španiel F, Horáček J, Tintěra J, **Ibrahim I**, Novák T, Čermák J, Klírová M, Höschl C. Genetic variation in FOXP2 alters grey matter concentrations in schizophrenia patients. *Neurosci Lett.* 2011;493(3):131-5. IF = 2.055

7.2. Ostatní publikace

12. Peisker T, Bartoš A, Škoda O, **Ibrahim I**, Kalvach P. Impact of aging on cerebral vasoregulation and parenchymal integrity. *J Neurol Sci.* 2010 Sep 28. IF: 2.167

Celkový součet IF: 10.31

8. Literatura

1. Bartrés-Faz D, Arenaza-Urquijo EM. Structural and Functional Imaging Correlates of Cognitive and Brain Reserve Hypotheses in Healthy and Pathological Aging. *Brain Topogr.* 2011;24(3-4):340-57.
2. Jorg Peter. Medical imaging modalities- an introduction. *Advanced imaging in biology and medicine*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009; pages 225-254.
3. Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(24):9868-72.
4. Thulborn KR, Waterton JC, Matthews PM, Radda GK. Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field. *Biochim Biophys Acta.* 1982;714(2):265-70.
5. Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, Goldberg IE, Weisskoff RM, Poncelet BP, Kennedy DN, Hoppel BE, Cohen MS, Turner R, et al. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(12):5675-9.
6. Pauling L, Coryell CD. The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1936;22(4):210-6.
7. Williams DS, Detre JA, Leigh JS, Koretsky AP. Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(1):212-6.
8. Logothetis NK, Pauls J, Augath M, Trinath T, Oeltermann A. Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature.* 2001;412(6843):150-7.
9. Tintěra J, Vymazal J. *Čes. Radiol* 2005;59(1):3-14.
10. Jezzard P, Matthews PM, Smith SM, editors. *Functional MRI: An Introduction to Methods.* OUP, Oxford, 2001.
11. Buxton RB, Wong EC, Frank LR. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn Reson Med.* 1998;39(6):855-64.
12. Buxton RB, Uludağ K, Dubowitz DJ, Liu TT. Modeling the hemodynamic response to brain activation. *Neuroimage.* 2004;23(1):S220-33.
13. Chen JJ, Pike GB. Origins of the BOLD post-stimulus undershoot. *Neuroimage.* 2009;46(3):559-68.

14. Martin A. Lindquist. The statistical analysis of fMRI data. *Statistical Science* 2008;23(4):439-464.
15. Buckner RL, Bandettini PA, O'Craven KM, Savoy RL, Petersen SE, Raichle ME, Rosen BR. Detection of cortical activation during averaged single trials of a cognitive task using functional magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(25):14878-83.
16. Friston KJ, Williams S, Howard R, Frackowiak RS, Turner R. Movement-related effects in fMRI time-series. *Magn Reson Med*. 1996;35(3):346-55.
17. Ashburner J, Friston KJ. Nonlinear spatial normalization using basis functions. *Hum Brain Mapp*. 1999;7(4):254-66.
18. Monti MM. Statistical Analysis of fMRI Time-Series: A Critical Review of the GLM Approach. *Front Hum Neurosci*. 2011;5:28.
19. Pavel Chlebus, Michl Mikl, Milan Brázdil, Petr Krupa. Funkční magnetická rezonance – úvod do problematiky. *Neurol. prax*. 2005;6(3):140-145.
20. Brown R. A brief account of microscopical observations made in the months of June, July, and August 1827 on the particles contained in the pollen of plants; and on general existence of active molecules in organic and inorganic bodies. *Philosoph Mag*. 1828;4:161.
21. Einstein A. Sue theorie der Brownschen Bewegung. *Ann Physik*. 1906;19:371-381.
22. Mukherjee P, Chung SW, Berman JI, Hess CP, Henry RG. Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: technical considerations. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008;29(5):843-52.
23. Mukherjee P, Berman JI, Chung SW, Hess CP, Henry RG. Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: theoretic underpinnings. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008;29(4):632-41.
24. Latour LL, Svoboda K, Mitra PP, Sotak CH. Time-dependent diffusion of water in a biological model system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(4):1229-33.
25. Timothy PL., Roberts TP, Schwartz ES. Principles and implementation of diffusion-weighted and diffusion tensor imaging. *Pediatr Radiol*. 2007;37(8):739-48.
26. Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed*. 2002;15(7-8):435-55.
27. Carr HY, Purcell EM. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys Rev (Series II)*. 1954;94:630-638.

