

TEORETICKÉ ZÁKLADY POKROČILÝCH METOD MAGNETICKÉ REZONANCE NA POLI NEUROVĚD

THEORETICAL FUNDAMENTALS OF ADVANCED MAGNETIC RESONANCE METHODS IN NEUROSCIENCE

přehledový článek

Ibrahim Ibrahim
Jaroslav Tintěra

Základna radiodiagnostiky
a intervenční radiologie, oddělení
magnetické rezonance IKEM, Praha

Přijato: 15. 9. 2012.

Korespondenční adresa:

Mgr. Ibrahim Ibrahim, Ph.D.
Institut klinické a experimentální
medicíny
Základna radiodiagnostiky
a intervenční radiologie, oddělení
magnetické rezonance
Víteňská 158/9, 140 21 Praha 4
e-mail: ibib@medicon.cz

Konflikt zájmů: Autoři neuvádějí
žádný konflikt zájmů.

Práce byla podporována grantem
MZ ČR 00023001 IKEM.

SOUHRN

**Ibrahim I, Tintěra J. Teoretické základy
pokročilých metod magnetické rezonance
na poli neurověd**

Ačkoliv konvenční techniky zobrazení magnetickou rezonancí mají dominantní postavení při vyšetření centrálního nervového systému, přesto tyto techniky nedokážou dát informaci o funkčních vlastnostech mozkové tkáně. Kromě konvenčních MR technik však existují i MR metody umožňující některé z těchto vlastností zobrazit. Mezi ně můžeme zařadit funkční magnetickou rezonanci, difúzně vážené zobrazování, resp. zobrazení difúzního tenzoru a morfometrickou analýzu. Tento článek podává přehled fyzikálních základů zmíněných MR metod a jejich využití ve výzkumu a klinické praxi.

Klíčová slova: funkční magnetická rezonance, zobrazení difúzního tenzoru, morfometrická analýza, mozek.

SUMMARY

Ibrahim I, Tintěra J. Theoretical fundamentals of advanced magnetic resonance methods in neuroscience

Although conventional MR imaging techniques play a crucial role in the examination of the central nervous system, these techniques can not give any information about functional properties of the brain tissue. Besides conventional MRI techniques, however, there are some MR methods enabling evaluation of these functional properties. These methods include functional magnetic resonance imaging, diffusion-weighted imaging or diffusion tensor imaging, and voxel based morphometry. This article presents the basic physical concepts of the above-mentioned MR techniques and their applications in research and clinical practice.

Key words: functional magnetic resonance imaging, diffusion tensor imaging, voxel-based morphometry, brain.

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 sou-

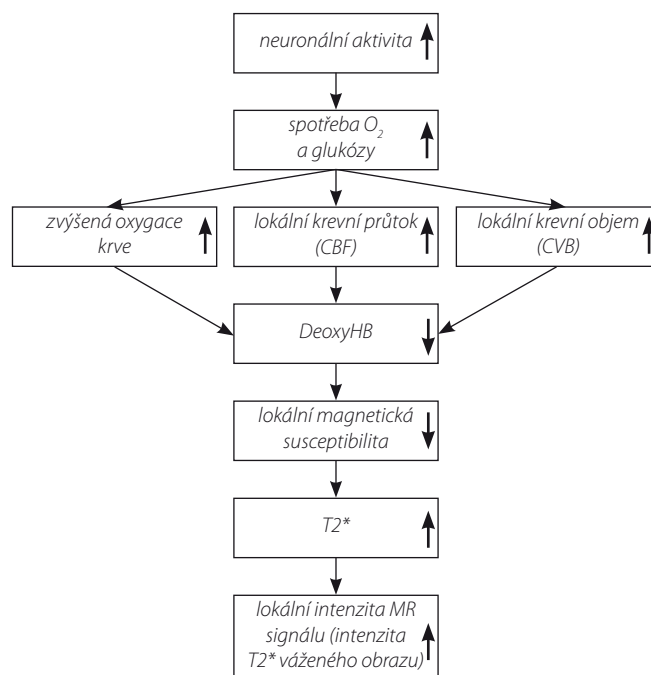
časné době existuje celá řada zobrazovacích technik umožňujících popis jeho struktury a funkce (1, 2). Mezi tyto metody patří i neinvazivní metody magnetické rezonance. Ačkoliv konvenční techniky zobrazení magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging – MRI) mají dominantní postavení při vyšetření CNS (poskytují detailní informace o anatomic-

ké struktury 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 jejich difúzních vlastností. Na základě určení preferenčního směru difúze 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 různá neurodegenerativní a demyelinizační onemocnění (jako je Alzheimerova choroba a roztroušená skleróza) způsobují změny difúze 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 difúze 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.

Tento článek si neklade za cíl podat vyčerpávající teoretické vysvětlení uvedených metod, ale spíše poskytnout základ pro jejich pochopení a využití jak ve výzkumu, tak v klinické praxi (detaily jednotlivých technik lze nalézt v uvedených odkazech).

FUNKČNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE

Funkční zobrazování magnetickou rezonancí otevřelo novou epochu zkoumání funkcí lidského mozku a našlo uplatnění v nejrůznějších oblastech. Praktickým příkladem aplikace fMRI mohou být fMRI vyšetření prováděná jako součást neu-



Obr. 1. Schematické znázornění neurovaskulární vazby u BOLD techniky. Vysvětlení je v textu (viz princip fMRI BOLD).

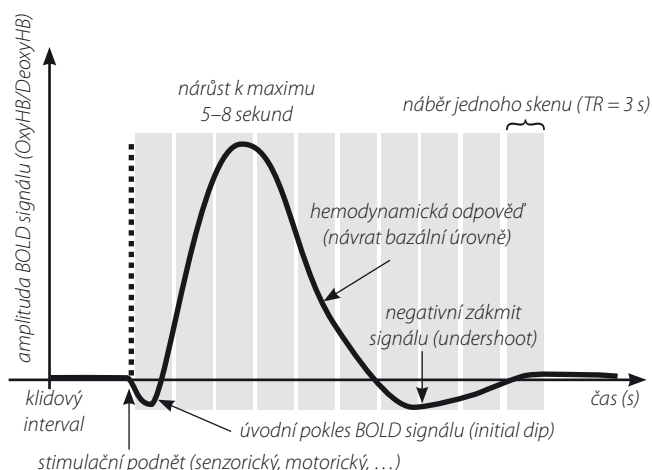
Fig. 1. A schematic representation of the neurovascular coupling related to the BOLD signal (see principle of BOLD fMRI section for detailed explanation).

rochirurgických předoperačních vyšetření. fMRI si ale našlo nezastupitelné místo i v nejrozsáhlejších 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 sensorických, motorických či kognitivních procesů. Nejpočastěji používanou 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). Další možnou metodou funkčního mapování mozku je perfúzní fMRI, která je založená na změnách perfúze a objemu krve v lokální aktivované oblasti mozku (4).

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, 5). Neuron ke své činnosti potřebují energii produkovanou oxidací glukózy (6). 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 3 s po stimulaci, tzv. initial dip) reaguje na zvýšenou koncentraci deoxyhemoglobinu a na požadavek mozkové kůry po kyslíku vazodilatací a zvýšením lokálního cerebrálního průtoku (CBF). Průtok se přitom oproti



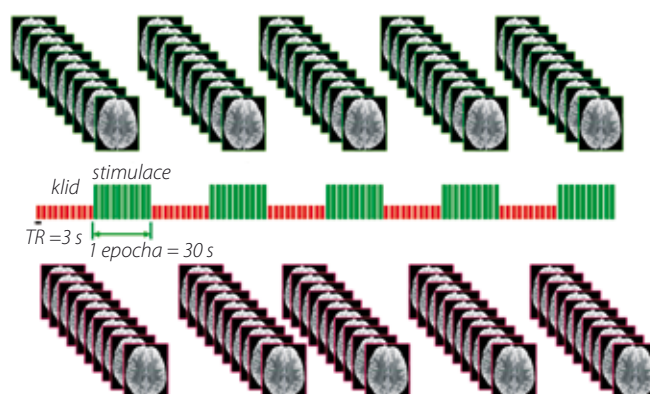
Obr. 2. Schematické znázornění hemodynamické odpovědi (HRF) lokální mozkové kůry na stimulační podnět. Na obrázku je znázorněn časový průběh změny měřeného signálu v lokální aktivované oblasti mozku. Fig. 2. A schematic representation of the hemodynamic response functions of the local brain cortex during stimulus presentation. The figure shows the time course of changes of the measured signal in the local activated brain area.

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 (7) (obr. 1, 2).

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). Blokový design je jednoduchý design s dobrou detekční schopností aktivovaných oblastí mozkové kůry (8) a s poměrně krátkým časem realizace experimentu (přibližně 6 minut). Event-related design je určený pro detekci neznámé hemodynamické odpovědi (hemodynamic response function – HRF) na jednotlivé podněty (9). 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.

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



Obr. 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)). Fig. 3. A schematic representation of the fMRI data acquisition in the block design during which the rest and the stimulus alternate (number of images per series = 100 (10/stimulus, 10/rest, 5x repetitive scheme)).

designu je test verbální fluence (slovní plynulost), kde se střídají jednotlivé obrazy v období klidu a stimulace (obr. 3).

Nejčastěji 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 měřicích technik umožnilo rozšíření fMRI a jeho použití v klinické praxi.

