

# Magnetická rezonanční relaxometrie u roztroušené sklerózy – měření T2 relaxačního času v centrální šedé hmotě

## Magnetic Resonance Relaxometry in Multiple Sclerosis – T2 Relaxation Time Measurement in Central Gray Matter

### Souhrn

**Cíl:** Cílem práce je prokázat zvýšené ukládání železa v centrálních strukturách šedé hmoty u pacientů s roztroušenou sklerózou (RS). MR relaxometrie stanovuje železo v normálně vyhlížející šedé hmotě, tedy před MR viditelnými projevy nadměrného ukládání, kterými jsou T2 hypointenzity. Dalším cílem je korelace T2 relaxačního času (T2) a objemu T2 hyperintenzních ložisek (lesion load, LL). Soubor a metodika: 347 pacientů s klinicky definovanou RS a 117 kontrol bylo vyšetřeno na MR, včetně sekvence Multiecho (GraSE, gradient and spin echo) k výpočtu T2. Při korelaci T2 byli pacienti spárováni s kontrolami dle věku a pohlaví. Dále byli pacienti rozděleni na dvě podskupiny dle LL; 1. LL < 2 cm<sup>3</sup>: 140 pacientů, a LL > 5 cm<sup>3</sup>: 80 pacientů; a byl korelován T2 mezi oběma skupinami spárovanými dle věku. **Výsledky:** Prokázali jsme statisticky významné zvýšené ukládání železa u pacientů s RS proti kontrolám v ncl. caudatus oboustranně (vlevo p = 0,004; vpravo p = 0,033) a v levém putamen (p = 0,006). V talamech dle našich měření dochází k prodlužování T2. Korelace LL s T2 prokázala, že ve skupině s LL < 2 cm<sup>3</sup> je zkracování T2 statisticky významnější než u pacientů s LL > 5 cm<sup>3</sup> v putamen oboustranně (vlevo p < 0,001; vpravo p = 0,006). **Závěry:** Zjistili jsme, že u pacientů s RS dochází v bazálních gangliích k většímu ukládání železa než u zdravých kontrol. Dále jsme zjistili, že v podskupině tzv. nízkoobjemových RS (dle LL) je ukládání železa v bazálních gangliích větší než v podskupině vysokoobjemových RS. Změny obsahu železa v mozku podporují hypotézy o neurodegenerativní složce nemoci.

### Abstract

**Objective:** To establish the increased amount of iron deposits in central grey matter structures in patients suffering from multiple sclerosis (MS). MR relaxometry detects iron in normal-appearing grey matter, that is, in advance of any visible MRI manifestation of iron deposits, or T2 hypointensity. A further goal was to correlate T2 relaxation time to the volume of T2 hyperintense lesions-lesion load (LL). Materials and method: 347 patients with clinically defined MS and 117 controls were examined with MRI, using gradient and spin echo sequence (GraSE) for the calculation of T2 relaxation time. The two cohorts were age- and sex-matched in T2 correlation. Further, the MS patients were divided into two subgroups according to LL (LL < 2 cm<sup>3</sup>: 140 patients, LL > 5 cm<sup>3</sup>: 80 patients) and were T2 correlated in these age-matched groups. **Results:** We established a statistically significant increase of iron deposits in ncl. caudatus bilaterally (left p = 0.004; right p = 0.033) and in left putamen (p = 0.006) in MS patients as opposed to healthy controls. Our measurements indicated no shortening of T2 in either thalamus. Correlation of LL with T2 demonstrated that in the group with LL < 2 cm<sup>3</sup> the T2 shortening is statistically more significant than in patients with LL > 5 cm<sup>3</sup> in putamen bilaterally (left p < 0.001; right p = 0.006). **Conclusions:** There is an increase of iron deposits in the basal ganglia of MS patients in comparison with controls. Further, there is an increase of iron deposits in the basal ganglia of low LL patients in comparison with high LL patients. The changes of iron content in the brain support our hypothesis that there exists a neurodegenerative component in the disease.

A. Burgetová<sup>1</sup>, Z. Seidl<sup>1,2</sup>,  
M. Vaněčková<sup>1</sup>, J. Krásenský<sup>1</sup>,  
D. Horáková<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Radiodiagnostická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>2</sup> Vyšší zdravotnická škola, Praha

<sup>3</sup> Neurologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze



MUDr. Andrea Burgetová  
Radiodiagnostická klinika  
1. LF UK a VFN v Praze  
Kateřinská 30  
128 08 Praha 2  
e-mail: andrea.burgetova@vfn.cz

Přijato k recenzi: 11. 6. 2009

Přijato do tisku: 29. 9. 2009

### Klíčová slova

roztroušená skleróza – železo – magnetická rezonance – T2 relaxometrie

### Key words

multiple sclerosis – iron deposit – magnetic resonance imaging – T2 relaxometry

### Poděkování

Tato studie byla podpořena granty ministerstva zdravotnictví MZO/VFN2005 a MSM2021620849. Dále děkujeme statistikovi RNDr. Jaromíru Běláčkovi, Ph.D., za technickou podporu.

## Úvod

Z tradičního pohledu je roztroušená skleróza (RS) autoimunitně vázaný chronický zánět centrálního nervového systému (CNS) vedoucí k demyelinizaci bílé hmoty. Novější poznatky ukazují, že již od počátku dochází také k axonálním ztrátám, které se projeví později, až se vyčerpají rezervy CNS, a jsou příčinou ireverzibilních neurologických změn [1]. RS je dnes považována za globální onemocnění CNS, které zahrnuje změny zánětlivé, demyelinizační a degenerativní včetně mozkové atrofie [2].