28. Alexander DC. A general framework for experiment design in diffusion MRI and its application in measuring direct tissue-microstructure features. *Magn Reson Med.* 2008;60(2):439-48.
29. Parker GJ. Analysis of MR diffusion weighted images. *Br J Radiol.* 2004;77(2):S176-85.
30. Stejskal EO, Tanner JE. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J Chem Phys.* 1965;42:288-292.
31. Basser PJ, Pierpaoli C. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B.* 1996;111(3):209-19.
32. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, Di Chiro G. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology.* 1996;201(3):637-48.
33. Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology* 1986;161:401-407.
34. Moseley ME, Kucharczyk J, Mintorovitch J, Cohen Y, Kurhanewicz J, Derugin N, Asgari H, Norman D. Diffusion-weighted MR imaging of acute stroke: correlation with T2-weighted and magnetic susceptibility-enhanced MR imaging in cats. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1990;11(3):423-9.
35. Burdette JH, Elster AD, Ricci PE. Acute cerebral infarction: quantification of spin-density and T2 shine-through phenomena on diffusion-weighted MR images. *Radiology.* 1999;212(2):333-9.
36. Singer MB, Chong J, Lu D, Schonewille WJ, Tuhim S, Atlas SW. Diffusion-weighted MRI in acute subcortical infarction. *Stroke.* 1998;29(1):133-6.
37. Conturo TE, Lori NF, Cull TS, Akbudak E, Snyder AZ, Shimony JS, McKinstry RC, Burton H, Raichle ME. Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(18):10422-7.
38. Tournier JD, Mori S, Leemans A. Diffusion tensor imaging and beyond. *Magn Reson Med.* 2011;65(6):1532-56.
39. Tuch DS. Q-ball imaging. *Magn Reson Med.* 2004;52(6):1358-72.
40. Wedeen VJ, Wang RP, Schmahmann JD, Benner T, Tseng WY, Dai G, Pandya DN, Hagmann P, D'Arceuil H, de Crespigny AJ. Diffusion spectrum magnetic resonance imaging (DSI) tractography of crossing fibers. *Neuroimage.* 2008;41(4):1267-77.
41. Whitwell JL. Voxel-based morphometry: an automated technique for assessing structural changes in the brain. *J Neurosci.* 2009;29(31):9661-4.

42. Yu A, Li K, Li L, Shan B, Wang Y, Xue S. Whole-brain voxel-based morphometry of white matter in medial temporal lobe epilepsy. *Eur J Radiol.* 2008;65(1):86-90.
43. Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains *Neuroimage.* 2001;14(1 Pt 1):21-36.
44. Mechelli A, Cathy J. Price, Karl J. Friston, John Ashburner. Voxel-Based Morphometry of human Brain: Methods and applications. *Current Medical Imaging Reviews,* 2005;1(1):105-113.
45. Medina D, DeToledo-Morrell L, Urresta F, Gabrieli JD, Moseley M, Fleischman D, Bennett DA, Leurgans S, Turner DA, Stebbins GT. White matter changes in mild cognitive impairment and AD: A diffusion tensor imaging study. *Neurobiol Aging.* 2006;27(5):663-72.
46. Xie S, Xiao JX, Gong GL, Zang YF, Wang YH, Wu HK, Jiang XX. Voxel-based detection of white matter abnormalities in mild Alzheimer disease. *Neurology.* 2006;66(12):1845-9.
47. Bäckman L, Jones S, Berger AK, Laukka EJ, Small BJ. Cognitive impairment in preclinical Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neuropsychology.* 2005;19(4):520–31.
48. Xie Z, Tanzi RE. Alzheimer's disease and post-operative cognitive dysfunction. *Exp Gerontol.* 2006;41(4):346–59.
49. Small DH. Network dysfunction in Alzheimer's disease: does synaptic scaling drive disease progression? *Trends Mol Med.* 2008;14(3):103–8.
50. Alzheimer's disease. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. *Lancet.* 2011;377(9770):1019-31.
51. Tartaglia MC, Rosen HJ, Miller BL. Neuroimaging in dementia. *Neurotherapeutics.* 2011;8(1):82-92.
52. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000;343(13):938-52.
53. Allen IV, McKeown SR. A histological, histochemical and biochemical study of the macroscopically normal white matter in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 1979;41(1):81-91.
54. Polman CH, Wolinsky JS, Reingold SC. Multiple sclerosis diagnostic criteria: three years later. *Mult Scler.* 2005;11(1):5-12.
55. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ,