ZPRACOVÁNÍ fMRI DAT

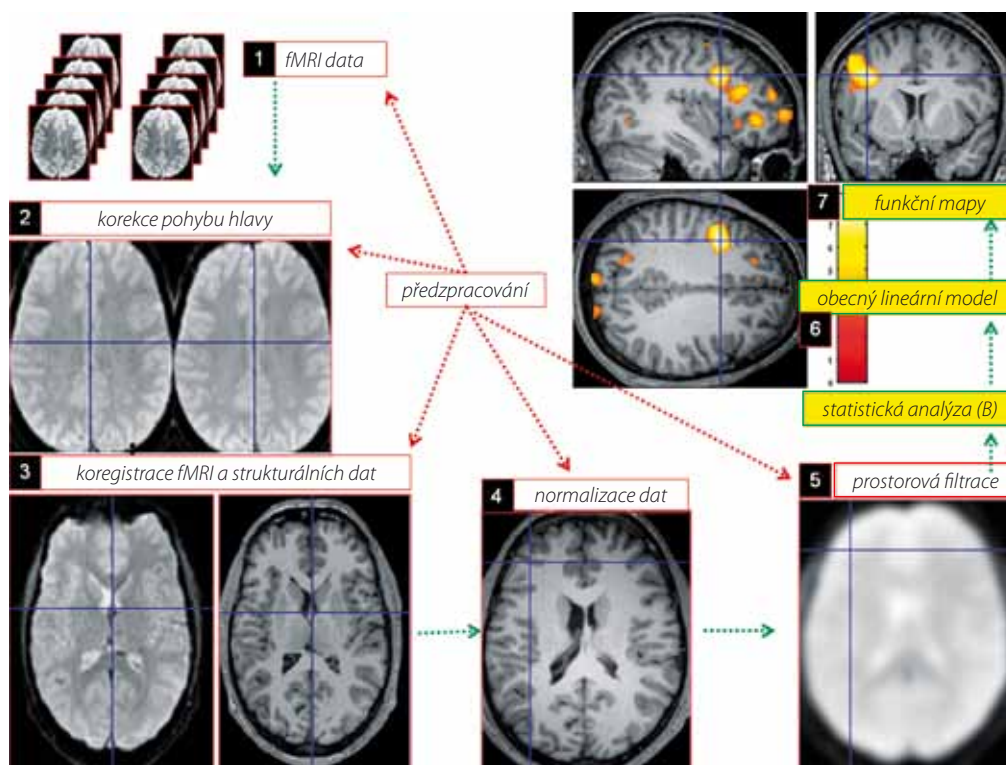
Zpracování fMRI dat zahrnuje dva hlavní kroky – předzpracování dat a jejich statistickou analýzu.

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. 4).

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>).



Obr. 4. Jednotlivé kroky předzpracování (A) fMRI dat (1–6): 1 – série naměřených funkčních dat, 2 – korekce pohybových artefaktů a koregistrace, 3 – fMRI a strukturálních dat s vysokým rozlišením, 4 – normalizace dat do stereotaktického prostoru (MNI nebo Talairachova prostoru), 5 – prostorová filtrace dat ke zlepšení poměru signál/šum; B: 6 – statistická analýza s obecným lineárním modelem, 7 – výsledná aktivační mapa
Fig. 4. fMRI data preprocessing (A) steps (1–6): 1 – acquired fMRI data, 2 – correction of motion artifacts and coregistration, 3 – of fMRI data with high resolution structural images, 4 – data normalization into a standard stereotactic space (MNI or Talairach), 5 – data smoothing to improve the signal/noise ratio; B: 6 – statistical analysis with the general linear model, 7 – functional activation maps

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 (10).

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 MPAGE s rozlišením $1 \times 1 \times 1$ mm).

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

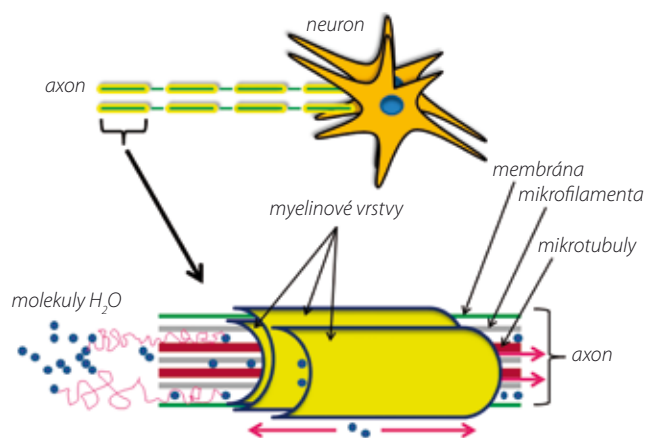
a zvětšení obrázků), tak i složku nelineární, která bývá parametrizována jako lineární kombinace obecně nelineárních bazových deformačních funkcí (11).

