



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ „ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ – ВАРНА
КАТЕДРА „ОБРАЗНА ДИАГНОСТИКА И ЛЪЧЕЛЕЧЕНИЕ“

Д-Р ЕМИЛИАН БОЖИДАРОВ КАЛЧЕВ

ARTERIAL SPIN LABELING ЗА ОЦЕНКА НА МОЗЪЧНАТА ПЕРФУЗИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С МИКРОАНГИОПАТИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА
ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР“

НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ: МЕДИЦИНСКА РАДИОЛОГИЯ И РЕНТГЕНОЛОГИЯ
(ВКЛ. ИЗПОЛЗВАНЕ НА РАДИОАКТИВНИ ИЗОТОПИ)

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:

ДОЦ. Д-Р РАДОСЛАВ Й. ГЕОРГИЕВ, Д.М.

НАУЧНО ЖУРИ:

ДОЦ. Д-Р НИКОЛЕТА И. ТРАЙКОВА-ДЖАМБАЗОВА, Д.М.

ДОЦ. Д-Р ДОРА К. ЗЛАТАРЕВА, Д.М.

ПРОФ. Д-Р МИЛАН П. ТОТЕВ, Д.М.

ПРОФ. Д-Р БОЯН Д. БАЛЕВ, Д.М.

ДОЦ. Д-Р РАДОСЛАВ Й. ГЕОРГИЕВ, Д.М.

ВАРНА, 2019

Дисертантът работи като асистент в Катедра „Образна диагностика и лъчелечение“, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на Катедрен съвет на Катедрата по „Образна диагностика и лъчелечение“ при Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

Дисертационният труд е представен на 114 страници, съдържа 48 фигури, 23 таблици, 164 литературни източника на латиница.

Всички магнитнорезонансни изображения в дисертационния труд са добити в Клиниката по образна диагностика, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна, в периода 2016-2019г.

СЪДЪРЖАНИЕ

ВЪВЕДЕНИЕ	4
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	9
ЦЕЛ	9
ЗАДАЧИ	9
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	10
Клиничен материал	10
АПАРАТУРА.....	12
ПРОТОКОЛ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ	12
ИЗПОЛЗВАНИ МЕТОДИ ЗА ОЦЕНКА НА МОЗЪЧНАТА МИКРОАНГИОПАТИЯ	13
ARTERIAL SPIN LABELING ЗА ОЦЕНКА НА МОЗЪЧНАТА ПЕРФУЗИЯ	20
СТАТИСТИЧЕСКИ АНАЛИЗ.....	31
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	34
МР БЕЛЕЗИ НА МИКРОАНГИОПАТИЯ (И ТЯХНАТА ВЗАИМНА КОРЕЛАЦИЯ).....	35
ARTERIAL SPIN LABELING.....	41
ИЗВОДИ	62
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	63
ОЧАКВАНИ ПРИНОСИ.....	64
БИБЛИОГРАФИЯ	65

СПИСЪК НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ

КИРИЛИЦА:

БМВ – бяло мозъчно вещество
ДПВП – дилатирани периваскуларни пространства
ЗМА – задномозъчна артерия
КТ – компютърна томография
КТП – компютър-томографска перфузия
МР – магнитнорезонансна
МРП – магнитнорезонансна перфузия
МРТ – магнитнорезонансна томография
МХ - микрохеморагии
ПМА – предномозъчна артерия
СМА – средномозъчна артерия
ХБМ – хиперинтензитети в бялата материя / хиперинтенсни лезии в бялата материя

ЛАТИНИЦА:

ADC – apparent diffusion coefficient
ASL – arterial spin labeling
CASL – continuous arterial spin labeling
CBF – cerebral blood flow
CBV – cerebral blood volume
DCE – dynamic contrast enhanced (perfusion)
DWI – diffusion weighted imaging
DSC – dynamic susceptibility contrast (perfusion)
FLAIR - fluid attenuation inversion recovery
fMRI – functional magnetic resonance imaging
MRI – magnetic resonance imaging
MTT – mean transit time
PASL – pulsed arterial spin labeling
PCASL – pseudo-continuous arterial spin labeling
PLD – post-labeling delay
SAR – specific absorption rate
SWI – susceptibility weighted imaging
TI – inversion time
TIRM - Turbo inversion recovery magnitude
VS-ASL - velocity-selective arterial spin labeling

ВЪВЕДЕНИЕ

Мозъчната микроангиопатия е заболяване, характеризиращо се с увреда на малките мозъчни съдове (артериоли, капиляри, венули) и засягащо много голяма част от населението. Клиничните проявления могат да варират, като тази патология е честа причина за деменция, двигателни, когнитивни, психиатрични нарушения. Въпреки че клиничното и социалното значение на проблема са огромни, все още патофизиологичните механизми при този процес са ненапълно разбрани. В последните години се добиват фундаментални познания за микроангиопатията, които утвърждават същността ѝ на общомозъчен и динамичен процес.

Съществуват вече утвърдени – някои от десетилетия, други от няколко години – магнитнорезонансни маркери на мозъчната микроангиопатия. Това са обаче морфологични белези на заболяването, които въпреки огромния технически напредък по отношение на визуализирането им, вероятно представляват само „върха на айсберга“ при тази патология. Това определя и нуждата образната диагностика да премине на функционално ниво. А фундаментална функция на мозъка е неговата перфузия.

Мозъчният паренхим е най-чувствителната на перфузионни нарушения тъкан в човешкото тяло. Възможността да се изследва мозъчната перфузия с образни методи е забележителна крачка в неврологията и неврорентгенологията.

Този технически напредък продължава и с въвеждането на един от най-новите методи за оценка на перфузията – arterial spin labeling, който позволи да се достигне до най-интимното ѝ ниво – перфузирането на водните молекули.

Откриването на връзки между толкова фундаментален процес като глобалната мозъчна перфузия с общомозъчния процес на микроангиопатия биха имали потенциал да направят своя принос към по-доброто разбиране на един от най-социалнозначимите проблеми на съвременната неврология.

МОЗЪЧНА МИКРОАНГИОПАТИЯ

Терминът мозъчна микроангиопатия (болест на малките мозъчни съдове) обединява различни невроизобразителни и патоморфологични белези [1]. Едва в последните години се разкрива като проблем с огромна социална значимост – честа причина за сигнификантни когнитивния [2], психиатрични [3], двигателни [4] нарушения, като се смята че тя е причина за до 45% от деменциите [5].

Въпреки това патогенезата все още остава ненапълно изяснена.

Диагнозата мозъчна микроангиопатия (МАП) най-често се поставя на базата на клинични и магнитнорезонансни критерии. Калибърът на мозъчните артериоли, капиляри и венули ги прави невидими за всички методи на образна диагностика, вкл. конвенционална и магнитнорезонансна ангиография [6].

МАП вероятно се развива дълго време преди появата на първите клинични симптоми или позитивирането на видими лезии. В последните години се утвърждава мнението, че патофизиологичният механизъм се простира отвъд приетото схващане, че се касае за оклузии на малки мозъчни съдове с последваща исхемия.

Wardlaw и сътрудници [7] предлагат унифицираща хипотеза за патогенезата на мозъчната микроангиопатия, която към момента на публикуването си (май 2019) събира основна част от познанията по проблема, натрупани в последното десетилетие: Нарушаване на кръвно-мозъчната бариера води до повишаване на количеството интерстициална течност (едем). От своя страна това предизвиква увреда на артериоларните стени, като така се увеличава резистентността им и се ограничава възможността за вазодилатация (за това може да допринесе и наличието на съдови рискови фактори). В резултат е налице нарушено интерстициално „отмиване“ на отпадни продукти и намалена доставка на кислород и нутриенти в мозъчните тъкани.

Една от най-важните микроструктури в мозъка е т.нар. невро-глио-васкуларна единица. Тя представя общ функционален

елемент на взаимоотношенията между съдовите и мозъчните клетки, които регулират мозъчния кръвоток, обмена на течности и нутриенти, поддържат миелина, „отмиват“ отпадните продукти, поддържат хомеостазата в мозъчния интерстициум, необходима за нормалното клетъчно функциониране. Малките артериоли пенетрират мозъка и се разделят на капиляри, като тези малки съдове са заобиколени от периваскуларни пространства (продължения на изпълнените с цереброспинална течност цистерни и сулкуси). Кръвно-мозъчната бариера е изградена от съдовите ендотелни клетки, базалната мембрана, перицитите, крачетата на астроцитите. Последните свързват невроните с капилярите като обгръщат ендотела със своите крачета. При функционална необходимост астроцитите сигнализират на ендотела да повиши мозъчния кръвоток и съответно енергийните доставки [8, 9]. В крачетата им се намира важен протеин, регулиращ потока във водните канали – аквапорин-4, спомагащ за интерстициалната хомеостаза. При лезии в бялата материя в резултат на микроангиопатия, е установено изместване на молекулите аквапорин-4 към обратната страна на астроцитните крачета [9]. Олигодендроцитите също имат важна роля за функционирането на невро-глио-васкуларната единица – те образуват и възстановяват увредения миелин около аксоните, като също са отговорни и за тяхната трофика.

Нарушаването на кръвно-мозъчната бариера води до екстравазация на течности и плазмени елементи (напр. протеини), причиняващо интерстициален едем, с ограничаване на възможността на артериоларните стени за вазодилатация при необходимост от доставка на кислород и нутриенти. Друг плазмен елемент – фибриногенът – активира микроглията и привлича макрофаги, като така спомага развиването на възпаление [10]. Фибриногенът също възпрепятства узряването на олигодендроцитите от техните прекурсорни клетки. Друг ефект на фибриногена е свързването му с амилоид- β и формирането на плаки. При пациенти с болест на Алцхаймер се откриват повишен брой на периваскуларни фибринови плаки,

което е потенциално доказателство за обща патогенеза между мозъчната микроангиопатия и болестта на Алцхаймер [10].

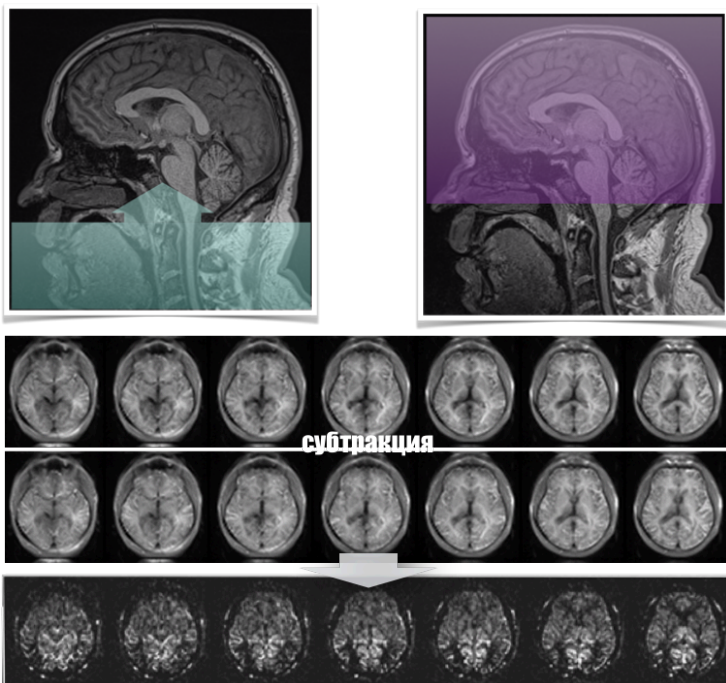
Основните магнитнорезонансни образни характеристики, които в последните години се утвърдиха като маркер за мозъчна микроангиопатия са:

1. Хиперинтенсни лезии в бялата мозъчна материя (левкоарайоза)
2. Лакуни
3. Дилатирани периваскуларни пространства
4. Микрохеморагии

ПРИНЦИПИ НА ASL

ASL е съвременна техника за изследване на мозъчния CBF [11]. Останалите образни методи за изследване на мозъчната перфузия като ПЕТ, СПЕКТ, КТП, DSC, DCE се осланят на прилагането на екзогенна контрастна материя. За разлика от тях, ASL формира перфузионния образ чрез извършване на магнитно „маркиране“ на водни молекули в артериалната кръв, които се превръщат в ендогенен контраст. Фактът, че техниката се осланя на такъв физичен принцип ѝ придава предимства спрямо останалите методи от много голямо значение – изследването е неинвазивно и не налага инжектирането на венозен контраст, който носи множество рискове, вкл. нефротоксичност [12, 13]. Това прави метода предпочитан (а понякога и единствен избор) при деца, както и при хора с нарушена бъбречна функция. Освен това е и лесно повторяем, без конкретно ограничение в броя изследванията и интервала между тях. Маркирането се извършва в проксималния съседен участък на изследваната зона – при мозъчна ASL това е на нивото на екстракраниалните артерии. В този обем на инверсия, всяка водна молекула се маркира, но само тези, които се намират в артериите ще се озоват интракраниално след много кратък интервал от време. Фактът, че контрастът при ASL е всъщност вода, придава още едно голямо предимство на метода – той не разчита на нарушаване на кръвно-мозъчната

бариера за да перфузира в мозъчния паренхим. Необходимо е определено закъснение след маркирането за да могат водните молекули да перфузират в мозъчната тъкан и да създадат МР сигнала, който по своята същност е CBF карта. Необходимото закъснение след маркиране зависи от различни фактори, по-важни от които са силата на магнитното поле, скоростта на кръвотока при съответния пациент и типа на ASL техниката. CBF картата се генерира като се извърши субтракция на образите преди и след маркиране.



Фигура 1 – Принцип на ASL – маркиране (а), аквизиция (b) и субтракция на контролния от „маркирания“ образ, формиращо CBF карта.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

ЦЕЛ

Да се изследват промените в мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, при пациенти с мозъчна микроангиопатия.

ЗАДАЧИ

1. Да се потвърди наличието на корелационна зависимост между отделните магнитнорезонансни белези на мозъчна микроангиопатия.
2. Да се предложи възпроизводима скала за качествена оценка на мозъчната перфузия при arterial spin labeling.
3. Да бъде изследвано наличието на разлики в мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, при пациенти с микроангиопатия и такива с нормален МР образ на главния мозък.
4. Да бъде изследвано наличието и степента на корелационна зависимост между промените в мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, и отделните магнитнорезонансни белези на мозъчна микроангиопатия.
5. Да бъде изследвано наличието и степента на корелационна зависимост между промените в мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, и общия товар от отделни белези на мозъчна микроангиопатия.
6. Да бъде изследвано наличието и степента на корелационна зависимост между промените в мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, и полът и възрастта на пациентите.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

КЛИНИЧЕН МАТЕРИАЛ

Всички пациенти са изследвани в Клиниката по образна диагностика на УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна в периода 2016-2019г.

Общ брой изследвани пациенти: 156.

Брой изследвани пациенти с МР данни за микроангиопатия: 106.

Брой изследвани пациенти с нормален МР образ (при стандартните секвенции): 50.

ПАЦИЕНТИ С МР ДАННИ ЗА МИКРОАНГИОПАТИЯ

Брой: 106.

ВКЛЮЧВАЩИ КРИТЕРИИ:

- Възраст: над 45г.

Предполага се, че микроангиопатията се наблюдава по-често в по-горни възрастови групи, поради което единствено такива са включени в проучването. Дефинициите на отделните възрастови групи са относителни и се различават в зависимост от източниците, като най-често зрялата възраст се разделя на: ранна зрялост (20-44г.), средна възраст (45-64г), напреднала възраст (над 65г). Смятаме, че за коректното интерпретиране на получените резултати, пациентите трябва да бъдат в средна или по-голяма възраст.

Обособени са 4 възрастови групи на изследваните пациенти:

Група 1: от 45 до 54-годишна възраст;

Група 2: от 55 до 64-годишна възраст;

Група 3: от 65 до 74-годишна възраст;

Група 4: над 75-годишна възраст.

- МР данни за промени, асоциирани с микроангиопатия, изпълняващи поне един от следните критерии:
 - T2 хиперинтенсни лезии в бялото мозъчно вещество – поне 1-ва степен от модифицираната скала на Fazekas;
 - Лакуни - поне 1;
 - Микрохеморагии - поне 1 дълбоко разположена;
 - Дилатирани периваскуларни пространства - поне 2-ра степен по долуописаната скала – над 10 ДПВП на ниво базални ядра от по-засегната страна (1-ва степен не се приема за патологична находка).

ИЗКЛЮЧВАЩИ КРИТЕРИИ:

- Сигнификантна коморбидност, потенциално повлияваща мозъчния ASL перфузионния образ:
 - Сигнификантен по размер кортикален инфаркт;
 - Лъчетерапия;
 - Химиотерапия;
 - Сигнификантен по-размер или разположение мозъчен тумор.

ПАЦИЕНТИ С НОРМАЛЕН МР ОБРАЗ (ПРИ СТАНДАРТНИТЕ СЕКВЕНЦИИ)

В изследването на ASL перфузията са включени и пациенти с нормален МР образ при стандартните секвенции на изследване, вкл. без МР данни за микроангиопатия (n=50).

- Включващи критерии: възраст над 45г.
- Изключващи критерии: описаните за таргетната група (пациенти с МР данни за микроангиопатия) изключващи критерии, плюс описаните за таргетната група включващи критерии за микроангиопатия.

АПАРАТУРА

Всички изследвания са извършени на апарат за магнитнорезонансна томография **Siemens Magnetom Verio 3T** със следните характеристики:

При всички изследвани пациенти е използвана бобина “Head/Neck 64”, позволяваща много високо съотношение сигнал/шум и получаване на високорезолуционни образи при оптимално поле на изследване.

ПРОТОКОЛ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ

Протоколът на изследване включва следните секвенции:

Sagittal 3D T1WI Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo (MPRAGE)

Axial T2W Turbo Inversion Recovery Measurement (TIRM)

Coronal T2W Turbo Inversion Recovery Measurement (TIRM)

Axial T2WI

Axial 3D Susceptibility Weighted Imaging (SWI)

Axial Diffusion Weighted Imaging (DWI)

Axial Apparent Diffusion Coefficient (ADC)

Axial 3D Arterial Spin Labeling

ИЗПОЛЗВАНИ МЕТОДИ ЗА ОЦЕНКА НА МОЗЪЧНАТА МИКРОАНГИОПАТИЯ

FAZEKAS СКАЛА ЗА ОЦЕНКА НА ПРОМЕНЕТЕ В БЯЛАТА МОЗЪЧНА МАТЕРИЯ

За оценка на степента на промените в бялата мозъчна материя в дисертационния труд е избрана Fazekas скалата [14]. Целта на метода е степенуване на промените, характеризиращи се с T2 хиперинтензитет в бялата мозъчна материя, чрез визуална оценка на броя и разпространението им.

Основно предимство на Fazekas скалата е широкото ѝ разпространение – това е най-често използваният метод за визуална оценка на промените в бялата мозъчна материя, както в ежедневната практика, така и в научни трудове.

В оригиналния си вариант скалата оценява отделно промените в перивентрикуларната и в дълбоката бяла материя, със степенуване от 0 до 3 и за двете локализации. Въпреки това, както в ежедневната клинична практика, така и в по-голямата част от публикуваните научни трудове, използващи тази скала, степенуването е модифицирано и е генерализирано в обща вариабилност от 0 до 3. Поради това, за целите на дисертационния труд е избран да се използва по-практичният „модифициран“ вариант на Fazekas скалата.

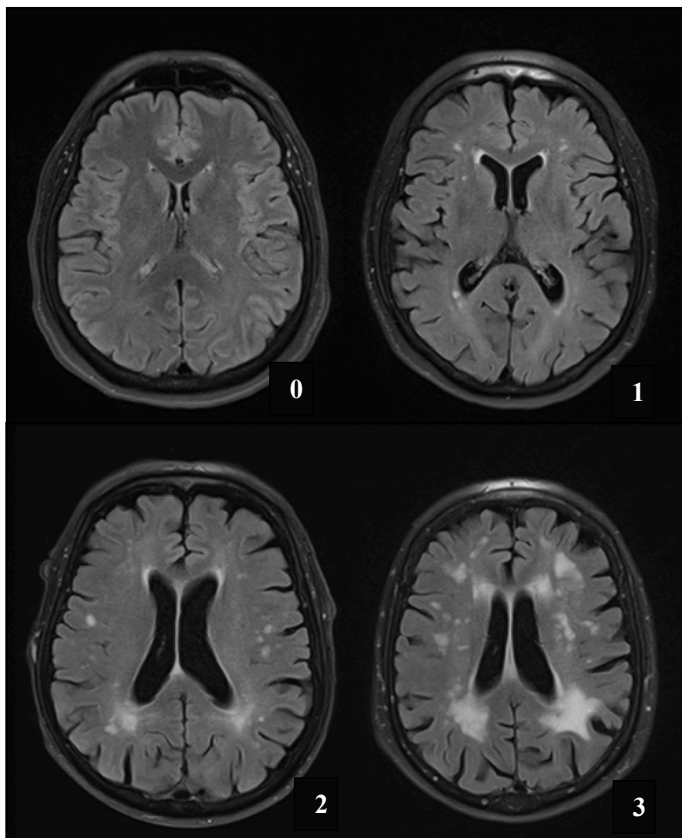
За интерпретация се използват Turbo Inversion Recovery Measurement (TIRM) образи със супресия на сигнала от течностите. Подобно на Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR), тази секвенция е оптимална за изобразяване на промените, с отличен контраст между тях и околната бяла материя. Промените при всички пациенти са степенувани по следния начин:

Степен 0: Липсват промени;

Степен 1: Пунктиформени хиперинтенсни фокуси;

Степен 2: Множествени хиперинтенсни фокуси, с начално конfluиране в отделни зони;

Степен 3: Значителни по площ конfluиращи хиперинтенсни зони.



Фигура 2 – Модифицирана Fazekas скала за оценка на хиперинтенсните лезии в бялата мозъчна материя по степени от 0 до 3.

ЛАКУНИ

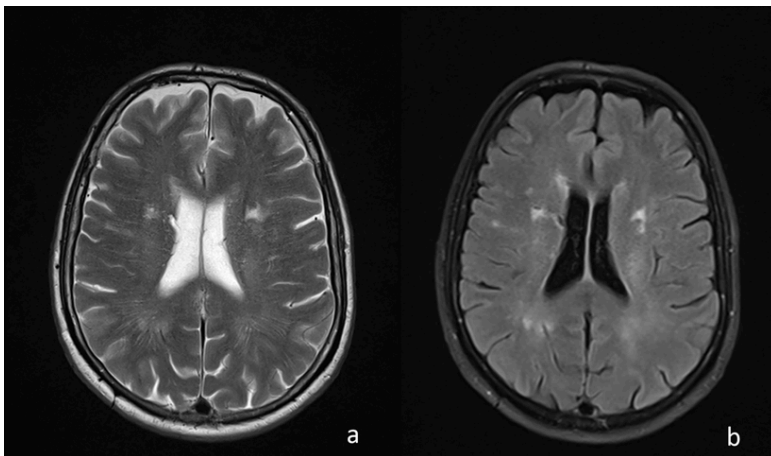
Лакуните са малки, изпълнени с цереброспинална течност пространства, за които доскоро се смяташе, че са последици от хроничен лакунарен инфаркт, но вече е ясно, че много често те са част от динамичния процес на мозъчна микроангиопатия.