MR se stala nejvýznamnějším paraklinickým nástrojem pro diagnostiku RS. Široké užití MR ale postupně ukázalo, že na konvenční MR viditelná T2, event. FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery) hyperintenzní ložiska často nekorelují s klinickým stavem a průběhem onemocnění. Tato skutečnost se označuje jako klinickoradiologický paradox. Za neurologickými projevy pacientů s RS často stojí změny skrývající se v normálně vyhlížející bílé i šedé hmotě. S cílem postihnout tyto změny se do diagnostiky RS zavádějí nové MR techniky. Tyto metody zahrnují volumetrické zpracování konvenčně získaných MR obrazů: kvantifikace T2 hyperintenzních lézí (LL, lesion load), měření mozkového objemu k detekci atrofie (BPF, brain parenchymal fraction) a sledování přítomnosti T2 hypointenzních lézí v šedé hmotě, které bývají malé a při běžném hodnocení často unikají pozornosti. Nové MR techniky dále zahrnují tzv. nekonvenční metody: magnetizační transfer, MR spektroskopii, difúzně vážené obrazy, perfúzně vážené obrazy a funkční MR [3,4].

V poslední době je v literatuře týkající se RS věnována značná pozornost postižení šedé hmoty a T2 hypointenzním ložiskům. Nedávné studie prokazují, že tato ložiska klinicky výrazně korelují s délkou nemoci, klinickým průběhem, stupněm neurologického deficitu a s mozkovou atrofií a jsou mnohem významnějším prediktorem neurologického postižení a klinického vývoje RS než konvenční MR vyšetření [5–7]. Předpokládá se, že podkladem T2 hypointenzí jsou patologická depozita železa [8,9]. Zásobní železo je v mozku ukládáno především ve formě feritinu, to je tzv. bezpečné železo, protože je obklopeno protektivními molekulami proteinu. Toxicita železa se projevuje

Tab. 1. Demografická charakteristika vyšetřovaných souborů.

Soubor	RS – muži	RS – ženy	Kontroly – muži	Kontroly – ženy
n	122	225	42	75
věk (roky)				
průměrný věk	37,3 ± 11,8	37,1 ± 11,9	38,4 ± 14,6	37,5 ± 12,8
medián	35,3	34,3	35,2	34,3
rozpětí	18–65	13–69	17–78	12,5–74
RS – roztroušená skleróza				

tehdy, dojde-li k poškození protektivních molekul či se zvýší podíl volného železa v důsledku nedostatku feritinu v buňkách [10,11]. Volné, nevázané dvojmocné železo je toxické. Neurotoxicita volného železa spočívá v biochemické reakci zahrnující tvorbu reaktivních oxidačních produktů cestou železem indukované oxidace hydroxylů. Výsledkem je volný hydroxylový radikál, který je extrémně reaktivní a vede k degradaci biomolekul a oxidační destrukci lipidů důležitých ve struktuře buňky, což může být příčinou apoptózy. Je prokázáno, že k ukládání železa dochází během fyziologického stárnutí mozku [12]. Nadměrné ukládání železa ve strukturách mozku je popisováno u neurodegenerativních chorob [13]. Postupně roste zájem na odhalení úlohy železa a jeho významu u RS. Existují dvě teorie, jak může železo souviset s patofyziologií RS. Za prvé, depozita železa jsou jen jakýmsi vedlejším fenoménem, který doprovází neurodegenerativní změny v šedé hmotě [14,15]. Za druhé, železo je mediátorem neurotoxicity a přímo se účastní patogeneze RS, když podporuje vznik volných radikálů a oxidačního stresu [10].

Jedinou neinvazivní metodou a nástrojem pro detekci zvýšeného ukládání železa je T2 relaxometrie (T2). Je metodou volby pro stanovení železa v mozku in vivo a umožňuje výpočet koncentrace železa, přestože jen na základě empirické rovnice. T2 relaxometrie se v diagnostice RS řadí k nekonvenčním kvantitativním metodám, které umožňují detekovat změny v normálně vyhlížející mozkové tkáni, jež unikají konvenčním technikám MR [16].

Cílem naší práce je cestou T2 relaxometrie ověřit hypotézu, že u pacientů s RS se v centrální šedé hmotě hromadí železo více než u zdravých kontrol. Za předpokladu, že zvýšená depozita železa jsou

podkladem T2 hypointenzí v šedé hmotě popisovaných u RS, zkracování T2 relaxačního času může detekovat ukládání železa ještě před těmito MR viditelnými projevy.

Dalším cílem je stanovit, jak souvisí hodnoty T2 v měřených strukturách s dalším kvantitativně stanovovaným parametrem u RS, s celkovým objemem ložisek v bílé hmotě (LL, lesion load). Zatímco zkracování T2 reprezentuje neurodegenerativní složku RS, LL je odrazem zánětlivé složky RS.

## Soubor a metodika

Celkem bylo vyšetřeno 347 nemocných: 122 mužů (průměrný věk 37,3 ± 11,8 roků; medián 35,3) a 225 žen (průměrný věk 37,1 ± 11,9 roků; medián 34,3) z klinické databáze pacientů s RS v centru pro RS Neurologické kliniky VFN v Praze (tab. 1). Všichni pacienti měli klinicky definitivní RS, relaps remitentní formu. Dále byl analyzován podsoubor 287 pacientů s RS, u kterých byly naměřeny hodnoty LL (z toho: 138 s hodnotami LL < 2 cm<sup>3</sup>; 79 s hodnotami LL > 5 cm<sup>3</sup>, a zbývajících 70 v rozmezí 2 cm<sup>3</sup> ≤ LL ≤ 5 cm<sup>3</sup>). Vedle pacientů s RS byla vyšetřena skupina 117 kontrol: 42 mužů (průměrný věk 38,4 ± 14,6 roků; medián 35,2) a 75 žen (průměrný věk 37,5 ± 12,9 roků; medián 34,3), kteří byli vyšetřeni ve stejném protokolu. Byli z řad zdravých dobrovolníků doplněných o pacienty s jinou diagnózou než RS, u nichž nebylo podezření na možné změny v metabolismu železa (většinou byli vyšetřováni pro migrénu).