Prostorová filtrace dat

Prostorová filtrace dat spočívá v „rozmazení“ 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 práhuje, tj., pro každý bod se určí významnost nebo nevýznamnost



Obr. 5. Schematické znázornění axonu. Komponenty axonu jsou uspořádané paralelně k podélné ose axonu. Pohyb molekul vody ve směru podélné osy axonu je rychlejší a větší než v kolmém směru na axon.
Fig. 5. A schematic representation of axon. Components of axon are aligned parallel to the longitudinal axis of the axon. Movement of water molecules is faster and larger along the axon than in the perpendicular direction to the axon.

statistické hodnoty. Výsledná aktivační mapa je pak pro přesnou lokalizaci a interpretaci fMRI výsledků zobrazena na ko-registrovaných anatomických obrazech s vysokým rozlišením (12, 13) (obr. 4).

ZOBRAZENÍ DIFUZNÍHO TENZORU

Difuzí rozumíme neustálý a neuspořádaný pohyb molekul. V biologickém prostředí má přítom difuze nepostradatelnou roli při transportu životně důležitých metabolitů (14, 15). 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.

TEORETICKÉ ZÁKLADY DIFUZE

Nejjednodušším případem difuze je tzv. izotropní difuze, kdy posuny molekul nezávisí na jejich směru. Pro tuto difuzi 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 difuzní 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 mozku (velmi nízké hodnoty anizotropie).

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 (16, 17). ADC je tedy jakýsi zjednodušený koeficient, který zahrnuje i další mechanismy přispívající k difuzi v biologickém prostředí. Dalším důvodem pro zavedení ADC je i konečná velikost měřeného voxelu. Každý voxel zahrnuje různá prostředí (intracelulární a extracelulární prostory), ve kterých se molekuly pohybují. Dochází pak k přechodům mezi buňkou a extracelulárním prostředím, což opět zkresluje naměřený difuzní koeficient (18).

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 šest z jejích devíti složek je nezávislých. Matice tenzoru je proto definována šesti 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 (eigenvektory) 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 (19) (obr. 5). Proto je v bílé hmotě hlavní podélná osa elipsoidu orientována v paralelním směru k axonům.

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. 6).

ZOBRAZENÍ POMOCÍ MR

Metoda difuzně váženého MR zobrazování (DWI) je založena na citlivosti měřeného MR signálu v zobrazovaných tkáních na difuzi molekul vody. Tento efekt byl poprvé popsán Carrem a Purcellem (20) 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. 7). To vede k úbytku měřeného signálu S , který můžeme popsat následujícím vztahem:

$$S = S_0 \exp^{-b \text{ADC}}$$

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

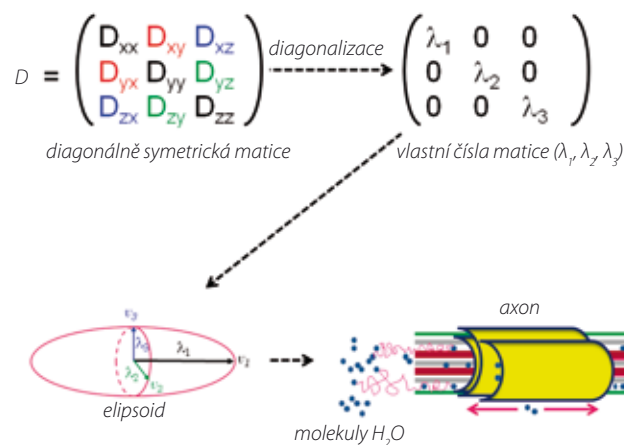
kde γ je gyromagnetický poměr, S je intenzita pozorovaného signálu při aplikaci difuzních gradientů, S_0 je signál získaný bez aplikace difuzních gradientů, b (tzv. b-faktor, gradientní faktor), který je dán parametry akvizice sekvence a určuje citlivost pulzní sekvence k difuzi molekul. b-faktor závisí na časovém odstupu obou gradientních pulzů (Δ) a na trvání (δ) a amplitudě (G) difuzních gradientů (18, 21).

Výše popsaná sekvence spinového echa s difuzními gradientními pulzy byla poprvé popsána v roce 1965 Stejskalem a Tannerem (22) 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 obrazu (diffusion weighted imaging – DWI). Pokud měříme dostatek DWI obrazů s různou orientací difuzních gradientů, abychom mohli vypočítat difuzní tenzor, mluvíme o DTI (23). 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. Od konce devadesátých let 20. století, kdy byly publikovány první aplikace DWI (24), se DWI a DTI staly součástí klinických vyšetřovacích protokolů.