За оценка на наличието им са използвани следните секвенции: SAG 3D T1: Малки, добре отграничени хипоинтенсни фокуси; AX T2: Малки, добре отграничени хиперинтенсни фокуси; AX T2 TIRM, COR T2 TIRM: Предоминантно хипоинтенсни (централна, потискаща сигнала си кистична част) с околени хиперинтензитет (вал от перифокална глиоза – основен отличителен белег за разграничаване от дилатирани периваскуларни пространства). Размерът на лакуните е до 15мм. Най-често се визуализират в базалните ядра, вътрешни капсули, rons, относително по-рядко в дълбоката или перивентрикуларната бяла мозъчна материя.

За целите на дисертационния труд, по този показател пациентите са разделени на две групи:

Група 1: Без МР данни за лакуни;

Група 2: С поне 1 лакуна.



Фигура 3 – Лакуни в областта на базалните ядра: малки хиперинтенсни на T2 (а) зони, потискащи сигнала си на FLAIR/TIRM (b), където е наличен фин хиперинтенсен вал.

ДИЛАТИРАНИ ПЕРИВАСКУЛАРНИ ПРОСТРАНСТВА

„Видимите“ периваскуларни пространства се представят на МРТ като овални или линейни лезии с гладки очертания, сигнал идентичен на този от цереброспиналната течност, без хиперинтенсен вал на FLAIR/TIRM (за разлика от лакуните).

Дилатираните периваскуларни пространства на ниво базални ядра са тези, които са с по-изразена асоциация с микроангиопатия [15-17]. Поради това за целите на дисертационния труд, именно те са обект на оценка.

Оценяват се по скала [18], предложена от Klarenbeek и сътрудници, при която съществуват 3 групи пациенти:

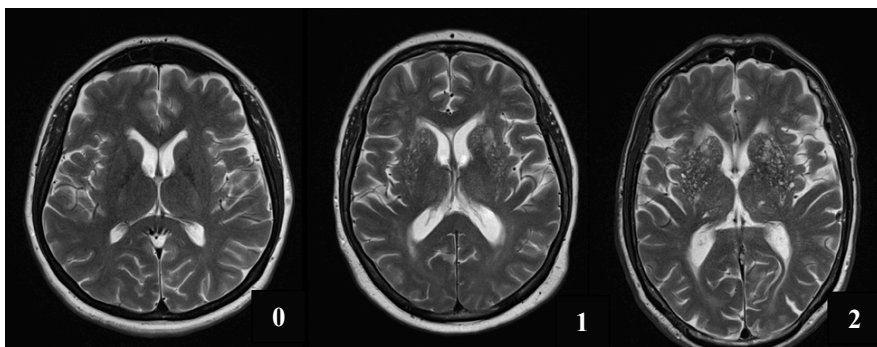
Група 1: под 10 ДПВП;

Група 2: от 10 до 25 ДПВП;

Група 3: над 25 ДПВП.

В дисертационния труд описаните „групи“ са модифицирани в „степен“ като „група 1“ съответства на „степен 0“ (за по-добро онагледяване на „нормалността“ на подобна находка“), „група 2“ съответства на „степен 1“, „група 3“ – на „степен 2“ [Фигура 4].

Броят на ДПВП се отнася за 1 хемисфера, като при асиметрия в разпределението, за оценка се избира страната с по-изразени промени.



Фигура 4 – Степенуване по фактор „дилатиран периваскуларни пространства“: степен 0 (под 10), степен 1 (10-25), степен 2 (над 25).

МИКРОХЕМОРАГИИ

Микрохеморагиите са видими единствено на чувствителни на парамагнитен ефект МР секвенции, най-често локализирани юкстакортикално, в базални ганглии, дълбока бяла материя, мозъчния ствол [19]. Техният образ е израз на наличие на хемосидерин-съдържащи макрофаги в периваскуларните пространства, вследствие на екстравазация на кръвни клетки [20-25].

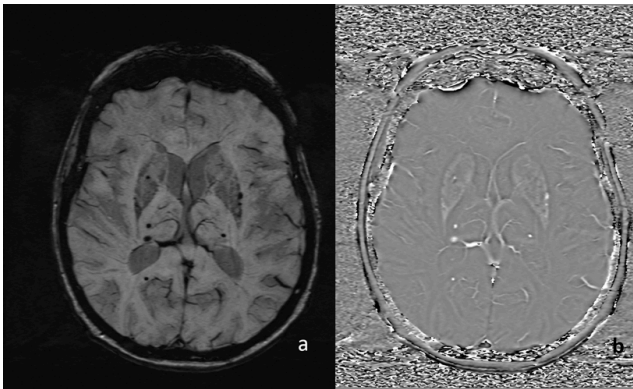
При всички пациенти е използвана SWI секвенция – съвременен метод, по-чувствителен в сравнение с T2* GRE [26, 27]. При тази секвенция се добиват и филтрирани фазови изображения, при които може да се разграничи диамагнитен от парамагнитен ефект [28] – допълнително увеличаващо увереността в определянето на една лезия като микрохеморагична [Фигура 5].

Микрохеморагиите, асоциирани с микроангиопатия (хипертензивна микроангиопатия), които са обект на настоящия интерес, са предимно с „дълбока“ локализация – базални ганглии, таламуси, вътрешни и външни капсули [29, 30].

За целите на дисертационния труд, по този показател пациентите са разделени на две групи:

Група 1: Без МР данни за дълбоки микрохеморагии;

Група 2: С поне 1 дълбока микрохеморагия.



Фигура 5 –
Микрохеморагии:
анингенсни овални
фокуси на SWI
образите (а),
демонстриращи
парамагнитен ефект
на фазовите карти
(б).

ОБЩ ТОВАР НА МОЗЪЧНА МИКРОАНГИОПАТИЯ - TOTAL SMALL VESSEL DISEASE BURDEN

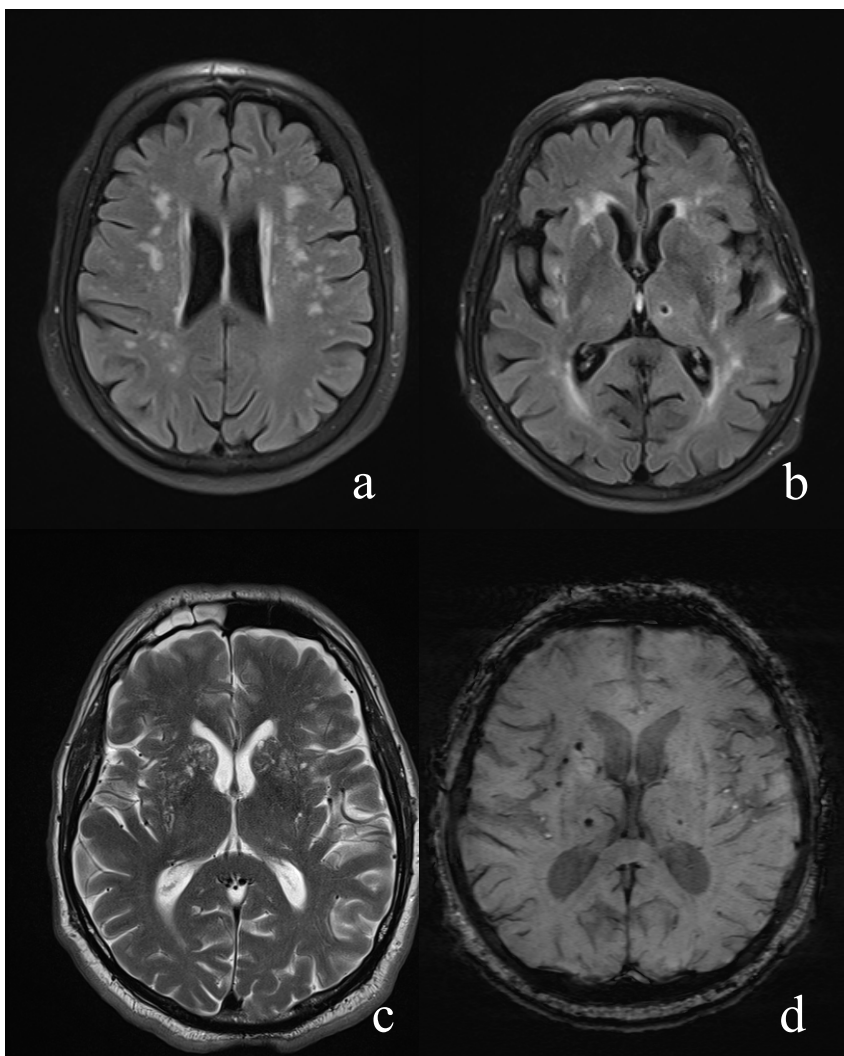
Klarenbeek et al [31] предлагат скала, инкорпорираща в себе си гореспоменатите утвърдени маркери на микроангиопатия. Максималният брой точки (степен) в скалата е 4, които се определят по следния начин:

Хиперинтенсни лезии в бялото мозъчно вещество: Използва се скалата на Fazekas. 1 точка към общия резултат се добавя при: степен на промените в дълбоката бяла материя равен или по-голям от 2 и/или степен на промените в перивентрикуларната бяла материя 3.

Лакуни: 1 точка към общия резултат се добавя при наличие на поне 1 лакуна.

Дилатирани периваскуларни пространства: 1 точка към общия резултат се добавя при наличие на промени на нивото на базалните ядра, съответстващи на степен 1 или степен 2(гореописаните „група 2“ и „група 3“), означаващо наличие на над 10 видими периваскуларни пространства от по-засегнатата страна.

Микрохеморагии: 1 точка към общия резултат се добавя при наличие на поне 1 дълбоко разположена микрохеморагия.



Фигура 6 – Общ товар на мозъчна микроангиопатия (total small vessel disease burden): Скала с максимум от 4 точки, като по 1 се получава при наличие на някой от следните фактори: хиперинтенсни лезии, поне 2-ра степен по скалата на Fazekas (a); поне 1 лакуна (b); над 10 (поне 1-ва степен) дилатирани ПВП на нивото на базалните ядра (c); наличие на поне 1 дълбокоразположена микрохеморагия (d).

ARTERIAL SPIN LABELING ЗА ОЦЕНКА НА МОЗЪЧНАТА ПЕРФУЗИЯ

Използваната техника в дисертационния труд е Pulsed Arterial Spin Labeling (PASL). При тази разновидност на ASL, радиочестотното възбуждане (маркирането) на протоните е пулсово, за много кратък времеви интервал, покриващо голяма площ.

Перфузионните образи са добити чрез 3D GRASE PASL, подтип FAIR-QUIPSS II, с възможност за качествена оценка на получените чрез субтракция CBF образи. Този тип техника предлага много добър SNR, възможност за голям обем на изследване (целият главен мозък) и по-малко артефакти в сравнение с други техники.

Техническите параметри на секвенцията са:

Inversion Time (TI) 1990ms; Bolus Duration 700ms; TR 5000ms; TE 16.6ms; flip angle 180°; Single slab (40 slices); phase oversampling 10%; slice oversampling 20%; Field of view read 192mm; Field of view phase 100%; Slice thickness 3mm; voxel size 3.0x3.0x3.0mm; Base resolution 64; Phase resolution 90%; Series: ascending; Multi slice mode: Interleaved.

Получените серии са: 1. конторлна серия; 2. серия с маркиране; 3. CBF карта (субтракционен образ на базата на първите две серии).