- Weinshenker BG, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol.* 2005;58(6):840-6.
56. Abramowitz JS, Taylor S, McKay D. Obsessive-compulsive disorder. *Lancet.* 2009;374(9688):491-9.
 57. Saito Y, Nobuhara K, Okugawa G, Takase K, Sugimoto T, Horiuchi M, Ueno C, Maehara M, Omura N, Kurokawa H, Ikeda K, Tanigawa N, Sawada S, Kinoshita T. Corpus callosum in patients with obsessive-compulsive disorder: diffusion-tensor imaging study. *Radiology.* 2008;246(2):536-42.
 58. Fontenelle LF, Bramati IE, Moll J, Medlowicz MV, de Oliveira-Souza R, Tovar-Moll F. White Matter Changes in OCD Revealed by Diffusion Tensor Imaging. *CNS Spectr.* 2011 May 1.
 59. Nakamae T, Narumoto J, Sakai Y, Nishida S, Yamada K, Nishimura T, Fukui K. Diffusion tensor imaging and tract-based spatial statistics in obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatr Res.* 2011;45(5):687-90.
 60. Cannistraro PA, Makris N, Howard JD, Wedig MM, Hodge SM, Wilhelm S, Kennedy DN, Rauch SL. A diffusion tensor imaging study of white matter in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety.* 2007;24(6):440-6.
 61. Rotge JY, Langbour N, Guehl D, Bioulac B, Jaafari N, Allard M, Aouizerate B, Burbaud P. Gray matter alterations in obsessive-compulsive disorder: an anatomic likelihood estimation meta-analysis. *Neuropsychopharmacology.* 2010;35(3):686-91.
 62. Matsumoto R, Ito H, Takahashi H, Ando T, Fujimura Y, Nakayama K, Okubo Y, Obata T, Fukui K, Suhara T. Reduced gray matter volume of dorsal cingulate cortex in patients with obsessive-compulsive disorder: a voxel-based morphometric study. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2010;64(5):541-7.
 63. Koprivová J, Horáček J, Tintera J, Prasko J, Raszka M, Ibrahim I, Höschl C. Medial frontal and dorsal cortical morphometric abnormalities are related to obsessive-compulsive disorder. *Neurosci Lett.* 2009;464(1):62-6.
 64. Chua TC, Wen W, Slavin MJ, Sachdev PS. Diffusion tensor imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a review. *Curr Opin Neurol.* 2008;21(1):83-92.
 65. Snook L, Plewes C, Beaulieu C. Voxel based versus region of interest analysis in diffusion tensor imaging of neurodevelopment *Neuroimage.* 2007;34(1):243-52.
 66. Brun A, Englund E. A white matter disorder in dementia of the Alzheimer type: a pathoanatomical study. *Ann Neurol.* 1986;19(3):253-62.