Vyšetření byla provedena na magnetické rezonanci Gyroscan NT 1,5T firmy Philips, použita byla standardní kvadratická hlavová cívka. Vyšetřovací protokol vždy zahrnoval: T1 vážené obrazy (T1WI), sekvenci FLAIR a difúzně vážené

**Tab. 2. Hodnoty Pearsonových korelačních koeficientů (R) mezi T2 relaxačními časy a věkem vyšetřených osob (RS pacientů a zdravých kontrol) v šesti vyšetřovaných mozkových strukturách s vyznačenou hladinou významnosti (p).**

Pearson R	RS – muži	RS – ženy	Kontroly – muži	Kontroly – ženy	RS vs kontroly <sup>4</sup>
n	122	225	42	75	347 117
levé ncl. caudatus	R = -0,395 <sup>1</sup> p < 0,00001 <sup>2</sup> T2 = 95 - 0,14 * věk <sup>3</sup>	R = -0,464 p < 0,00001 T2 = 79 + 0,17 * věk	R = -0,216 p = 0,1702 T2 = 92 - 0,04 * věk	R = -0,262 p = 0,0232 T2 = 93 - 0,08 * věk	R <sup>2</sup> = 0,17 p = 0,004
pravé ncl. caudatus	R = -0,241 p = 0,0075 T2 = 93 - 0,09 * věk	R = -0,431 p < 0,00001 T2 = 94 - 0,13 * věk	R = -0,064 p = 0,6859 T2 = 89 - 0,01 * věk	R = -0,297 p = 0,0098 T2 = 91 - 0,08 * věk	R <sup>2</sup> = 0,11 p = 0,033
levé putamen	R = -0,430 p < 0,00001 T2 = 86 - 0,14 * věk	R = -0,544 p < 0,00001 T2 = 88 - 0,21 * věk	R = -0,395 p = 0,0095 T2 = 86 - 0,11 * věk	R = -0,305 p = 0,0078 T2 = 85 - 0,09 * věk	R <sup>2</sup> = 0,22 p = 0,006
pravé putamen	R = -0,205 p = 0,0237 T2 = 84 - 0,07 * věk	R = -0,457 p < 0,00001 T2 = 87 - 0,05 * věk	R = -0,328 p = 0,0339 T2 = 83 - 0,08 * věk	R = -0,248 p = 0,0321 T2 = 83 - 0,07 * věk	R <sup>2</sup> = 0,13 p = 0,092
levý talamus	R = 0,237 p = 0,0085 T2 = 82 + 0,10 * věk	R = 0,098 p = 0,1408 T2 = 84 + 0,03 * věk	R = 0,484 p = 0,0012 T2 = 80 + 0,15 * věk	R = 0,161 p = 0,1681 T2 = 84 + 0,05 * věk	R <sup>2</sup> = 0,04 p = 0,344
pravý talamus	R = 0,341 p = 0,0001 T2 = 80 + 0,15 * věk	R = 0,157 p = 0,019 T2 = 83 + 0,05 * věk	R = 0,524 p = 0,0004 T2 = 79 + 0,17 * věk	R = 0,435 p = 0,001 T2 = 80 + 0,14 * věk	R <sup>2</sup> = 0,10 p = 0,04

p – statistická významnost, n – počet vyšetřených osob, RS – roztroušená skleróza, <sup>1</sup> – znaménko u korelačního koeficientu vždy vypovídá o typu kladné, resp. záporné vzájemné závislosti T2 relaxačních časů a věku, <sup>2</sup> – vyznačená statistická významnost vypovídá o téže statistické významnosti lineárního regresního koeficientu v polynomiální regresii T2 relaxačního času na věku, <sup>3</sup> – rovnice pro výpočet relaxačního času T2; čas T2 je v milisekundách, věk v rocích, <sup>4</sup> – statistická významnost rozdílů směrnic přímků závislosti T2 na věku mezi skupinou RS pacientů a kontrolami

obrazy (DWI) v transverzálních řezech. Dále sekvenci Multiecho GraSE k výpočtu relaxačního času s těmito parametry: TR 2 633 ms, TE 20 ms, flip angle (FA) 90st., FOV 230 × 183, tloušťka vrstvy (THK) 3,00/0 mm. Během každého vyšetření byly tedy hodnoceny následující parametry: 1. Objem hyperintenzních lézí (LL) 2. Stanovení relaxačního času ve vybraných strukturách centrální šedé hmoty.

Objem plak RS (LL) byl v MR stanoven automaticky s pomocí softwaru speciálně vytvořeného k tomuto účelu na našem pracovišti [17,18]. Pro měření objemu plak byla použita sekvence FLAIR s následujícími parametry: TR 11 000 ms, TE 140 ms, TI 2 600 ms, FA 90 st., FOV 256 × 256, THK 1,5/0 mm.