В клиничната практика важни критерии при избор на техника на изследване са: оптимален SNR, възможно по-малко артефакти, бързина на добиване на образите. Използваният метод – 3D PASL – отговаря на тези критерии.

Лимитация на използвания метод е възможността единствено за качествена (без количествена) оценка на перфузионните CBF карти.

Inversion time (TI) е един от най-важните вариабилни параметри при ASL изследванията – определя закъснението за получаване

на образите след маркиране. Типичният T1 при PASL при магнитно поле със сила 3T е в порядъка на 2 секунди (малко по-кратко при 1.5T, поради по-краткото T1 време на кръвта при по-слабо магнитно поле).

Една от особеностите на ASL при нормални *in vivo* клинични условия е, че сигналът на CBF картата е основно от сивата мозъчна материя и той е този, по който се съди за глобалните перфузионни нарушения. Сигнал от бялото мозъчно вещество би могъл да се добие при значително по-дълги T1, което води до силен спад в SNR, перфузионният сигнал става близък до шума и с това имплементирането на подобно изследване в ежедневната клинична практика се оказва необосновано. До известна степен спадът в SNR може да се компенсира при изследвания с апарати за MPT с напрегнатост на полето 7T, които все още не са налични за рутинно клинично приложение.

Всички пациенти са изследвани при еднакви параметри (гореописани), независимо от възрастта. Обосновка за това е, че въпреки че някои автори препоръчват по-кратки T1 при млади пациенти и по-дълги при застаряващи, понижената CBF перфузия не може емпирично да се приеме за нормална находка, а повишаването на T1, освен че води до понижаване на SNR, може да доведе до фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати. Още повече, критериите за избор на точна възрастова граница при адаптирането на T1 (и фактът, че трябва да бъде точна) са силно дискутабилни.

Изследването на всички пациенти при еднакви условия създава предпоставка за по-обективна преценка на перфузионните нарушения в контекста на търсенето на патогенетични зависимости при генерализирана васкуларна патология.

Клиничният опит показва, че адаптирането на T1 към възрастта на пациента е с по-голяма диагностична стойност при фокална патология, напр. хиперперфузия в туморна формация, което не е обект на дисертационния труд. В някои такива случаи е възможно дори добиване на няколко серии от образи при различни T1 (multi-delay ASL).

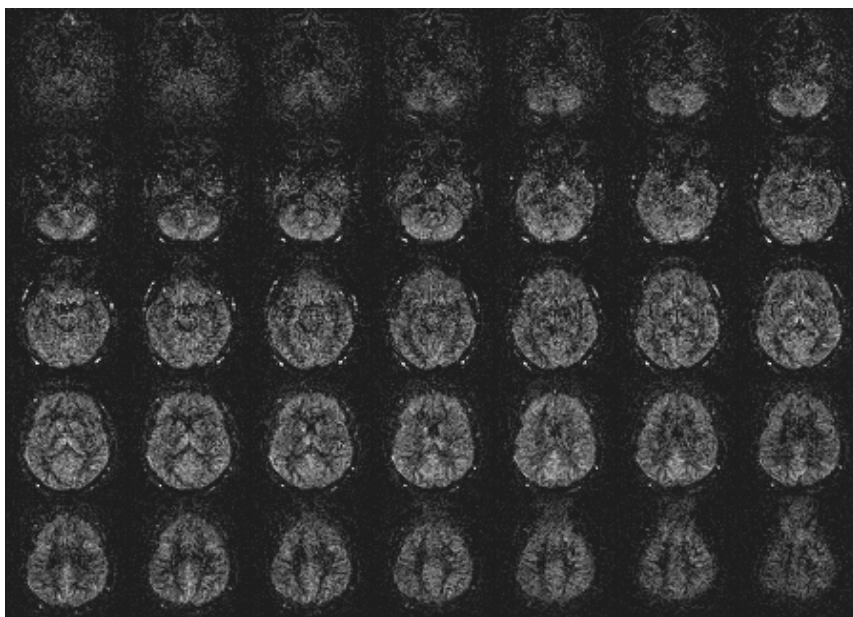
ВИЗУАЛНА СКАЛА ЗА ОЦЕНКА НА ГЛОБАЛНИТЕ ПЕРФУЗИОННИ НАРУШЕНИЯ ПРИ ASL

За целите на дисертационния труд е разработена ASL визуална скала за оценка на промените в мозъчната перфузия. Нуждата от нея се обуславя от факта, че липсва предложена или утвърдена в литературата подобна скала, отразяваща генералните перфузионни нарушения в мозъка при ASL. Тя се базира на голям брой клинични наблюдения, при които установяваме хронологична зависимост при намаляване на мозъчната перфузия (CBF) в определени зони.

Скалата е разработена така, че оценяването по нея да е бързо и удобно за ежедневната клинична практика. Избрани са зони и типове промени, които да бъдат лесно интерпретирани, вкл. от рентгенолози с неголям опит с ASL.

Наблюденията показват, че много по-подходящ за интерпретация (значително по-малко потенциални артефакти) е супратенториалният мозъчен паренхим. Препоръчваме за оценяване по скалата да се използват мозаични образи (множествени/всички срезове от изследването в общ екран), а не интерпретация срез по срез. По този начин се позволява общ поглед върху мозъчната перфузия за целите на интерпретацията на глобални промени.

Клинично наблюдаваните промени при огромен брой от пациентите следват определена „етапност“. Това твърдение е относително и има своите лимитации. То не се основава на наблюдения върху пациент/група пациенти в продължение на голям период от живота им. Основава се на клиничните наблюдения, че всеки следващ стадий включва в себе си промени, наблюдавани при по-ниските стадии.



Фигура 7 – Мозаични grayscale ASL образи (CBF) с нормална перфузия на мозъчния паренхим.

Първите индикации за намалена перфузия се откриват в т.нар. задна гранична територия – границата между съдовите територии на средномозъчна и задномозъчна артерии – установява се леко намален сигнал на CBF картата в тези зони. Обикновено липсва намаляване на перфузия в друга зона от мозъчния паренхим преди редуцирането на сигнала (перфузията) в задните гранични територии да бъде силно изразено. На този етап често се наблюдават и интраваскуларни артефакти в клонове на средномозъчните артерии – признак на забавен кръвоток и задържани инвертирани спинове в съответните съдове, все още неперфузирали в мозъчния паренхим. Очаквана следваща „стъпка“ е редуциране на перфузията в предните гранични съдови територии (средномозъчни/предномозъчни артерии), както и при фронталния и париеталния кортекс на ниво над латералните

вентрикули (на нивото на centrum semiovale), като промените преминават от лека към изразена редуция. Последва генерализирано намаляване на CBF в сивата мозъчна материя, вкл. перисилвиевия кортекс (зона обикновено с много добра перфузия). В съответствие с тези промени, обикновено започва и появата на множествени изразени интраваскуларни артефакти в различни артериални съдове. В тази напреднала фаза е възможно и да се наблюдава подчертана редуция на сигнала в базалните ядра – сивата мозъчна материя, която обикновено най-дълго запазва перфузионния си сигнал. Клиничните наблюдения показват, че в най-тежките случаи не се установява адекватен ASL сигнал от мозъчния паренхим, като сигналът остава „заклучен“ в артериалните съдове, визуализирайки се единствено като интраваскуларни артефакти.

При последния описан стадий, поради задържания интраваскуларен сигнал в интракраниалните артериални съдове и обикновено почти пълната липса на сигнал от мозъчния паренхим, образът наподобява на ангиографско изследване на артериалните съдове. В контекста на тази находка въвеждаме термина “образ на ASL ангиография“ (ASL “angio” sign) за описание на този феномен.

За тази качествена (визуална) интерпретация на перфузионните образи е препоръчително използване на сива скала (grayscale) и както беше отбелязано по-рано, мозаични образи.

Въпреки, че при гореспоменатата градация на перфузионните промени е възможно да се диференцират множество етапи, скалата е формирана така, че да се състои от 4 стадия, което е практичен вариант за ежедневна клинична употреба.

Стадий 0: Нормален ASL перфузионен образ или леко редуциран сигнал в задни гранични територии [Фигури 8, 9].

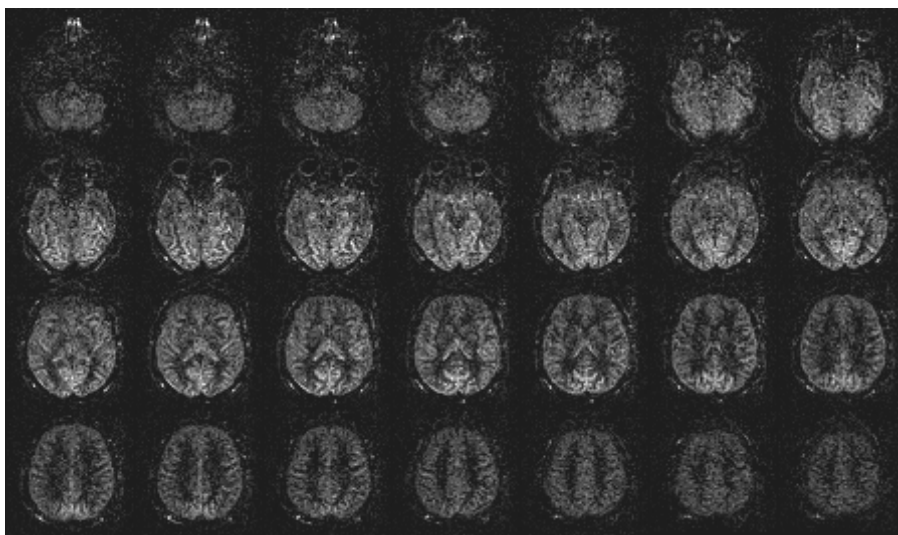
Стадий 1: Изразено редуциран сигнал в задни гранични територии и/или немного интраваскуларни артефакти в клонове на СМА [Фигури 10, 11].

Стадий 2: Умерено/изразено редуциран сигнал в кортекса на ниво *centrum semiovale* и/или изразено редуциран сигнал в предни гранични територии [Фигури 12, 13].

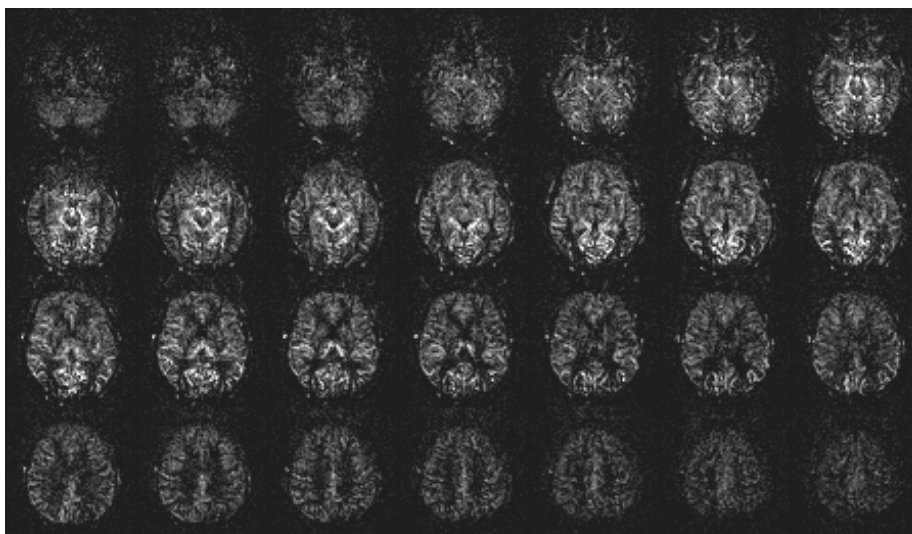
Стадий 3: Глобално умерено/изразено редуциран сигнал в сивата мозъчна материя и/или множествени изразени интраваскуларни артефакти [Фигури 14, 15].