67. Santhosh K, Kesavadas C, Thomas B, Gupta AK, Thamburaj K, Kapilamoorthy TR. Susceptibility weighted imaging: a new tool in magnetic resonance imaging of stroke. *Clin Radiol*. 2009;64(1):74-83.
68. Chavhan GB, Babyn PS, Thomas B, Shroff MM, Haacke EM. Principles, techniques, and applications of T2*-based MR imaging and its special applications. *Radiographics*. 2009;29(5):1433-49.
69. Ong BC, Stuckey SL. Susceptibility weighted imaging: a pictorial review. *J Med Imaging Radiat Oncol*. 2010;54(5):435-49.
70. Tsui YK, Tsai FY, Hasso AN, Greensite F, Nguyen BV. Susceptibility-weighted imaging for differential diagnosis of cerebral vascular pathology: a pictorial review. *J Neurol Sci*. 2009;287(1-2):7-16.
71. Zakzanis KK, Graham SJ, Campbell Z. A meta-analysis of structural and functional brain imaging in dementia of the Alzheimer's type: a neuroimaging profile. *Neuropsychol Rev*. 2003;13(1):1-18.
72. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189-98.
73. Xie S, Xiao JX, Gong GL, Zang YF, Wang YH, Wu HK, Jiang XX. Voxel-based detection of white matter abnormalities in mild Alzheimer disease. *Neurology*. 2006;66(12):1845-9.
74. Baron JC, Chételat G, Desgranges B, Perchey G, Landeau B, de la Sayette V, Eustache F. In vivo mapping of gray matter loss with voxel-based morphometry in mild Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2001;14(2):298-309.
75. Busatto GF, Garrido GE, Almeida OP, Castro CC, Camargo CH, Cid CG, Buchpiguel CA, Furuie S, Bottino CM. A voxelbased morphometry study of temporal lobe gray matter reductions in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):221-31.
76. Frisoni GB, Testa C, Zorzan A, Sabbatoli F, Beltramello A, Soininen H, Laakso MP. Detection of grey matter loss in mild Alzheimer's disease with voxel based morphometry. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;73(6):657-64.
77. Teipel SJ, Stahl R, Dietrich O, Schoenberg SO, Perneczky R, Bokde AL, Reiser MF, Möller HJ, Hampel H. Multivariate network analysis of fiber tract integrity in Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2007;34(3):985-95.
78. Li S, Pu F, Shi F, Xie S, Wang Y, Jiang T. Regional white matter decreases in Alzheimer's disease using optimized voxel-based morphometry. *Acta Radiol*. 2008;49(1):84-90.

79. Medina D, DeToledo-Morrell L, Urresta F, Gabrieli JD, Moseley M, Fleischman D, Bennett DA, Leurgans S, Turner DA, Stebbins GT. White matter changes in mild cognitive impairment and AD: A diffusion tensor imaging study. *Neurobiol Aging*. 2006;27(5):663–72.
80. Xanthakos S, Krishnan KR, Kim DM, Charles HC. Magnetic resonance imaging of Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1996;20(4):597–626.
81. Abe O, Yamasue H, Aoki S, Suga M, Yamada H, Kasai K, Masutani Y1, Kato N, Kato N, Ohtomo K. Aging in the CNS: comparison of gray/white matter volume and diffusion tensor data. *Neurobiol Aging*. 2008;29(1):102–16.
82. Asadi-Pooya AA, Sharan A, Nei M, Sperling MR. Corpus callosotomy. *Epilepsy Behav*. 2008;13(2):271-8.
83. Bozzali M, Falini A, Franceschi M, Cercignani M, Zuffi M, Scotti G, Comi G, Filippi M. White matter damage in Alzheimer's disease assessed in vivo using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;72(6):742–6.
84. Thomann PA, Wustenberg T, Pantel J, Essig M, Schroder J. Structural changes of the corpus callosum in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006;21(4):215–20.
85. Naggara O, Oppenheim C, Rieu D, Raoux N, Rodrigo S, Dalla Barba G, Meder JF. Diffusion tensor imaging in early Alzheimer's disease. *Psychiatry Res*. 2006;146(3):243–9.
86. Takahashi S, Yonezawa H, Takahashi J, Kudo M, Inoue T, Tohgi H. Selective reduction of diffusion anisotropy in white matter of Alzheimer disease. brains measured by 3.0 Tesla magnetic resonance imaging. *Neurosci Lett*. 2002;332(1):45–8.
87. Bozzali M, Franceschi M, Falini A, Pontesilli S, Cercignani M, Magnani G, Scotti G, Comi G, Filippi M. Quantification of tissue damage in AD using diffusion tensor and magnetization transfer MRI. *Neurology*. 2001;57(6):1135–7.
88. Duan JH, Wang HQ, Xu J, Lin X, Chen SQ, Kang Z, Yao ZB. White matter damage of patients with Alzheimer's disease correlated with the decreased cognitive function. *Surg Radiol Anat*. 2006;28(2):150–6.
89. Ukmar M, Makuc E, Onor ML, Garbin G, Trevisiol M, Cova MA. Evaluation of white matter damage in patients with Alzheimer's disease and in patients with mild cognitive impairment by using diffusion tensor imaging. *Radiol Med*. 2008;113(6):915-22.