K relaxometrii jsou potřeba minimálně dvě echa, ze kterých se vypočítá T2 relaxační čas z rovnice  $Int = A \times \exp(-TE / t_2)$ , kdy Int je intenzita signálu. Tato formule je výsledkem řešení tzv. Blochových rovnic, kde A je konstanta úměrná koncentraci protonů v daném místě, TE je time

to echo nastavovaný pro použitou sekvenci a  $t_2$  je žádaný relaxační čas. Parametry: použili jsme 5 ech s TE odstupňovaným po 20 ms (20, 40, 60, 80, 100 s). Schéma sekvence je tedy následující: po 90° RF pulzu následuje v našem případě pět 180° pulzů. Po každém tomto pulzu se vytvoří echo, které je dále rozbito třemi gradientními pulzy na tři podecha. Z toho vyplývá, že na jeden 90° pulz bylo sebráno 25 řádků k prostoru. Při použití této sekvence je klesání signálu prakticky exponenciální, a je tedy vhodná k výpočtu T2 relaxačního času.

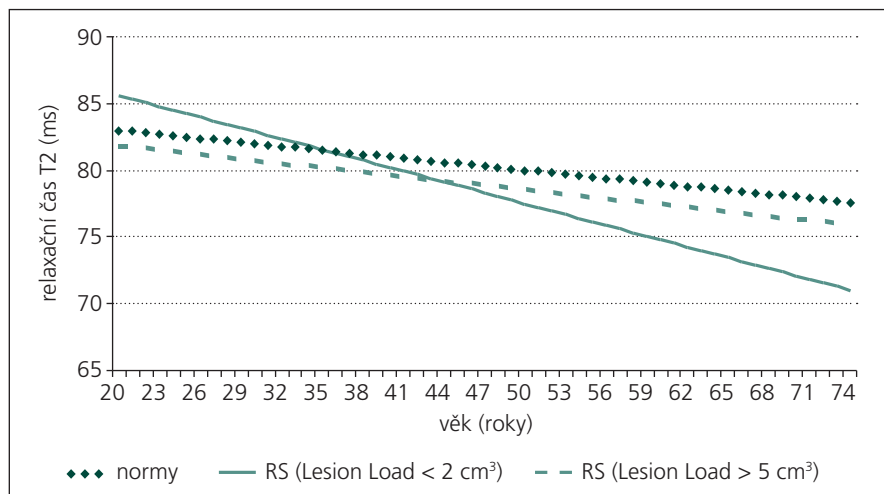
Řada studií in vitro [19,20] a in vivo [21–23] prokázala silnou korelaci mezi T2 relaxačním časem a koncentrací železa především v šedé hmotě, což bylo podpořeno histologickými studiemi mozku. Dle publikovaných údajů je T2 relaxační čas lineárně závislý na koncentraci železa ve tkáni [24,25]. Empirická rovnice byla odvozena z výpočtů závislosti koncentrace železa v bazálních gangliích na věku a závislosti T2 relaxačního času (T2) na věku.

Koncentrace železa (Fe) v (mg Fe/100 g tkáně) je dána rovnicí:  $(Fe) = 3,7/T2 - 35,8$ .

T2 jsme měřili ve vybraných strukturách centrální šedé hmoty oboustranně, a to v bazálních gangliích (caput nuclei caudati, putamen) a v talamu. Do centra těchto struktur jsme pro účely měření manuálně umístili měřící objem (ROI, region of interest). V tomto objemu potom program automaticky vypočítával T2. Důvodem, proč jsme zvolili právě tyto struktury, byla jejich dostatečná velikost, dobře definované hranice a potenciální důležitost jak pro kognitivní, tak motorické funkce mozku [26].

### Statistická analýza

Prostřednictvím korelačních matic (Pearson, Spearman) byla provedena analýza struktury závislosti mezi T2 relaxačními časy a věkem ve skupinách pacientů s RS a ve skupině kontrolní (pacienti i kontrolní skupina byli rozděleni dle pohlaví) a dále v podskupinách pacientů s RS rozdělených dle LL. Byly testovány rozdíly mezi jednot-



Graf 1. Porovnání T2 relaxačního času u norem, RS (LL < 2 cm<sup>3</sup>) a RS (LL > 5 cm<sup>3</sup>) (levé putamen).

Tab. 3. Hodnoty Pearsonových korelačních koeficientů (R) mezi T2 relaxačními časy a věkem u vyšetřených osob v šesti mozkových strukturách podle dvou krajních úrovní LL s vyznačenou hladinou významnosti (p).

Pearson R rozsah n	LL < 2 cm <sup>3</sup> 138	LL > 5 cm <sup>3</sup> 79	Skup. 1 vs 2 <sup>4</sup>
levé ncl. caudatus	R = -0,5001 p < 0,000012 T2 = 84 - 0,07 * věk <sup>3</sup>	R = -0,239 p = 0,003 T2 = 94 - 0,13 * věk	R <sup>2</sup> = 0,23 p = 0,065
pravé ncl. caudatus	R = -0,386 p < 0,00001 T2 = 95 - 0,16 * věk	R = -0,154 p = 0,019 T2 = 92 - 0,10 * věk	R <sup>2</sup> = 0,15 p = 0,055
levé putamen	R = -0,604 p < 0,00001 T2 = 91 - 0,27 * věk	R = -0,259 p = 0,009 T2 = 84 - 0,11 * věk	R <sup>2</sup> = 0,30 p < 0,001
pravé putamen	R = -0,462 p < 0,00001 T2 = 88 - 0,2 * věk	R = -0,159 p = 0,05 T2 = 84 - 0,08 * věk	R <sup>2</sup> = 0,17 p = 0,006
levý talamus	R = -0,079 p = 0,299 T2 = 86 - 0,04 * věk	R = 0,341 p = 0,007 T2 = 81 + 0,11 * věk	R <sup>2</sup> = 0,05 p = 0,004
pravý talamus	R = 0,036 p = 0,985 T2 = 85 + 0,01 * věk	R = 0,414 p = 0,0004 T2 = 79 - 0,15 * věk	R <sup>2</sup> = 0,10 p = 0,001