Стадий 4: Образ на ASL „ангиография“ [Фигури 16, 17].

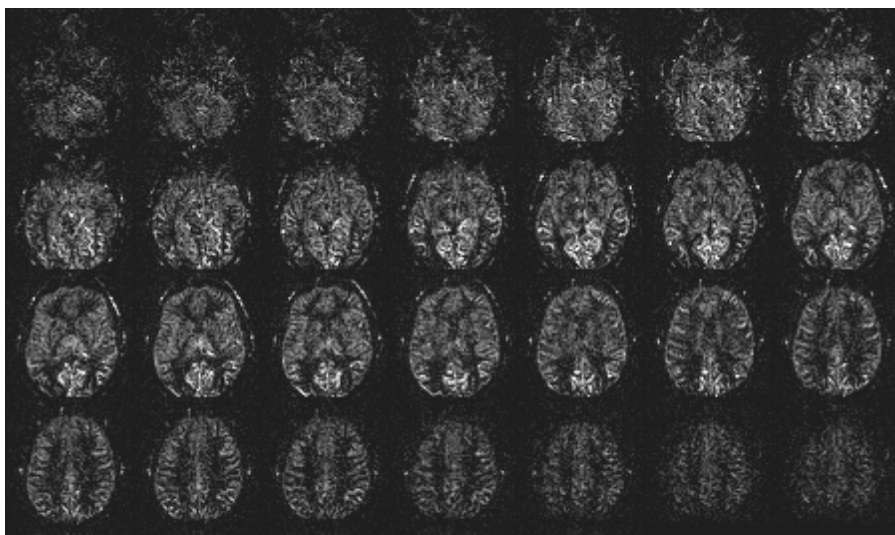
Образните находки са анализирани от двама опитни рентгенолози, като е налице висока степен на надеждност на интерпретацията между оценителите (*inter-rater reliability*), както по отношение на белезите на микроангиопатия, така и при оценка на промените в мозъчната перфузия на ASL.



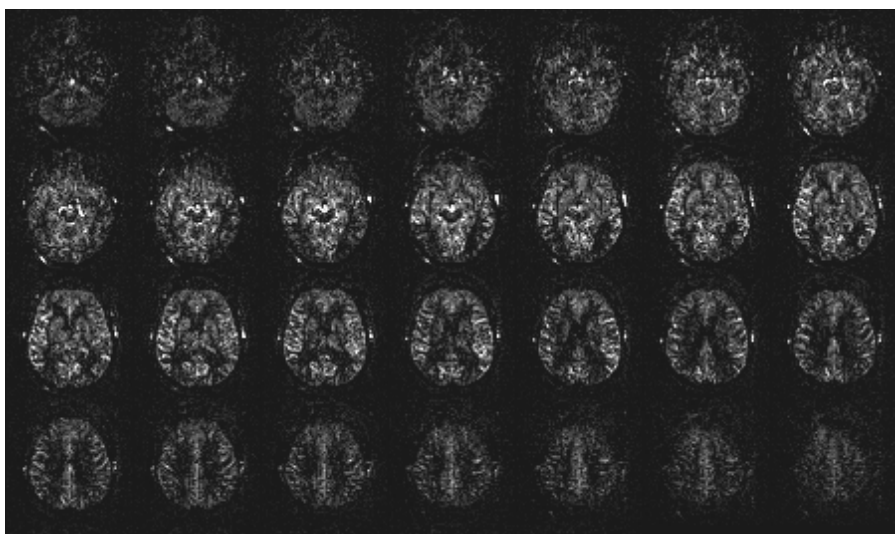
Фигура 8 – ASL стадий 0 – нормален перфузионен образ.



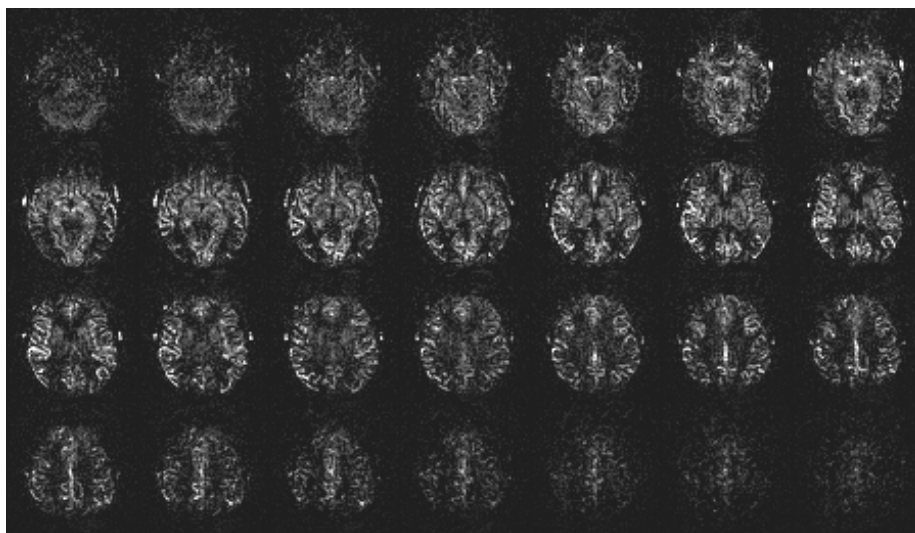
Фигура 9 – ASL стадий 0 – леко редуциран сигнал в задни гранични територии.



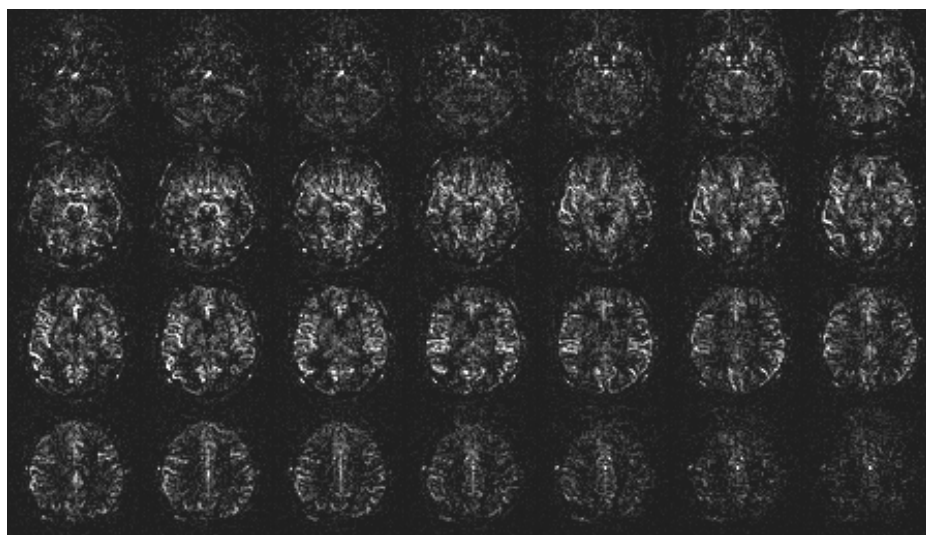
Фигура 10 – ASL стадий 1 – изразено редуциран сигнал в задни гранични територии.



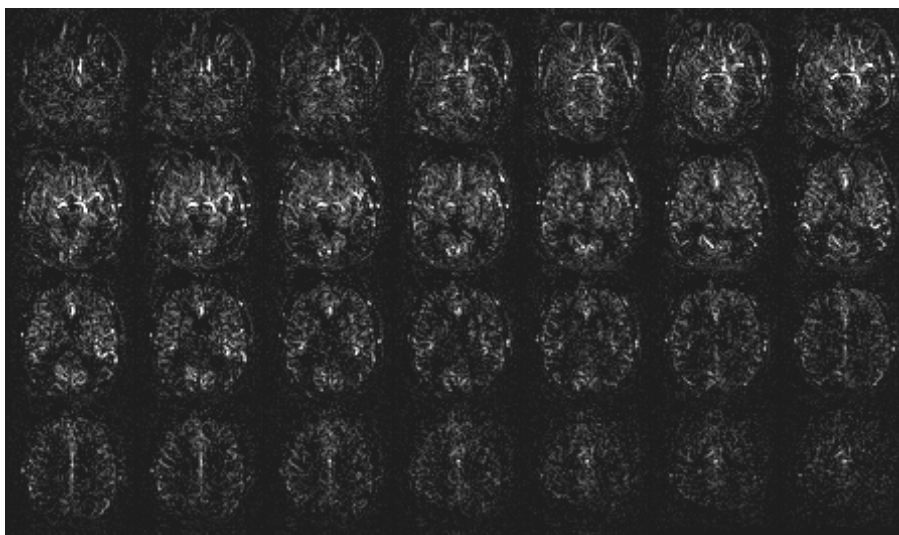
Фигура 11 – ASL стадий 1 - немного интраваскуларни артефакти в клонове на СМА.



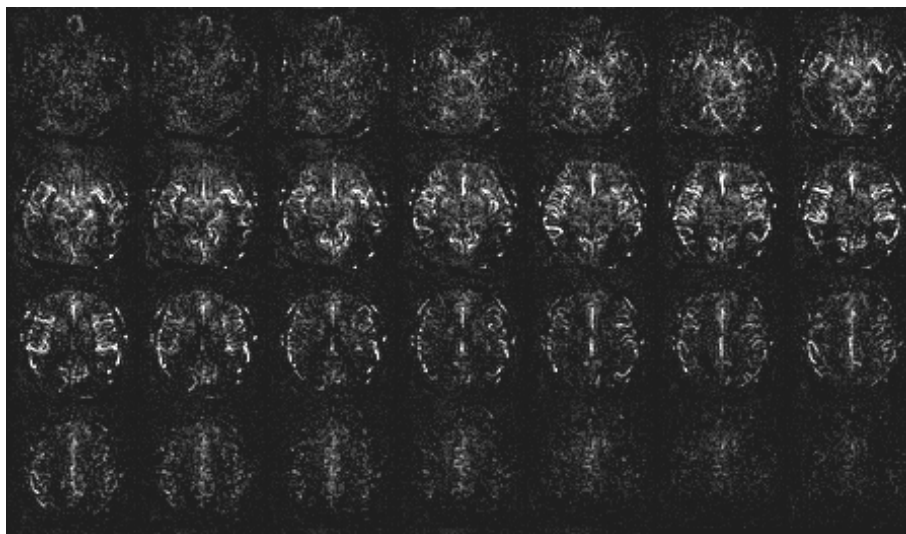
Фигура 12 – ASL стадий 2 – умерено към изразено редуциран сигнал в кортекса на ниво centrum semiovale.