ZPRACOVÁNÍ DTI DAT

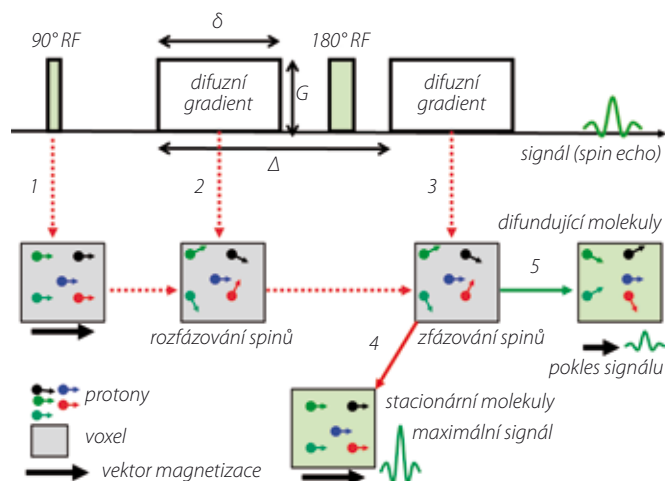
Difuzní data jsou velmi citlivá k různým artefaktům a vyžadují aplikaci různých korekcí. Existuje celá řada volně dostupných programů na hodnocení difuzních dat a k rekonstrukci svazků bílé hmoty. Příkladem takových programů je MedINRIA (<http://www-sop.inria.fr/asclepios/software/MedINRIA/>), DTIstudio (<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. Nejpo-



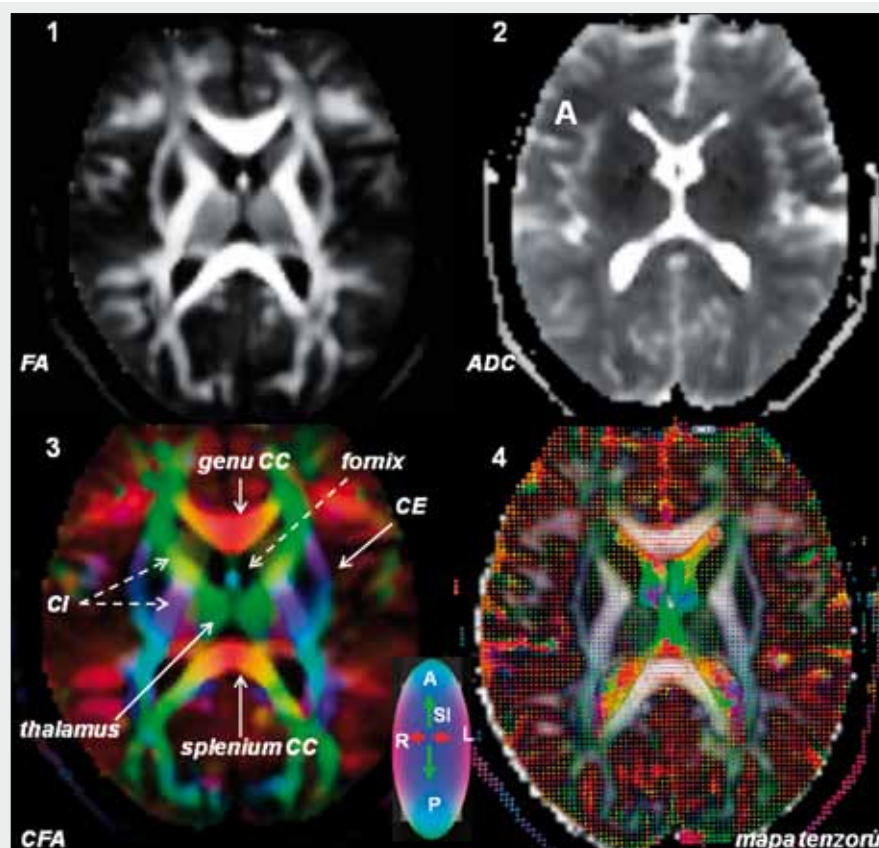
Obr. 6. Schematické znázornění difuzního tenzoru pomocí matice a elipsoidu. Difuzní tenzor je vyjádřen matematicky jako matice s devíti komponentami difuzních koeficientů. Diagonalizací této matice obdržíme sadu tří vlastních vektorů, hlavní, střední a menší (v_1 , v_2 a v_3 – eigenvectors) základní 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.

Fig. 6. A schematic representation of the diffusion tensor using matrix and ellipsoid. Diffusion tensor is described by the matrix with 9 components of diffusion coefficients. Diagonalization of the matrix (diffusion tensor) provides 3 eigenvectors (major v_1 , medium v_2 and minor v_3) of the main axis of the ellipsoid and associated eigenvalues (λ_1 , λ_2 a λ_3). The major axis (the largest eigenvector) is oriented along the longitudinal axis of the axon.



Obr. 7. Schematické znázornění sekvence spinového echa s párem gradientních pulzů pro měření difuze (DWI sekvence, Stejskal-Tannerova sekvence). Po aplikaci 90° RF pulzu dochází ve vyšetřovaném objemu tkáně (např. ve voxelu s 5 protony) ke sklopení vektoru magnetizace do transverzální roviny (1). První difuzní gradient (před 180° RF pulzem) způsobuje rozfázování spinů (2) a druhý gradient je zřazuje (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).