p – statistická významnost, N – počet vyšetřených osob, LL – lesion load, <sup>1</sup> – znaménko u korelačního koeficientu vypovídá o typu kladné, resp. záporné vzájemné závislosti T2 relaxačních časů a věku, <sup>2</sup> – vyznačená statistická významnost vypovídá o téže statistické významnosti lineárního regresního koeficientu v polynomiální regresí T2 relaxačního času na věku, <sup>3</sup> – v rovnici pro výpočet relaxačního času T2 je čas T2 v milisekundách a věk v rocích, <sup>4</sup> – statistická významnost rozdílů směrnic přímek závislosti T2 na věku mezi oběma skupinami skupinami; 1 (LL < 2 cm<sup>3</sup>), 2 (LL > 5 cm<sup>3</sup>)

livými skupinami (t-testy, Kruskal-Wallisův a párový Friedmannův test), porovnávají rozdíly směrnic přímek závislosti T2 na věku mezi jednotlivými skupinami a vypo-

čítávají příslušné p-hodnoty. Byl použit výpočet přes ANOVU. Ve všech použitých testech byla hodnota p < 0,05 považována za statisticky významnou. Výpočty

byly provedeny prostřednictvím statistického programu SPSS verze 16.0, grafická zobrazení v SW Statistica 8.0.

### Výsledky

1. Ověřili jsme, že v bazálních gangliích se T2 relaxační čas zkracuje s věkem během normálního stárnutí. To se potvrdilo na hladině statistické významnosti u putamen bez ohledu na pohlaví a mozkovou hemisféru (pro muže vlevo p = 0,010; R = -0,395; vpravo p = 0,034, R = -0,328; pro ženy vlevo p = 0,008; R = -0,305; vpravo p = 0,032; R = -0,248) a u ncl. caudatus pro zdravé ženy oboustranně (vlevo p = 0,023; R = -0,262; vpravo p = 0,010; R = -0,297); pro zdravé muže byly výsledky statisticky nevýznamné, pravděpodobně z důvodu nižšího výběrového rozsahu podsouboru mužů. Pro oblast talamu se T2 relaxační časy s věkem naopak prodlužovaly.

2. Dále jsme zjistili, že rozdíly v T2 relaxačním čase mezi pohlavím jsou ve skupinách pacientů s RS i zdravých jednotlivců statisticky nevýznamné. Obdobně nevýznamné jsme shledali i rozdíly mezi RS a kontrolami na úrovni jednotlivých pohlaví. (Jedinou výjimku tvoří rozdíl mezi RS a kontrolami pro levé ncl. caudatus u žen [F(1,298) = 5,160; p = 0,024], což může být ale rovněž důsledkem významnějšího zastoupení žen v celém souboru.)

3. Prokázali jsme, že se u pacientů s RS ukládá železo v centrální šedé hmotě (v bazálních gangliích) více než u kontrol. Z důvodu závislosti T2 relaxačního času na věku během normálního stárnutí jsme při srovnávání pacientů s RS a kontrol museli zaručit stejné věkové rozložení. Předpoklad zvýšeného ukládání železa proti kontrolní skupině se na hladině statistické významnosti potvrdil v levém ncl. caudatus (p = 0,004; R<sup>2</sup> = 0,17), v pravém ncl. caudatus (p = 0,033; R<sup>2</sup> = 0,11), v levém putamen (p = 0,006; R<sup>2</sup> = 0,22). U talamů se T2 relaxační časy v závislosti na věku u RS pacientů stejně jako u zdravých kontrol naopak prodlužovaly (tab. 2).

4. Dalším úkolem bylo zjistit vztah mezi T2 relaxačním časem a LL, další kvantitativně měřenou hodnotou u skupiny 287 pacientů s RS (podskupina s nízkým LL < 2 cm<sup>3</sup> a podskupina s velkým LL > 5 cm<sup>3</sup>), ostatní (LL: 2 cm<sup>3</sup> ≤ LL ≤ 5 cm<sup>3</sup>) byli ze srovnávání vyloučeni. Porovnávali jsme rozdíly směrnic přímek závislosti T2 na věku ve vybraných strukturách v obou defino-

vaných podskupinách, pacienti byli věkově spárováni. Zjistili jsme statisticky významnou rozdílnost hodnot u putamen oboustranně, vlevo ( $p < 0,001$ ;  $R^2 = 0,30$ ) (graf 1), vpravo ( $p = 0,006$ ;  $R^2 = 0,17$ ), hraniční statistická významnost byla u ncl. caudatus vpravo ( $p = 0,054$ ;  $R^2 = 0,15$ ); (tab. 3).

5. Na úrovni bilaterálních dvojic měřených struktur byla testována stranová asymetrie. Statisticky významné rozdíly, které svědčily pro predilekční zkracování T2 relaxačního času vlevo, byly zjištěny mezi dvojicí ncl. caudatus u kontrol [pro muže  $T(41) = 3,071$ ;  $p = 0,001$ ; pro ženy  $T(74) = 4,994$ ;  $p < 0,001$ ] a u pacientů s RS u žen [pro muže  $T(121) = 0,958$ ;  $p = 0,340$ ; pro dvě ženy  $T(224) = 3,071$ ;  $p < 0,002$ ]. Dále pro ncl. caudatus ve skupině  $LL < 2 \text{ cm}^3$  [ $T(139) = 2,954$ ;  $p = 0,004$ ] a u dvojice putamen (vlevo vs vpravo) ve skupině  $LL > 5 \text{ cm}^3$  [ $T(79) = -2,879$ ;  $p = 0,005$ ]. Tyto výsledky byly ověřeny ještě neparametrickými testy (Friedmann, Wilcoxon), protože hodnoty velikosti T2 pro talamus nebyly shledány jako normálně rozdělené.