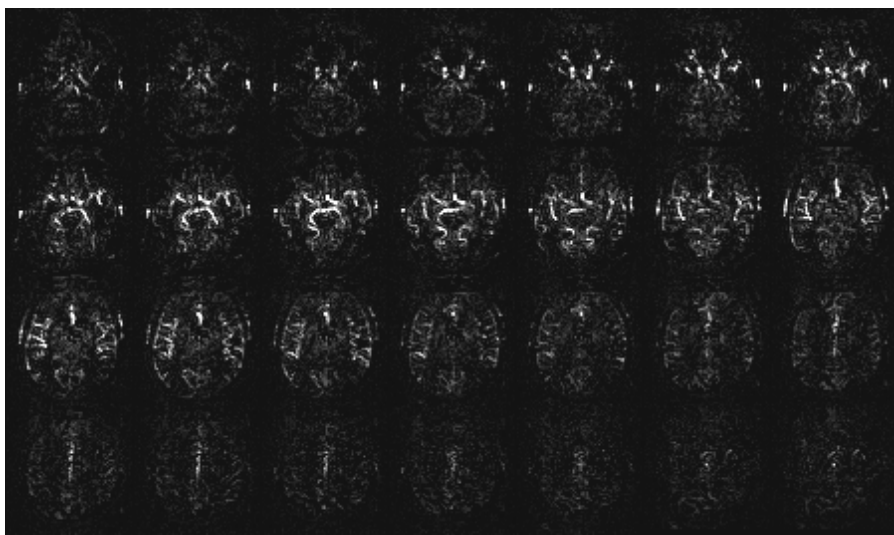
Фигура 13 – ASL стадий 2 - изразено редуциран сигнал в предни гранични територии.



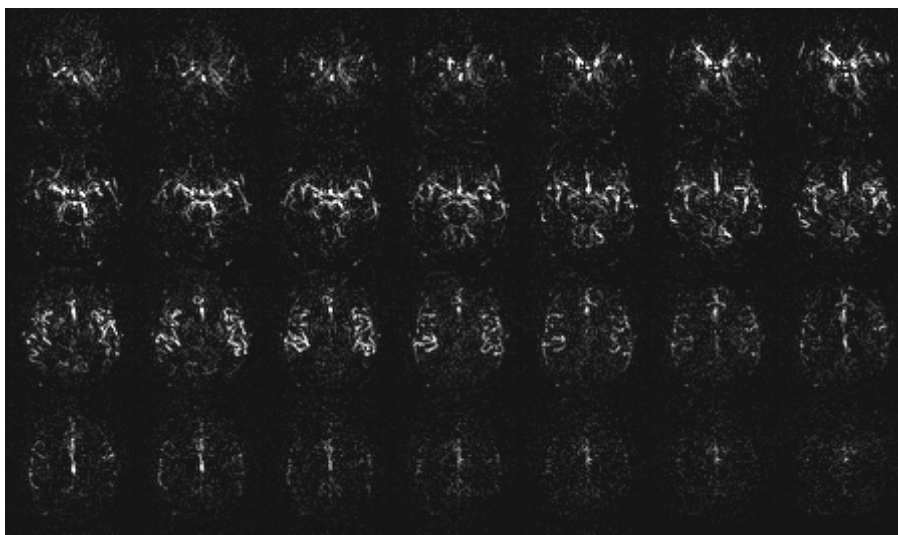
Фигура 14 – ASL стадий 3 - глобално умерено към изразено редуциран сигнал в сивата мозъчна материя.



Фигура 15 – ASL стадий 3 - множествени изразени интраваскуларни артефакти.



Фигура 16 – ASL стадий 4 – образ на ASL „ангиография“ (с оскъден сигнал в някои зони на сива мозъчна материя, напр. базални ядра).



Фигура 17 - ASL стадий 4 – образ на ASL „ангиография“.

СТАТИСТИЧЕСКИ АНАЛИЗ

ДЕСКРИПТИВНА СТАТИСТИКА

Дескриптивната статистика има за цел обобщаване на резултатите с количествено представяне на събраната информация за дадена извадка.

Измерват се два типа показатели – на централна тенденция и на дисперсия. Мерки за централна тенденция са средната величина, медианата и модата, а пример за мярка за дисперсия е стандартното отклонение (СО; standart deviation – SD). Ниска стойност на стандартното отклонение, посочва, че събраните данни са близки до средната величина на извадката. Доверителният интервал (ДИ; confidence interval – CI) и неговата доверителна степен (най-често 95%) определят шанса конкретна стойност на параметъра да се намира в дадения интервал.

АНАЛИЗ НА СТАТИСТИЧЕСКА ХИПОТЕЗА

Голяма част от статистиката се основава на нуждата да се даде точен отговор – „да“ или „не“ – при извършване на определен анализ. За тази цел може да се извърши тестване на хипотеза.

Начална стъпка е определяне граничната стойност на P , която задава границата на статистическа значимост. Обикновено тази стойност е 0.05 – такава е зададена и за анализите в дисертационния труд. Следваща стъпка е определянето на „нулевата хипотеза“. Напр. при сравняване на средни величини от две извадки, нулевата хипотеза е, че двете извадки имат еднакви средни величини. Обикновено при извършване на анализ на даден експеримент, нулевата хипотеза е обратна на експерименталната хипотеза.

Основна експериментална хипотеза в дисертационния труд е, че ASL стадият на промени в мозъчната перфузия е различен при пациенти с микроангиопатия и при такива с нормален МР образ на главения мозък. Нулевата хипотеза (ASL стадият на промени

в перфузията не се различава при тези две групи от пациенти) е тествана чрез t-тест на Student (във вариант two-sample t-test).

Повечето автори препоръчват лимитирането на изводът от тестването на една хипотеза като статистически значим или статистически незначим. Други степенуват значимостта в зависимост от стойността на P : ≥ 0.05 – несигнификантен резултат; от 0.01 до 0.05 – сигнификантен; от 0.001 до 0.01 – много сигнификантен; под 0.001 – изключително сигнификантен резултат.

КОРЕЛАЦИОНЕН АНАЛИЗ

Свързаната вариация на две променливи определя тяхната корелация. Корелационният коефициент (ρ или r/ρ) квантифицира посоката и силата на една корелация.

Корелационният анализ изчислява корелационният коефициент и неговият доверителен интервал. ρ може да варира от -1 (означаващ идеална обратна пропорционалност) до 1 (означаващ идеална права пропорционалност). Стойност на $\rho = 0$ означава, че корелация липсва.

Корелационният анализ също изчислява и стойност на P , тестваща нулевата хипотеза, която е, че липсва корелация между изследваните променливи.

Двата основни типа корелационен анализ – тези на Pearson и Spearman – се различават по това, че при Pearson CI и P могат да се интерпретират, само ако се приеме, че се касае за променлива с гаусова дистрибуция в популацията, докато при Spearman липсва такова условие. Поради това променливите, изследвани в дисертационния труд са анализирани с корелация на **Spearman**.

КОРЕЛАЦИОНЕН КОЕФИЦИЕНТ

При непараметричния корелационен анализ на Spearman, корелационният коефициент обикновено се означава с r_s . Интерпретацията на стойността му е следната:

При стойност на $r_s=0$, съществува перфектна права корелация. При $0<r_s<1$ – двете променливи имат склонност за съвместно нарастване. При $r_s=0$ - Липсва каквато и да е корелация между двете променливи. При $-1<r_s<0$ - Едната променлива нараства, а другата намалява. При $r_s=-1$ съществува перфектна обратна корелация.

Ако r_s е със стойност далеч от 0, има четири възможни обяснения за двете променливи (X и Y)

- Промяна в X предизвиква промяна в Y;
- Промяна в Y предизвиква промяна в X;
- Промяна в друга вариабилна повлиява X и Y;
- X и Y всъщност не корелират, а стойността на r_s е случайна. Стойността на P, посочва шанса това да бъде истина.

Р И СІ

P отговаря на въпроса дали, ако наистина липсва корелация между X и Y, какъв е шансът резултата от изследваната извадка да посочва висок коефициент на корелация.

Ако стойността на P е много ниска, горепосочената хипотеза може да бъде отхвърлена. Ако стойността на P е висока, не би трябвало да се прави заключение, че съществува корелационна зависимост. Това не означава, че корелация липсва, а че няма достатъчно доказателства, доказващи че резултатът е достоверен. В тези случаи СІ на r_s ще се простира от стойности на обратна корелация, до стойности на права корелация. Ако целият интервал е в стойности, много близки до 0, ще има силно доказателство за това, че липсва корелация в представената извадка или тя е пренебрежимо слаба. От друга страна, най-силното доказателство за корелационна зависимост в даден експеримент е налично в случаите, когато СІ на r_s варира в стойности, които се приемат за значими.

Статистическият анализ е извършен със софтуер „IBM SPSS Statistics“ v.26.0.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

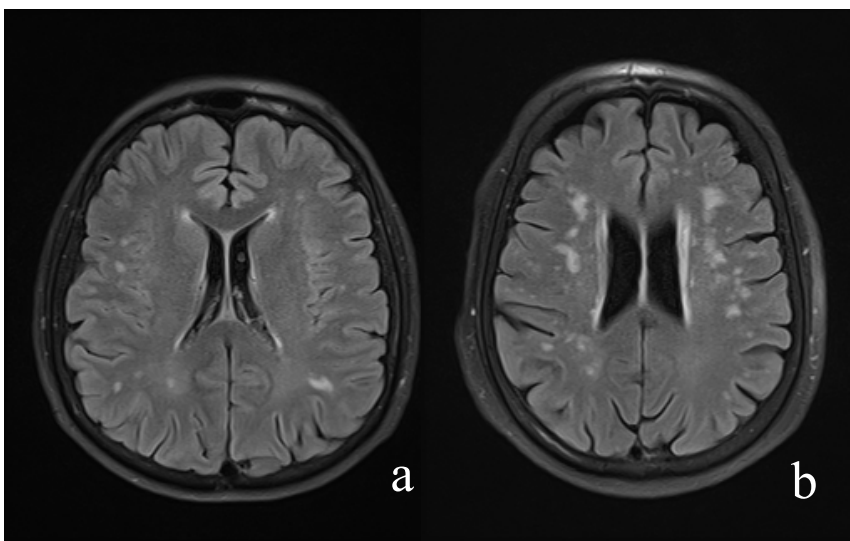
Таблица 1 – Таблицата съдържа в себе си основна част от статистическия анализ в дисертационния труд. Тя инкорпорира резултатите от проведените тестове на Spearman при взаимна корелация на изследваните величини, като са отразени съответно корелационният коефициент (ρ) и степента на сигнификантност на теста (P). Граница на статистическа значимост – $P=0.05$.

		Възраст това група	Пол	Хипертен сн и лезии	Лакуни	Микро хемора гии	Дилати рани ПВП	Товар Микро ангиоп атия	ASL стадий
Възраст това група	ρ	1,000	0,015	0,298	0,137	0,111	0,103	0,147	0,350
	P (2-tailed)	.	0,857	0,000	0,087	0,166	0,202	0,067	0,000
Пол	ρ	0,015	1,000	0,152	0,299	0,239	0,168	0,287	0,276
	P (2-tailed)	0,857	.	0,058	0,000	0,003	0,036	0,000	0,000
Хипертен сн и лезии	ρ	0,298	0,152	1,000	0,344	0,318	0,468	0,716	0,460
	P (2-tailed)	0,000	0,058	.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Лакуни	ρ	0,137	0,299	0,344	1,000	0,512	0,431	0,655	0,266
	P (2-tailed)	0,087	0,000	0,000	.	0,000	0,000	0,000	0,001
Микро хемора гии	ρ	0,111	0,239	0,318	0,512	1,000	0,260	0,578	0,218
	P (2-tailed)	0,166	0,003	0,000	0,000	.	0,001	0,000	0,006
Дилати рани ПВП	ρ	0,103	0,168	0,468	0,431	0,260	1,000	0,736	0,396
	P (2-tailed)	0,202	0,036	0,000	0,000	0,001	.	0,000	0,000
Товар Микро ангиоп атия	ρ	0,147	0,287	0,716	0,655	0,578	0,736	1,000	0,482
	P (2-tailed)	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	.	0,000
ASL стадий	ρ	0,350	0,276	0,460	0,266	0,218	0,396	0,482	1,000
	P (2-tailed)	0,000	0,000	0,000	0,001	0,006	0,000	0,000	.