90. Ota M, Obata T, Akine Y, Ito H, Ikehira H, Asada T, Suhara T. Age-related degeneration of corpus callosum measured with diffusion tensor imaging. *Neuroimage*. 2006;31(4):1445–52.
91. Salat DH, Tuch DS, Greve DN, van der Kouwe AJ, Hevelone ND, Zaleta AK, Rosen BR, Fischl B, Corkin S, Rosas HD, Dale AM. Age-related alterations in white matter microstructure measured by diffusion tensor imaging. *Neurobiol Aging*. 2005;26(8):1215–27.
92. Stadlbauer A, Salomonowitz E, Strunk G, Hammen T, Ganslandt O. Age-related degradation in the central nervous system: assessment with diffusion-tensor imaging and quantitative fiber tracking. *Radiology*. 2008;247(1):179–88.
93. Scheltens P, Fox N, Barkhof F, De Carli C. Structural magnetic resonance imaging in the practical assessment of dementia: beyond exclusion. *Lancet Neurol* 2002;1:13-21.
94. Bartoš A, Zach P, Diblíková F, Tintěra J, Řípová D, Brunovský M. Vizuální kategorizace mediotemporální atrofie na MR mozku u Alzheimerovy nemoci. *Psychiatrie* 2007;11 (3):49-52.
95. DeCarli C, Frisoni GB, Clark CM, Harvey D, Grundman M, Petersen RC, Thal LJ, Jin S, Jack CR Jr, Scheltens P. Qualitative estimates of medial temporal atrophy as a predictor of progression from mild cognitive impairment to dementia. *Arch Neurol* 2007;64:108-15.
96. Stoub TR, Bulgakova M, Leurgans S et al. MRI predictors of risk of incident Alzheimer disease: a longitudinal study. *Neurology* 2005;64(9):1520-4.
97. Desikan RS, Cabral HJ, Fischl B et al. Temporoparietal MR imaging measures of atrophy in subjects with mild cognitive impairment that predict subsequent diagnosis of Alzheimer disease. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2009;30(3):532-8.
98. Bartos A, Zach P, Ibrahim I, Ripova D. Visual rating and volumetry of hippocampus on magnetic resonance imaging in Alzheimer disease. *European Psychiatry* 2008;23 (2):S187.
99. Appel J, Potter E, Shen Q, Pantol G, Greig MT, Loewenstein D, Duara R. A comparative analysis of structural brain MRI in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Behav Neurol*. 2009;21(1):13-9.
100. Ku BD, Na DL, Moon SY et al. Neuropsychological correlates of the proportional impact of white matter hyperintensities on mild to moderate dementia: the MRI 300 study. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 011;31(6):397-405.
101. Bartoš A, Zach P, Tintěra J, Ibrahim I, Řípová D. Jednoduchá klasifikace změn bílé hmoty na MR mozku ve stáří. *Psychiatrie* 2010;14(2):44-47.