#### Ověření přesnosti metody

Chyba stanovení T2 relaxačního času je zatím poměrně vysoká. Na souboru 33 pacientů, kteří měli tři vyšetření krátce po sobě během jednoho roku, a 120 pacientů, u kterých proběhla dvě měření během jednoho roku, jsme ověřili, že chyba měření je okolo 3 %. Měření T2 je třeba dále propracovat; tuto chybu by bylo potřeba snížit alespoň na 0,5 %, aby se dalo vyjadřovat k jednotlivým pacientům.

#### Diskuze

V poslední době výrazně vzrostl zájem o odkrytí úlohy a významu železa v patofyziologii RS. Podíl železa v mozku se zvyšuje s věkem v souvislosti s fyziologickým stárnutím mozku [27], což potvrdily i naše výsledky. Zvýšená depozita železa v mozku byla popsána u mnoha neurodegenerativních chorob: u Alzheimerovy choroby [28–31], u Parkinsonovy choroby [32–35] a dalších, jako Huntingtonova chorea [36,37], Hallervorden-Spatzova nemoc [38]. Důkazy o přítomnosti železa u těchto chorob vedly k úvahám o možném podílu železa i u jiných onemocnění, která by mohla zahrnovat oxidační stres, např. epilepsie [39]. Některé práce v po-

slední době poukazují na zvýšenou akumulaci železa také u RS [40,41], což pravděpodobně souvisí s neurodegenerativní komponentou nemoci, která v tradičním pojetí byla především autoimunitně zánětlivá. Předpokládá se, že u pacientů s RS jsou korelátorem depozit železa T2 hypointenzity v šedé hmotě. Četné studie prokázaly spojení mezi T2 hypointenzitami, poškozením šedé hmoty a klinickým stavem pacientů. T2 hypointenzity byly v mnohem těsnějším vztahu s tíží klinických projevů než konvenčně měřené léze [6,16,42–44].

Za předpokladu, že za zkracování T2 relaxačního času jsou zodpovědná depozita železa, prověřila naše měření metodou MR relaxometrie hypotézu a podala kvantitativní důkaz, že u pacientů s RS dochází v bazálních gangliích (ncl. caudatus, putamen) k většímu ukládání železa než u zdravých kontrol. Železo jsme detekovali v normálně vyhlížející tkáni, tedy ještě před vznikem na MR viditelných T2 hypointenzit. Ukládání železa se nepotvrdilo v případech obou talamů, zde se T2 relaxační časy s věkem naopak prodlužovaly, a to u zdravých kontrol i u pacientů s RS. Talamus se svým složením liší od bazálních ganglií [45], obsahuje více myelinu či může obsahovat drobné kapičky vody (likvoru). Dle našich pozorování se u pacientů s RS v talamu, na rozdíl od bazálních ganglií, poměrně často vyskytují T2 hyperintenzní ložiska, jejichž podkladem může být edém, demyelinizace či zánět, které výrazně ovlivňují hodnotu T2 relaxačního času.

Dále je zajímavá levostranná predilekce pro ukládání železa. Statisticky významné rozdíly, které svědčily pro predilekční zkracování T2 relaxačního času vlevo, byly zjištěny mezi dvojicí ncl. caudatus u kontrol pro muže ( $p = 0,001$ ), pro ženy ( $p < 0,001$ ) a u pacientů s RS u žen ( $p < 0,002$ ). Předpokládáme, že by to mohlo souviset s dominancí levé hemisféry, která je funkčně více zatížena, což dokládají i naše zkušenosti s výsledky funkční MR, a tedy i její potřeba oxygeneace je větší.

Korelace LL s měřeními T2 relaxačními časy prokázala, že u tzv. nízkoobjemových (low LL) RS, u nichž je objem na MR viditelných T2, resp. FLAIR hyperintenzních ložisek malý ( $LL < 2 \text{ cm}^3$ ), je klesání relaxačního času významnější než u vysokoobjemových (high LL) RS, kde objem na MR viditelných ložisek je velký

( $LL > 5 \text{ cm}^3$ ). Statisticky významná rozdílnost hodnot T2 relaxačních časů mezi oběma podskupinami byla na úrovni putamen oboustranně, vlevo ( $p < 0,001$ ), vpravo ( $p = 0,006$ ), hraniční statistická významnost byla u ncl. caudatus vpravo ( $p = 0,054$ ). Pokud vycházíme z předpokladu, že nadměrné ukládání železa v ncl. caudatus a putamen reprezentuje neurodegenerativní složku onemocnění RS [6,16,41–44], vyplývá z našich výsledků, že nedá-li se klinický stav, to znamená stejná manifestace choroby, vysvětlit MR viditelnými zánětlivými plaky, snad by se dala vysvětlit právě neurodegenerativními změnami, jejímž měřitelným výsledkem je mimo rozvoj atrofie i zkracování T2. Tento výsledek podporuje naši práci o stratifikaci pacientů dle MR kritérií – LL a brain parenchymal fraction (BPF), na ty s převážně zánětlivou složkou a na ty převážně degenerativní [46], a navazuje na ni. Je dalším důkazem, že RS je multifaktoriální a komplexní patologický proces a že neurodegenerativní změny mohou hrát u některých pacientů v etiologii onemocnění významnou roli. Vztah T2 a míry atrofie a vztah T2 a klinického stavu bude předmětem dalšího zkoumání.