МР БЕЛЕЗИ НА МИКРОАНГИОПАТИЯ (И ТЯХНАТА ВЗАИМНА КОРЕЛАЦИЯ)

Наблюдаваните резултати от статистическият анализ по отношение на белезите на микроангиопатия при изследваните в дисертационния труд пациенти може да се обобщи по следния начин:

ЛЕВКОАРАЙОЗА



Фигура 12 – T2 TIRM изображения, демонстриращи хиперинтенсни лезии в бялата мозъчна материя (левкоарайоза): малко на брой фокуси на хиперинтензитет (а) и по-изразени промени, на места с конфлуиране на лезиите (б).

От изследваните пациенти превалят такива със степен 1 (37.8%, n=59) и степен 0 (35.3%, n=55), а честотата намалява при по-високите степени - 2 (19.9%, n=31) и 3 (7.1%, n=11).

Таблица 2 - Разпределение на пациентите според степента на левкоарайоза, оценена по скалата на Fazekas.

Fazekas scale	Честота	Процент
0	55	35.3
1	59	37.8
2	31	19.9
3	11	7.1
Общо	156	100.0

При корелационен анализ (Spearman) с останалите белези на микроангиопатия се установяват следните зависимости:

С наличието на лакуни: Корелационен коефициент (ρ)=0.344, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

С наличието на микрохеморагии: Корелационен коефициент (ρ)=0.318, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

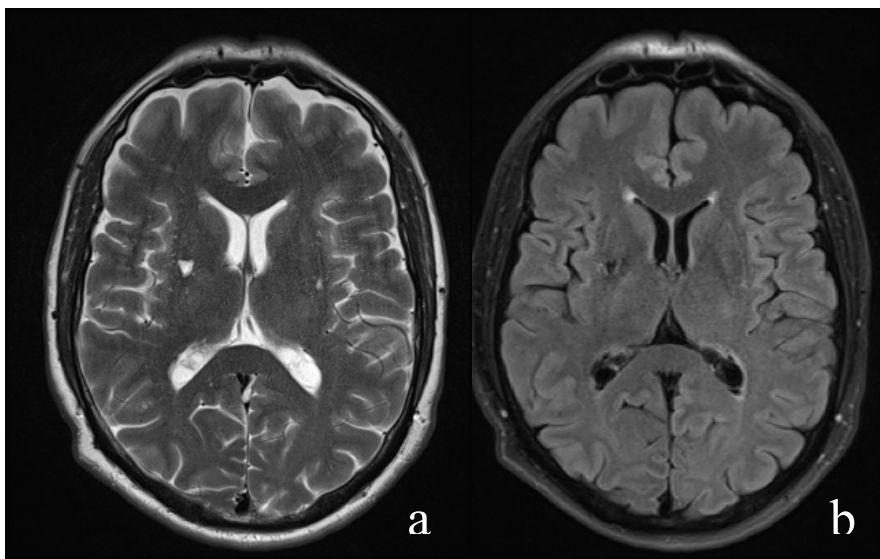
С наличието на дилатирани периваскуларни пространства (на ниво базални ядра): Корелационен коефициент (ρ)=0.468, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

ЛАКУНИ

От изследваните пациенти превалират такива, при които липсват данни за лакуни (84%, $n=131$), а тези при които има наличие на поне една лакуна са 16% ($n=25$).

Таблица 3 - Разпределение на пациентите според наличието на лакуни.

Лакуни	Честота	Процент
Не	131	84.0
Да	25	16.0
Общо	156	100.0



Фигура 13 – Лакуна в десен putamen. Лезията следва сигнала от ликвора, като е хиперинтенсна при T2 (a) и потиска сигнала си при TIRM (b) образите, където е наличен фин хиперинтенсен вал.

При корелационен анализ (Spearman) с останалите белези на микроангиопатия се установяват следните зависимости:

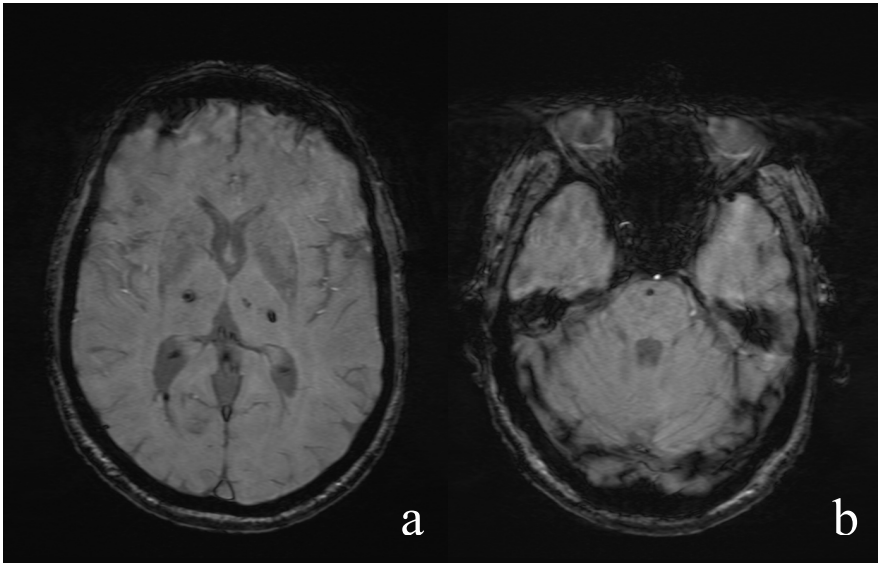
Със степента на левкоарайоза (Fazekas scale): Корелационен коефициент (ρ)=0.344, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

С наличието на микрохеморагии: Корелационен коефициент (ρ)=0.512, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

С наличието на дилатирани периваскуларни пространства (на ниво базални ядра): Корелационен коефициент (ρ)=0.431, сигнификантност на резултата (P)<0.001.

Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

МИКРОХЕМОРАГИИ



Фигура 14 – SWI при пациент с микрохеморагични лезии в таламуси (а) и понс (b). Малка лезия и перивентрикуларно вдясно (а).

От изследваните пациенти превалират такива, при които липсват данни за микрохеморагии (87.2%, n=136), а тези при които има наличие на поне една микрохеморагия са 12.8% (n=20).

Таблица 4 - Разпределение на пациентите според наличието на микрохеморагии.

Микрохеморагии	Честота	Процент
Не	136	87.2
Да	20	12.8
Общо	156	100.0

При корелационен анализ (Spearman) с останалите белези на микроангиопатия се установяват следните зависимости:

Със степента на левкоарайоза (Fazekas scale): Корелационен коефициент (ρ)=0.318, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

С наличието на лакуни: Корелационен коефициент (ρ)=0.512, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация. С наличието на дилатирани периваскуларни пространства (на ниво базални ядра):

Корелационен коефициент (ρ)=0.260, сигнификантност на резултата (P)=0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

ДИЛАТИРАНИ ПЕРИВАСКУЛАРНИ ПРОСТРАНСТВА

Превалират пациенти с под 10 ДПВП от по-засегнатата страна (степен 0) – 77.6% (n=121). Пациенти с от 10 до 25 ДПВП (степен 1) – 15.4% (n=24), с най-изразени промени – над 25 ДПВП (степен 2) – 7.1% (n=11).

Таблица 5 - Разпределение на пациентите според степента на налични ДПВП.

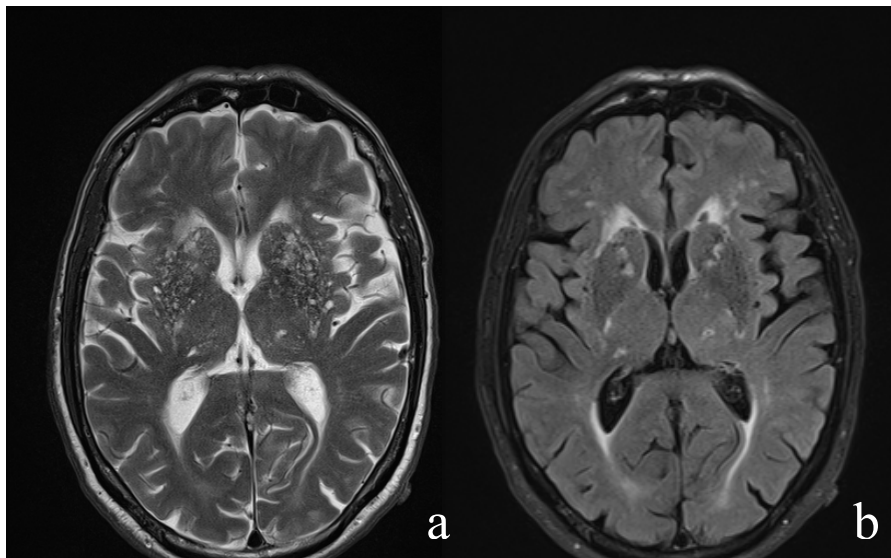
ДПВП - степен	Честота	Процент
0	121	77.6
1	24	15.4
2	11	7.1
Общо	156	100.0

При корелационен анализ (Spearman) с останалите белези на микроангиопатия се установяват следните зависимости:

Със степента на левкоарайоза (Fazekas scale): Корелационен коефициент (ρ)=0.468, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

С наличието на лакуни: Корелационен коефициент (ρ)=0.431, сигнификантност на резултата (P)<0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.

С наличието на дилатирани периваскуларни пространства (на ниво базални ядра): Корелационен коефициент (ρ)=0.260, сигнификантност на резултата (P)=0.001. Извод: съществува статистически сигнификантна корелация.



Фигура 15 – Множество ДПВП на нивото на базалните ядра видими при T2 образите (а). За разлика от другите налични лезии – левкоарайоза, малки лакуни – ДПВП потискат напълно сигнала си на FLAIR/TIRM (b).

ИЗВОД

Потвърждават се литературните данни от последните няколко години, според които хиперинтенсните лезии в бялата материя, лакуните, дилатираните периваскуларни пространства и микрохеморагиите са в корелационна зависимост помежду си, като се допринася за утвърждаването на тезата, че тези образни находки са проявления на един патологичен процес – мозъчната микроангиопатия.

ARTERIAL SPIN LABELING

ASL: НОРМАЛЕН МР ОБРАЗ – МИКРОАНГИОПАТИЯ

Един от основните изводи, които се извличат от получените резултати се основава на разликата в ASL перфузията при пациенти с нормален МР образ и такива с данни за мозъчна микроангиопатия.

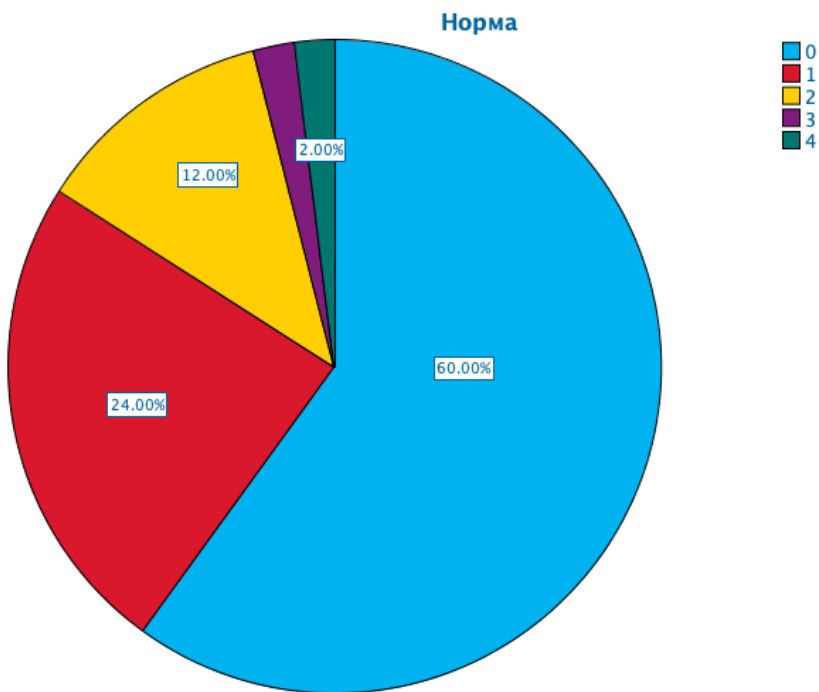
Сравнени са двете групи пациенти – с нормален МР образ на главния мозък (n=50) и такива с наличен поне един от четирите белега на мозъчна микроангиопатия (n=106).