102. Lenzi D, Conte A, Mainero C, Frasca V, Fubelli F, Totaro P, Caramia F, Inghilleri M, Pozzilli C, Pantano P. Effect of corpus callosum damage on ipsilateral motor activation in patients with multiple sclerosis: a functional and anatomical study. *Hum Brain Mapp.* 2007;28:636–644.
103. Evangelou N, Konz D, Esiri MM, Smith S, Palace J, Matthews PM. Regional axonal loss in the corpus callosum correlates with cerebral white matter lesion volume and distribution in multiple sclerosis. *Brain.* 2000;123 (Pt 9):1845-9.
104. Ge Y, Law M, Grossman RI. Applications of diffusion tensor MR imaging in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1064:202-19.
105. Polman C, Schellekens H, Killestein J. Neutralizing antibodies to interferon-beta may persist after cessation of therapy: what impact could they have? *Mult Scler.* 2006;12(3):245-6.
106. Warnke C, Leussink VI, Goebels N, Aktas O, Boyko A, Kieseier BC, Hartung HP. Cladribine as a therapeutic option in multiple sclerosis. *Clin Immunol.* 2011 Jun 1.
107. Di Filippo M, Sarchielli P, Picconi B, Calabresi P. Neuroinflammation and synaptic plasticity: theoretical basis for a novel, immune-centred, therapeutic approach to neurological disorders. *Trends Pharmacol Sci.* 2008;29(8):402-12.
108. White LJ, Castellano V. Exercise and brain health--implications for multiple sclerosis: Part 1--neuronal growth factors. *Sports Med.* 2008;38(2):91-100.
109. White LJ, Castellano V. Exercise and brain health--implications for multiple sclerosis: Part II-immune factors and stress hormones. *Sports Med.* 2008;38(3):179-86.
110. Morgen K, Kadom N, Sawaki L, Tessitore A, Ohayon J, McFarland H, Frank J, Martin R, Cohen LG. Trainin-gdependent plasticity in patients with multiple sclerosis. *Brain.* 2004;127(Pt 11):2506-17.
111. Bohannon RW. Physical rehabilitation in neurologic diseases. *Curr Opin Neurol.* 1993;6(5):765-72.
112. Roosendaal SD, Geurts JJ, Vrenken H, Hulst HE, Cover KS, Castelijns JA, Pouwels PJ, Barkhof F. Regional DTI differences in multiple sclerosis patients. *Neuroimage.* 2009;44(4):1397-403
113. Cassol E, Ranjeva JP, Ibarrola D, Mékies C, Manelfe C, Clanet M, Berry I. Diffusion tensor imaging in multiple sclerosis: a tool for monitoring changes in normal-appearing white matter. *Mult Scler.* 2004;10(2):188-96.
115. Song SK, Yoshino J, Le TQ, Lin SJ, Sun SW, Cross AH, Armstrong RC. Demyelination increases radial diffusivity in corpus callosum of mouse brain. *Neuroimage.* 2005;26(1):132-40.