Je možné, že do skupiny převážně neurodegenerativní budou patřit ti pacienti, kteří dostatečně neodpovídají na konvenční, především protizánětlivé zaměřenou terapii. Všechna tato snažení postihnout neurodegenerativní složku RS by nakonec mohla vést ke stanovení léčebné strategie u převážně neurodegenerativních pacientů, u kterých by se prokázala zvýšená akumulace železa. Pokud předpokládáme abnormální depozita železa jako podklad zkrácení T2 relaxačního času a T2 hypointenzit v šedé hmotě a pokud připustíme teorii, že železo podporuje vznik volných radikálů, je mediátorem neurotoxicity a přímo se podílí na patofyziologii RS, pak by se otevřela zcela nová možnost terapeutického ovlivnění RS. V současné době je u neurodegenerativních chorob sledována terapie cheláty, které vážou volné železo či antioxidanty, což se již zkoušelo ve studiích na zvířatech [39,47,48]. Je teoreticky možné, že by se v budoucnu tato terapie mohla aplikovat u části nemocných s RS.

#### Literatura

1. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338(5): 278–285.

2. Havrdová E. Roztroušená skleróza. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104(2):121–132.
3. Seidl Z, Obenberger J, Daneš J, Viták T, Krásenský J, Belšán T. Využití magnetizačního transferu při zobrazování magnetickou rezonancí v CNS. *Cesk Radiol* 1997; 51(4): 223–226.
4. Vaněčková M, Seidl Z. Roztroušená skleróza mozkomíšni a magnetická rezonance: současnost a nové trendy. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104(6): 664–672.
5. Bakshi R, Shaikh ZA, Janardhan V. MRI T2 shortening (“black T2”) in multiple sclerosis: frequency, location, and clinical correlation. *Neuroreport* 2000; 11(1): 15–21.
6. Bakshi R, Dmochowski J, Shaikh ZA, Jacobs L. Gray matter T2 hypointensity is related to plaques and atrophy in the brains of multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* 2001; 185(1): 19–26.
7. Bermel RA, Puli SR, Rudick RA, Weinstock-Guttman B, Fisher E, Munschauer FE jr et al. Prediction of longitudinal brain atrophy in multiple sclerosis by gray matter magnetic resonance imaging T2 hypointensity. *Arch Neurol* 2005; 62(9):1371–1376.
8. Drayer BP, Burger P, Hurwitz B, Dawson B, Cain J, Leong J et al. Magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: decreased signal in thalamus and putamen. *Ann Neurol* 1987; 22(4): 546–550.
9. Schenck JF, Zimmerman EA. High-field magnetic resonance imaging of brain iron: birth of a biomarker? *MNR Biomed* 2004; 17(7): 433–445.
10. Gutteridge JM. Iron and oxygen radicals in brain. *Ann Neurol* 1992; 32 (Suppl): S16–S21.
11. Curtis AR, Fey C, Morris CM, Bindoff LA, Ince PG, Chinnery PF et al. Mutation in the gene encoding ferritin light polypeptide causes dominant adult-onset basal ganglia disease. *Nat Genet* 2001; 28(4): 350–354.
12. Pujol J, Junqué C, Vendrell P, Grau JM, Martí-Vilà JL, Olivé C et al. Biological significance of iron-related magnetic resonance imaging changes in the brain. *Arch Neurol* 1992; 49(7): 711–717.
13. Thompson KJ, Shoham S, Connor JR. Iron and neurodegenerative disorders. *Brain Res Bull* 2001; 55(2): 155–164.
14. Bermel RA, Innus MD, Tjoa CV, Bakshi R. Selective caudate atrophy in multiple sclerosis: a 3D MRI parcellation study. *Neuroreport* 2003; 14(3): 335–339.
15. Cifelli A, Arridge M, Jeppard P, Esiri MM, Palace J, Matthews PM. Thalamic neurodegeneration in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2002; 52(5): 650–653.
16. Neema M, Stankiewicz J, Arora A, Dandamudi VS, Batt CE, Zachary D et al. T1- and T2-based MRI measures of diffuse gray matter and white matter damage in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2007; 17 (Suppl 1): S16–S21.
17. Vaněčková M, Seidl Z, Krásenský J, Obenberger J, Havrdová E, Viták T, Daneš J. Nové trendy v zobrazování magnetickou rezonancí u roztroušené sklerózy mozkomíšni. *Technika MR volumetrie vyvinutá a prováděná našim pracovištěm. Cesk Radiol* 2002; 56(6): 327–330.
18. Vaněčková M, Seidl Z, Krásenský J, Obenberger J, Havrdová E, Viták T et al. Sledování objemu ložisek u roztroušené sklerózy mozkomíšni magnetickou rezonancí (MRI study of lesion load in multiple sclerosis). *Cesk Slov Neurol N* 2002; 65/98(3): 175–179.
19. Chen JC, Hardy PA, Clauberg M, Josuu JG, Parravano J, Deck JH et al. T2 values in the human brain: comparison with quantitative assays of iron and ferritin. *Radiology* 1989; 173: 521–526.
20. Vymazal J, Brooks RA, Baumgarner C, Tran V, Katz D, Bulte JW et al. The relation between brain iron and NMR relaxation times: an in vitro study. *Magn Reson Med* 1996; 35: 56–61.
21. Gotz ME, Double K, Gerlach M, Youdim MB, Riederer P. The relevance of iron in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1012: 193–208.
22. Metafratzi Z, Argyropoulou MI, Kiortsis DN, Tsampoulas C, Chaliassos N, Efremidis SC. T(2) relaxation rate of basal ganglia and cortex in patients with thalassaemia major. *Br J Radiol* 2001; 74:407–410.