Fig. 7. A schematic representation of the spin echo sequence with a symmetric pair of diffusion-sensitizing gradients (around the 180 refocusing pulse) for measuring water diffusion (DWI sequence, Stejskal Tanner sequence). After the application of the 90° RF pulse, the magnetization vector in the examined tissue (e.g. a voxel with 5 protons) is tilted into the transverse plane (1). The spins are firstly dephased (2) by the first diffusion gradient (before the 180° RF pulse) and subsequently rephased by the second diffusion gradient (after the 180° RF pulse) (3). The phase of the stationary molecules induced by both diffusion gradient pulses will be completely canceled and the resulting signal will be maximal (4). However, the diffusion of the molecules along the direction of the applied gradient pulse causes phase shifts of the spins (spins acquire a different phase) which subsequently lead to the decrease of the resulting MR signal (5).



▲ Obr. 8

Obr. 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.

Fig. 8. Reconstruction of the scalar and diffusion directional maps performed on a healthy volunteer using FACT algorithm in MedINRIA. 1 – fractional anisotropy map without information about the direction of the nerve bundles. 2 – apparent diffusion coefficient map that gives the mean diffusivity in each voxel without consideration of the diffusion direction. 3 – color coded FA map is calculated using the FA and diffusion directional maps. The colors RGB (red, green and blue) indicate the major diffusion directions (directions of the white matter bundles) in each voxel. Red: left-right; green: anterior-posterior, and blue: superior-inferior direction. CE: external capsule, CI: internal capsule. 4 – diffusion tensor map shows the main diffusion vector in each voxel of the FA map.

užívanějšími 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 (λ_1 , λ_2 , λ_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 (19). 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 možné určit jak stupeň anizotropie, tak i lokální orientaci nervového vlákna (obr. 8).

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. 8). ADC se vypočítá následujícím způsobem z vlastních čísel difuzní matice:

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

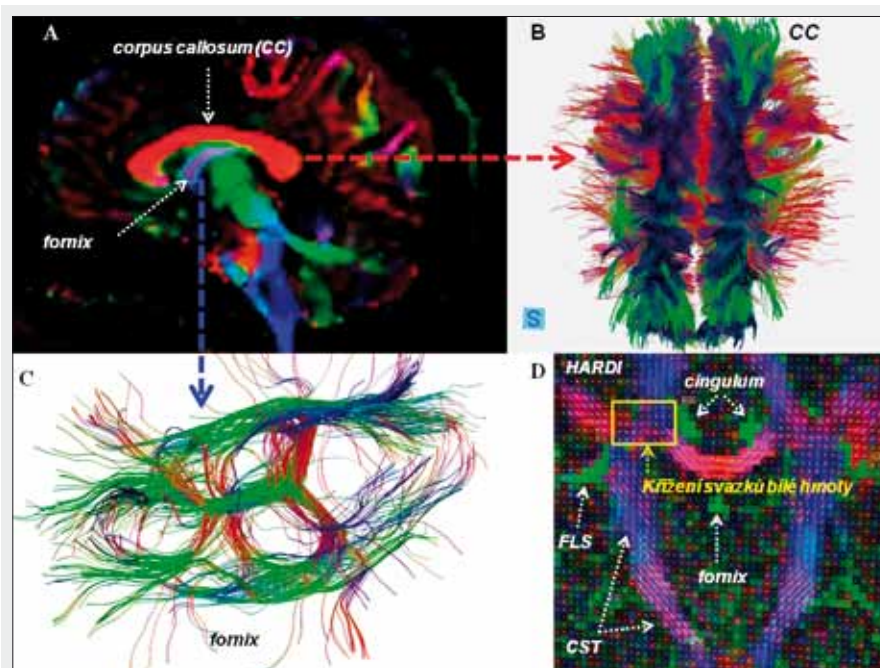
Často se také místo ADC používá tzv. stopa (Tr, trace) difuzního tenzoru, která je dána prostým součtem jeho vlastních čísel. Platí tedy:

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

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 (25).

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.



Obr. 9

Obr. 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

Fig. 9. Visualization of white matter bundles of corpus callosum in a 30 year old volunteer. Selection of the regions of interest in the corpus callosum and fornix viewed in the midsagittal slice of the color coded directionality FA map (A) and subsequent reconstruction of white matter bundles in both selected areas using FACT algorithm (B–C); D – diffusion tensor map (an orientation distribution function, ODF) created with HARDI technique showing crossing fibers. FLS: superior longitudinal fasciculus. CST: corticospinal tract

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 (26). Příkladem této skupiny algoritmů je Fiber assignment by continuous tracking (FACT) (27). 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 (28) nebo diffusion spectrum imaging – DSI (29). 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 skrz šedou hmotu, při křížení drah a při rekonstrukci složitějších svazků bílé hmoty (27). Příkladem rekonstrukce svazků bílé hmoty v corpus callosum a fornix u zdravého dobrovolníka v programu MedINRIA metodou FACT je na obrázku 9.