116. Song SK, Sun SW, Ramsbottom MJ, Chang C, Russell J, Cross AH. Demyelination revealed through MRI as increased radial (but unchanged axial) diffusion of water. *Neuroimage*. 2002;17(3):1429-36.
117. Řasová K, Brandejský P, Tintěra J, Krásenský J, Zimová D, Medová E, Herbenová A, Kalistová H, Sobotková L, Jech R, Řasová M, Zemanová P, Zeman J, Ibrahim I, Martinková P, Doležil D, Jandová D. Bimanuální sekvenční motorická úloha u roztroušené sklerózy mozkomíšni v obraze funkční magnetické rezonance: vliv fyzioterapeutických technik – pilotní studie. *Česk Slov Neurol* 2009;4(72/105):350–359.
118. Řasová K. Nové trendy ve fyzioterapii nemocných s roztroušenou sklerózou mozkomíšni. *Neurol. prax* 2010;11(3):175–178.
119. Huyser C, Veltman DJ, de Haan E, Boer F. Paediatric obsessive-compulsive disorder, a neurodevelopmental disorder? Evidence from neuroimaging. *Neurosci Biobehav Rev*. 2009;33(6):818-30.
120. Friedlander L, Desrocher M. Neuroimaging studies of obsessive-compulsive disorder in adults and children. *Clin Psychol Rev*. 2006;26(1):32-49.
121. Whiteside SP, Port JD, Abramowitz JS. A meta-analysis of functional neuroimaging in obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res*. 2004;132(1):69-79.
122. Menzies L, Chamberlain SR, Laird AR, Thelen SM, Sahakian BJ, Bullmore ET. Integrating evidence from neuroimaging and neuropsychological studies of obsessive-compulsive disorder: the orbitofronto-striatal model revisited. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32(3):525-49.
123. Stewart SE, Platko J, Fagerness J, Birns J, Jenike E, Smoller JW, Perlis R, Leboyer M, Delorme R, Chabane N, Rauch SL, Jenike MA, Pauls DL. A genetic family-based association study of OLIG2 in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64(2):209-14.
124. Zai G, Bezchlibnyk YB, Richter MA, Arnold P, Burroughs E, Barr CL, Kennedy JL. Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) gene is associated with obsessive-compulsive disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2004;129B(1):64-8.
125. Gilbert AR, Keshavan MS, Diwadkar V, Nutche J, Macmaster F, Easter PC, Buhagiar CJ, Rosenberg DR. Gray matter differences between pediatric obsessive-compulsive disorder patients and high-risk siblings: a preliminary voxel-based morphometry study. *Neurosci Lett*. 2008;435(1):45-50.
126. Fitzgerald KD, Welsh RC, Gehring WJ, Abelson JL, Himle JA, Liberzon I, Taylor SF. Error-related hyperactivity of the anterior cingulate cortex in obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry*. 2005;57(3):287-94.

127. Yücel M, Harrison BJ, Wood SJ, Fornito A, Wellard RM, Pujol J, Clarke K, Phillips ML, Kyrios M, Velakoulis D, Pantelis C. Functional and biochemical alterations of the medial frontal cortex in obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64(8):946-55.
128. Okasha A, Rafaat M, Mahallawy N, El Nahas G, El Dawla AS, Sayed M, El Kholi S. Cognitive dysfunction in obsessive-compulsive disorder. *Acta Psychiatr Scand*. 2000;101(4):281-5.
129. Kwon JS, Kim JJ, Lee DW, Lee JS, Lee DS, Kim MS, Lyoo IK, Cho MJ, Lee MC. Neural correlates of clinical symptoms and cognitive dysfunctions in obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res*. 2003;122(1):37-47.
130. Lucey JV, Costa DC, Blanes T, Busatto GF, Pilowsky LS, Takei N, Marks IM, Ell PJ, Kerwin RW. Regional cerebral blood flow in obsessive-compulsive disordered patients at rest. Differential correlates with obsessive-compulsive and anxious-avoidant dimensions. *Br J Psychiatry*. 1995;167(5):629-34.
131. Nordahl TE, Benkelfat C, Semple WE, Gross M, King AC, Cohen RM. Cerebral glucose metabolic rates in obsessive compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology*. 1989;2(1):23-8.
132. McGuire PK, Bench CJ, Frith CD, Marks IM, Frackowiak RS, Dolan RJ. Functional anatomy of obsessive-compulsive phenomena. *Br J Psychiatry*. 1994;164(4):459-68.
133. van den Heuvel OA, Remijnse PL, Mataix-Cols D, Vrenken H, Groenewegen HJ, Uylings HB, van Balkom AJ, Veltman DJ. The major symptom dimensions of obsessive-compulsive disorder are mediated by partially distinct neural systems. *Brain*. 2009;132(Pt 4):853-68.
134. Carmona S, Bassas N, Rovira M, Gispert JD, Soliva JC, Prado M, Tomas J, Bulbena A, Vilarroya O. Pediatric OCD structural brain deficits in conflict monitoring circuits: a voxel-based morphometry study. *Neurosci Lett*. 2007;421(3):218-23.
135. Menzies L, Williams GB, Chamberlain SR, Ooi C, Fineberg N, Suckling J, Sahakian BJ, Robbins TW, Bullmore ET. White matter abnormalities in patients with obsessive-compulsive disorder and their first-degree relatives. *Am J Psychiatry*. 2008;165(10):1308-15.
136. Szeszko PR, Ardekani BA, Ashtari M, Malhotra AK, Robinson DG, Bilder RM, Lim KO. White matter abnormalities in obsessive-compulsive disorder: a diffusion tensor imaging study. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(7):782-90.
137. Nenadic I. Targeting brain regions and symptoms: neuronal single-unit recordings and deep brain stimulation in obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry*. 2008;63(6):542-3.