23. Vymazal J, Righini A, Brooks RA, Canesi M, Mariani C, Leopardi M et al. T1 and T2 in the brain of healthy subjects, patients with Parkinson's disease, and patients with multiple system atrophy: relation to iron content. *Radiology* 1999; 211: 489–495.
24. Hallgren B, Sourander P. The effect of age on the non-haem iron in the human brain. *J Neurochem* 1958; 3: 41–51.
25. Schenker C, Meier D, Wichmann W, Boesiger P, Valavanis A. Age distribution and iron dependency of the T2 relaxation time in the globus pallidus and putamen. *Neuroradiology* 1993; 35(2): 119–124.
26. Castaigne P, Lhermitte F, Buge A, Escourroule R, Haur JJ, Lyon-Caen O. Paramedian thalamic and mid-brain infarct: clinical and neuropathological study. *Ann Neurol* 1981; 10: 127–148.
27. Bartzokis G, Tishler TA, Lu PH, Villablanca P, Altshuler LL, Carter M et al. Brain ferritin iron may influence age- and gender related risk of neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 2007; 28(3): 414–423.
28. Connor CR, Snyder BS, Beard JL, Fine RE, Mufson EJ. Regional distribution of iron and iron-regulatory proteins in the brain in aging and Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 1992;31:327–335.
29. Honda K, Casadesus G, Petersen RB, Perry G, Smith MA. Oxidative stress and redox-active iron in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1012: 179–182.
30. Sayre LM, Zelasko DA, Harris PL, Perry G, Salomon RG, Smith RA. 4-hydroxynonenal-derived advanced lipid peroxidation products are increased in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1997; 68: 2092–2097.
31. Smith MA, Perry G. Free radical damage, iron, and Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1995; 134(Suppl): S92–94.
32. Berg D, Hochstrasser H. Iron metabolism in Parkinsonian syndromes. *Mov Disord* 2006; 21: 1299–1310.
33. Hirsch EC, Faucheux BA. Iron metabolism and Parkinson's disease. *Mov Disord* 1998; 13 (Suppl 1): 39–45.
34. Sofic E, Paulus W, Jellinger K, Riederer P, Youdim MB. Selective increase of iron in substantia nigra zona compacta of Parkinsonian brains. *J Neurochem* 1991; 56(3): 978–982.
35. Jenner P, Olanow CW. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* 1996; 47 (Suppl 3): S161–S170.
36. Bartzokis G, Cummings J, Perlman S, Hance DB, Mintz J. Increased basal ganglia iron levels in Huntington disease. *Arch Neurol* 1999; 56(5): 569–574.
37. Vymazal J, Klempir J, Jech R, Zidovská J, Syka M, Růžicka E et al. MR relaxometry in Huntington's disease: correlation between imaging, genetic and clinical parameters. *J Neurol Sci* 2007; 263(1–2): 20–25.
38. Hájek M, Adamovicová M, Herynek V, Skoch A, Jirů F, Krepelová A et al. MR relaxometry and 1H MR spectroscopy for the determination of iron and metabolite concentrations in PKAN patients. *Eur Radiol* 2005; 15(5): 1060–1068.
39. Kabuto H, Yokoi I, Ogawa N. Melatonin inhibits iron-induced epileptic discharges in rats suppressing peroxidation. *Epilepsia* 1998; 39(3): 237–243.
40. Craelius W, Migdal WM, Lussenhop CP, Sugar A, Mihalakis I. Iron deposits surrounding multiple sclerosis plaques. *Arch Pathol Lab Med* 1982; 106(8): 397–399.
41. Drayer B, Burger P, Hurwitz B, Dawson D, Cain J. Reduced signal intensity on MR images of thalamus and putamen in multiple sclerosis: increased iron content? *AJR Am J Roentgenol* 1987; 149(2): 357–363.
42. Bakshi R, Benedict RH, Bermel RA, Caruthers SD, Puli SR, Tjoa CW et al. T2 hypointensity in the deep gray matter of patients with multiple sclerosis: a quantitative magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol* 2002; 59(1): 62–68.
43. Brass SD, Benedict RH, Weinstock-Guttman B, Munschauer F, Bakshi R. Cognitive impairment is associated with subcortical magnetic resonance imaging gray matter T2 hypointensity in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2006; 12(4): 437–444.
44. Tjoa CW, Benedict RH, Weinstock-Guttman B, Fabiano AJ, Bakshi R. MRI T2 hypointensity of the dentate nucleus is related to ambulatory impairment in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2005; 234(1–2): 17–24.
45. Madarász M, Tömböl T, Hajdu F, Somogyi G. Quantitative histological study on the thalamic ventro-basal complex of the cat. *Anat Embryol* 1983; 166(2): 291–306.
46. Vaneckova M, Seidl Z, Krasensky J, Havrdova E, Horakova D, Dolezal O et al. Patients' stratification and correlation of brain MRI parameters to disability progression in multiple sclerosis. *Eur Neurol* 2009; 61(5): 278–284.
47. Bownern N, Ramshaw I, Clark I, Doherty PC. Inhibition of autoimmune neuropathological process by treatment with an iron-chelating agent. *J Exp Med* 1984; 160(5): 1532–1543.
48. Willenborg DO, Bownern N, Danta G, Doherty PC. Inhibition of allergic encephalomyelitis by the iron-chelating agent desferrioxamine: differential effect depending on type sensitizing encephalitogen. *J Neuroimmunol* 1988; 17(2): 127–135.

[www.csnn.eu](http://www.csnn.eu)