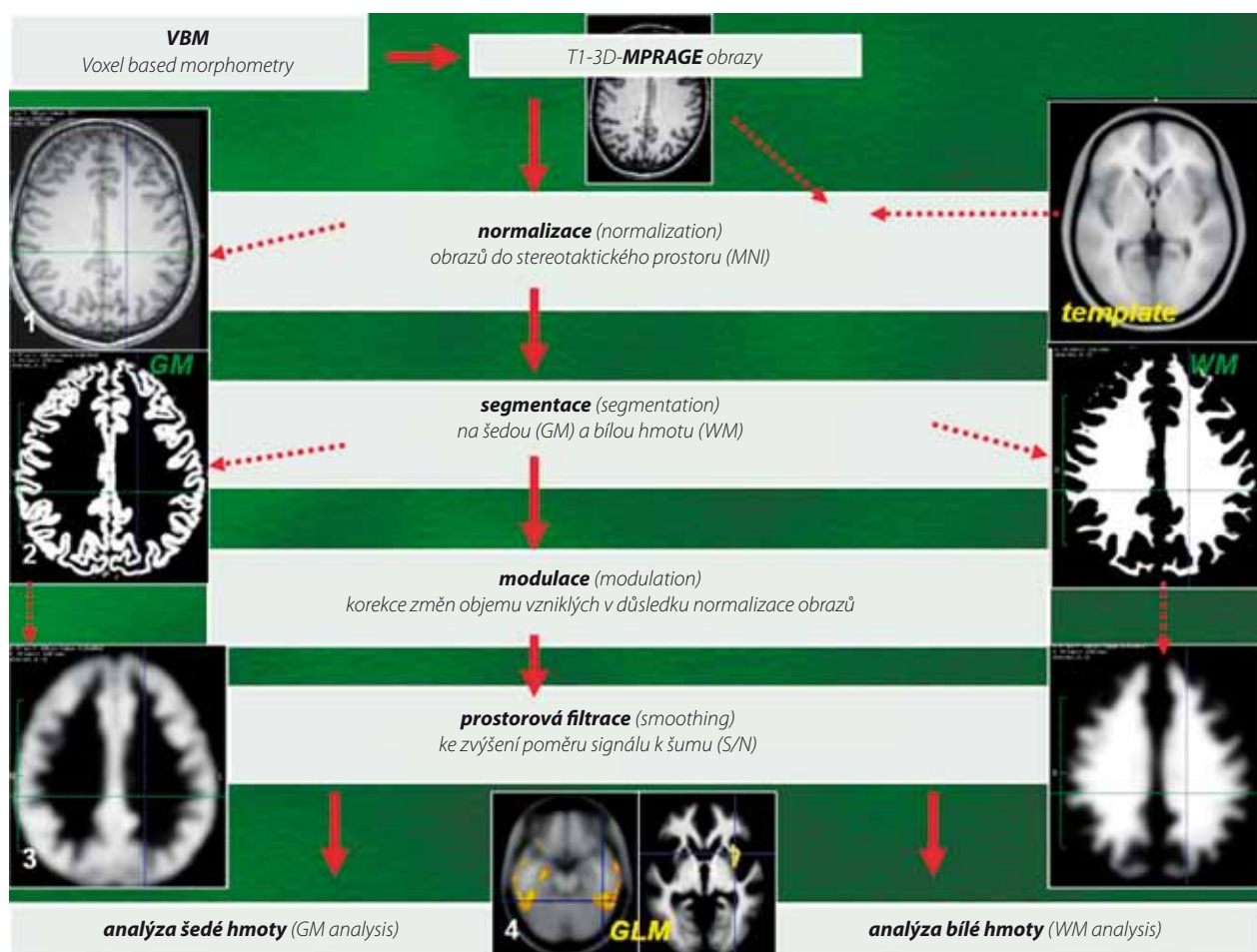
MORFOMETRICKÁ ANALÝZA CELÉHO MOZKU

Porovnávání strukturálních změn celého mozku mezi dvěma studovanými skupinami voxel po voxelu se stává důležitou metodou ve výzkumu různých neurologických a psychiatrických onemocnění CNS. Neuropatologické změny v mozkové tkáni často vedou k atrofii mozku. Tyto atrofické změny mozkové tkáně jsou přitom často specifické pro dané neurodegenerativní onemocnění (30). Morfometrická analýza (VBM) je (na rozdíl od konvenčních morfometrických technik (31)) kvantitativní 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 (32).

Standardní morfometrická analýza

Tato morfometrická analýza VBM vyžaduje čtyři hlavní kroky (obr. 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.
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. 10. Schematické znázornění standardní morfometrické analýzy – VBM. Strukturální T1-3D MPRAGE obrazy jsou normalizovány (1), segmentovány (2), prostorově filtrovány (3) a voxel po voxelu statisticky analyzovány pomocí obecného lineárního modelu (4) v programu SPM8.

Fig. 10. A schematic representation of the preprocessing steps in standard VBM. Structural T1-3D MPRAGE images are normalized (1), segmented (2) and smoothed (3). Subsequently, each voxel is analyzed using SPM8 with general linear mode (4).

Optimalizovaná morfometrická analýza

Modifikovanou verzí standardní VBM je takzvaná optimalizovaná VBM. 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) (33).