138. Fletcher PC, Henson RNA. Frontal lobes and human memory: insights from functional neuroimaging. *Brain*. 2001;124(Pt 5):849-81.
139. Budson AE, Price BH. Memory dysfunction. *N Engl J Med*. 2005;352(7):692-9.
140. Newman SD, Carpenter PA, Varma S, Just MA. Frontal and parietal participation in problem solving in the Tower of London: fMRI and computational modeling of planning and high-level perception. *Neuropsychologia*. 2003;41(12):1668-82.
141. Gaillard WD, Balsamo L, Xu B, McKinney C, Papero PH, Weinstein S, Conry J, Pearl PL, Sachs B, Sato S, Vezina LG, Frattali C, Theodore WH.: fMRI language task panel improves determination of language dominance. *Neurology*. 2004;63(8):1403-8.
142. Calderon J, Perry RJ, Erzinclioglu SW, Berrios GE, Dening TR, Hodges JR. Perception, attention, and working memory are disproportionately impaired in dementia With Lewy bodies compared with Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001;70(2):157-64.
143. Catani M, Howard RJ, Pajevic S, Jones DK. Virtual in vivo interactive dissection of white matter fasciculi in the human brain. *Neuroimage*. 2002 Sep;17(1):77-94.
144. Bryan Kolb and Bryan D. Fantie. Development of the child's brain and behavior. *Handbook of clinical child neuropsychology*. Springer 2009; 19-46.
145. Margaret Semurad-Clikeman and Phyllis Anne Teeter Ellison. Development in the CNS. *Child neuropsychology*. Springer 2009; 47-64. 143.
146. Nimsky C. Fiber tracking--a reliable tool for neurosurgery? *World Neurosurg*. 2010 Jul;74(1):105-6.

9. Přílohy

V následující části jsou uvedeny vybrané originální publikované články týkajících se tématu dizertační práce.

- Příloha 1 **Combination of voxel based morphometry and diffusion tensor imaging in patients with Alzheimer's disease**
- Příloha 2 **Hodnocení integrity bílé hmoty in vivo v corpus callosum u pacientů s Alzheimerovou nemocí pomocí zobrazení difúzního tenzoru**
- Příloha 3 **Využití susceptibilitně váženého zobrazování (SWI) k charakterizaci stavu pacientů s Alzheimerovou chorobou: detekce mikrokrvácení a tkáňových změn v bazálních gangliích.**
- Příloha 4 **Atrofie mozkové kůry a bílé hmoty u Alzheimerovy nemoci na magnetické rezonanci mozku**
- Příloha 5 **Fractional anisotropy and mean diffusivity in the corpus callosum of patients with multiple sclerosis: the effect of physiotherapy**
- Příloha 6 **Medial frontal and dorsal cortical morphometric abnormalities are related to obsessive-compulsive disorder**
- Příloha 7 **FMRI u vizuální pracovní paměti a verbální fluence**