Ačkoliv je VBM jednoduchá a citlivá metoda k subtilním změnám mozkových struktur, vyžaduje kvalitní vstupní MR

obrazy, bezchybnou koregistraci a segmentaci analyzovaných dat.

ZÁVĚR

Vývoj zobrazovacích modalit a pokroky v neurovědách otevřely nové možnosti ve zkoumání kognitivních funkcí lidského mozku, neurodegenerativních a neuropsychiatrických poruch a ukázaly jejich spojitost s morfologickými a patofyziologickými změnami mozkových struktur. Časná detekce abnormálních změn mozkové tkáně pomocí různých metod a správná diagnostika je předpokladem účinné a adekvátní léčby různých onemocnění CNS.

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): 340–357.
2. **Jorg P.** Medical imaging modalities – an introduction. *Advanced imaging in biology and medicine.* Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2009; 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 USA* 1990; 87(24): 9868–9872.
4. **Williams DS, Detre JA, Leigh JS, Koretsky AP.** Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(1): 212–216.
5. **Tintěra J, Vymazal J.** Funkční a metabolické MR zobrazení mozku. *Čes Radiol* 2005; 59(1): 3–14.
6. **Jezzard P, Matthews PM, Smith SM.** (eds.) *Functional MRI: An Introduction to Methods.* Oxford: OUP 2001.
7. **Buxton RB, Uludağ K, Dubowitz DJ, Liu TT.** Modeling the hemodynamic response to brain activation. *Neuroimage* 2004; 23(1): S220–233.
8. **Lindquist MA.** The statistical analysis of fMRI data. *Statistical Science* 2008; 23(4): 439–464.
9. **Buckner RL, Bandettini PA, O'Craven KM, et al.** Detection of cortical activation during averaged single trials of a cognitive task using functional magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(25): 14878–14883.
10. **Friston KJ, Williams S, Howard R, et al.** Movement-related effects in fMRI time-series. *Magn Reson Med* 1996; 35(3): 346–355.
11. **Ashburner J, Friston KJ.** Nonlinear spatial normalization using basis functions. *Hum Brain Mapp.* 1999; 7(4): 254–266.
12. **Monti MM.** Statistical analysis of fMRI time-series: a critical review of the GLM approach. *Front Hum Neurosci* 2011; 5: 28.
13. **Chlebus P, Mikl M, Brázdil M, Krupa P.** Funkční magnetická rezonance – úvod do problematiky. *Neurol. prax.* 2005; 6(3): 140–145.
14. **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.
15. **Einstein A.** Sue theorie der Brownschen Bewegung. *Ann Physik* 1906; 19: 371–381.
16. **Mukherjee P, Chung SW, Berman JI, et al.** Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: technical considerations. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008; 29(5): 843–852.
17. **Mukherjee P, Berman JI, Chung SW, et al.** Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: theoretic underpinnings. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008; 29(4): 632–641.
18. **Timothy PL, Roberts TP, Schwartz ES.** Principles and implementation of diffusion-weighted and diffusion tensor imaging. *Pediatr Radiol* 2007; 37(8): 739–748.
19. **Beaulieu C.** The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system – a technical review. *NMR Biomed* 2002; 15(7–8): 435–455.
20. **Carr HY, Purcell EM.** Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys Rev (Series II)* 1954; 94: 630–638.
21. **Parker GJ.** Analysis of MR diffusion weighted images. *Br J Radiol* 2004; 77(2): S176–185.
22. **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.
23. **Basser PJ, Pierpaoli C.** Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B* 1996; 111(3): 209–219.
24. **Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, et al.** MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology* 1986; 161: 401–407.
25. **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): 333–339.
26. **Conturo TE, Lori NE, Cull TS, et al.** Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(18): 10422–10427.
27. **Tournier JD, Mori S, Leemans A.** Diffusion tensor imaging and beyond. *Magn Reson Med* 2011; 65(6): 1532–1556.
28. **Tuch DS.** Q-ball imaging. *Magn Reson Med* 2004; 52(6): 1358–1372.
29. **Wedeen VJ, Wang RP, Schmahmann JD, et al.** Diffusion spectrum magnetic resonance imaging (DSI) tractography of crossing fibers. *Neuroimage* 2008; 41(4): 1267–1277.
30. **Whitwell JL.** Voxel-based morphometry: an automated technique for assessing structural changes in the brain. *J Neurosci* 2009; 29(31): 9661–9664.
31. **Yu A, Li K, Li L, et al.** Whole-brain voxel-based morphometry of white matter in medial temporal lobe epilepsy. *Eur J Radiol* 2008; 65(1): 86–90.
32. **Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, et al.** A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 2001; 14(1 Pt 1): 21–36.
33. **Mechelli A, Cathy J. Price, Karl J. Friston, et al.** Voxel-based morphometry of human brain: methods and applications. *Current Medical Imaging Reviews* 2005; 1(1): 105–113.