Използваният статистически метод е t-тестът на Стюдънт (two-sample t-test), а резултатът от него - $t=4.091$, степен на свобода (df)=154, $P < 0.0001$. Получените данни категорично доказват, че пациентите с нормален МР образ и тези с данни за мозъчна микроангиопатия имат значима разлика в CBF мозъчната перфузия.

Валидността на теста се подсилва и от факта, че според описаните в „Материали и методи“ изключващи критерии при подбор на пациентите, е редуцирана вероятността за повлияване на резултата от наличие на сигнификантна мозъчна коморбидност, която да модулира перфузионния образ.

Таблица 6 – ASL стадий при пациенти с нормален МР образ.

ASL стадий	Честота	Процент
0	30	60.0
1	12	24.0
2	6	12.0
3	1	2.0
4	1	2.0
Общо	50	100.0



Фигура 16 – ASL стадий при пациенти с нормален МР образ.

Таблица 7 – ASL стадий при пациенти с микроангиопатия.

ASL стадий	Честота	Процент
0	29	27.4
1	34	32.1
2	20	18.9
3	13	12.3
4	10	9.4
Общо	106	100.0



Фигура 17 – ASL стадий при пациенти с микроангиопатия.

Таблица 8 – ASL стадий при пациенти с нормален МР образ и такива с белези на микроангиопатия.

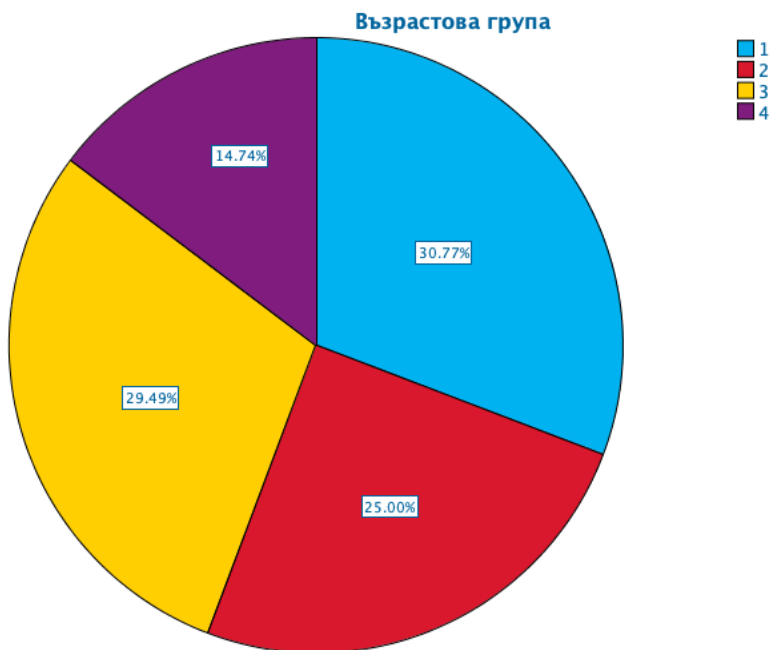
ASL стадий	Норма	Микроангиопатия
Средна величина	0.62	1.44
Медиана	0	1.00
Мода	0	1
Стандартно отклонение	0.923	1.273

ASL – ВЪЗРАСТОВА ГРУПА

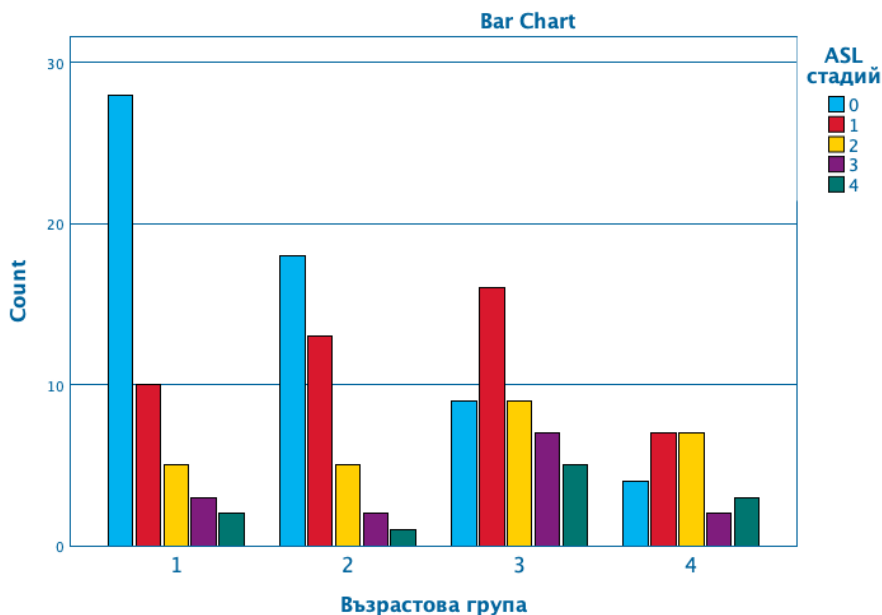
Пациентите в отделните възрастови групи са относително симетрично разпределени: 45-54г. (група 1) – 30.8% (n=48), 55-64г. (група 2) – 25% (n=39), 65-74г. (група 3) – 29.5% (n=46), над 75г. (група 3) – 14.7% (n=23).

Таблица 9 - Разпределение на пациентите: ASL стадий / възрастова група.

		ASL стадий					Общо
		0	1	2	3	4	
Възрастова група	1	28	10	5	3	2	48
	2	18	13	5	2	1	39
	3	9	16	9	7	5	46
	4	4	7	7	2	3	23
Общо		59	46	26	14	11	156



Фигура 18 - Разпределение на пациентите по възрастови групи



Фигура 19 – Разпределение на пациентите по ASL стадии в отделните възрастови групи.

Съществуват литературни данни, които посочват, че белезите на микроангиопатия са по-изразени при по-напреднала възраст. Макар, че възрастта сама по себе си не може да се приеме за белег на микроангиопатия, е интересно да се наблюдава какво е влиянието ѝ върху мозъчната перфузия.

Проведеният корелационен анализ (Spearman), посочва, че такава зависимост съществува и тя е статистически сигнификантна ($\rho=0.350$, $P<0.001$).

Дескриптивният анализ също потвърждава тези наблюдения.

Таблица 10 – ASL стадий при различните възрастови групи.

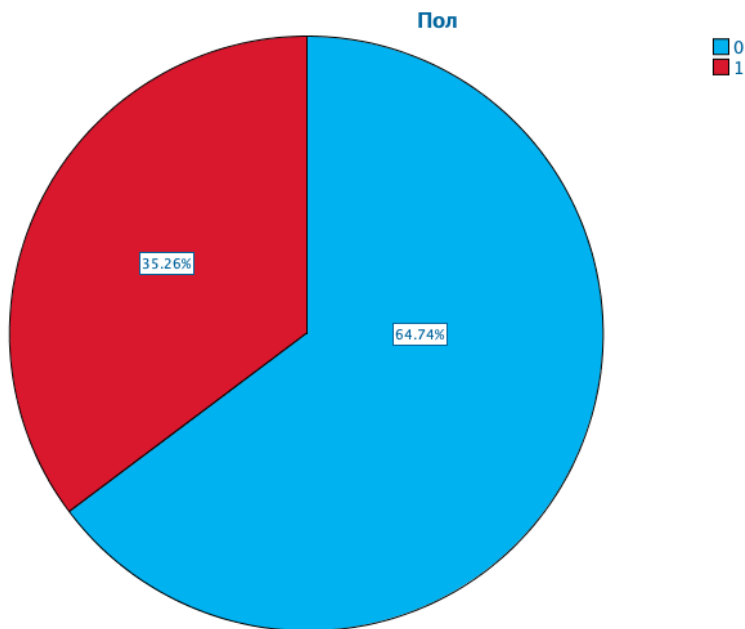
	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4
ASL – средна величина	0.77	0.85	1.63	170
ASL - медиана	0	1	1	2
ASL - мода	0	0	1	2
Брой пациенти	48	39	46	23

Макар извън фокуса на дисертационния труд, правят впечатление получените данни за корелационните зависимости между възрастта (възрастова група) и белезите на микроангиопатия, като сигнификантна такава се регистрира единствено при пациенти с левкоарайоза ($\rho=0.298$, $P<0.001$). Корелацията с наличие на лакуни ($\rho=-0.137$, $P=0.087$), микрохеморагии ($\rho=-0.111$, $P=0.166$) и дилатирани периваскуларни пространства ($\rho=0.147$, $P=0.067$) се регистрира като статистически несигнификантна.

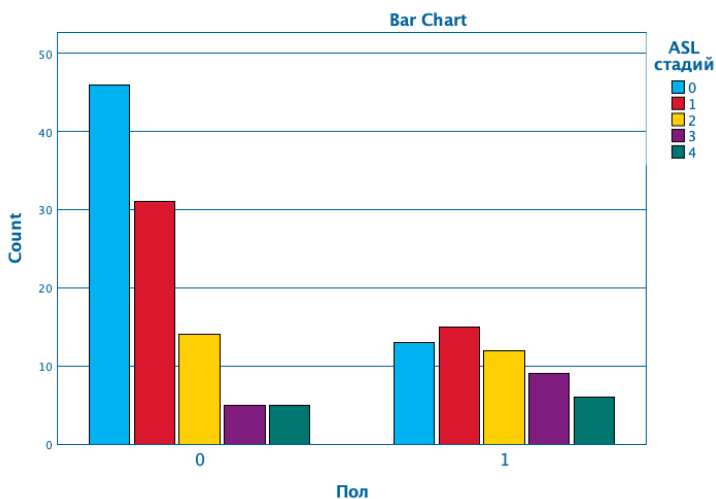
ASL – ПОЛ

Таблица 11 - Разпределение на пациентите: ASL стадий / пол.

		ASL стадий					Общо
		0	1	2	3	4	
Пол	Жена	46	31	14	5	5	101
	Мъж	13	15	12	9	6	55
Общо		59	46	26	14	11	156



Фигура 20 - Разпределение на пациентите по пол. 0=женски пол; 1=мъжки пол.



Фигура 21 – Разпределение на пациентите по ASL стадий при двата пола. 0=женски пол; 1=мъжки пол.

Интересни са и получените резултати по отношение на различията в мозъчната перфузия при мъже и жени. Съществува статистически значима права корелация между фактора мъжки пол и ASL стадия на промени в перфузията - $\rho=0.276$, $P<0.001$.

При изследваните мъже, средната стойност на ASL стадий е 1.64 (95% CI 1.28-1.99, SD 1.31), а при жените – 0.93 (95% CI 0.71-1.15, SD 1.116).

Таблица 12 - ASL стадий при двата пола.

	М	Ж
ASL - средна величина	1.64	0.93
ASL - медиана	1	1
ASL - мода	1	0
Брой	55	101

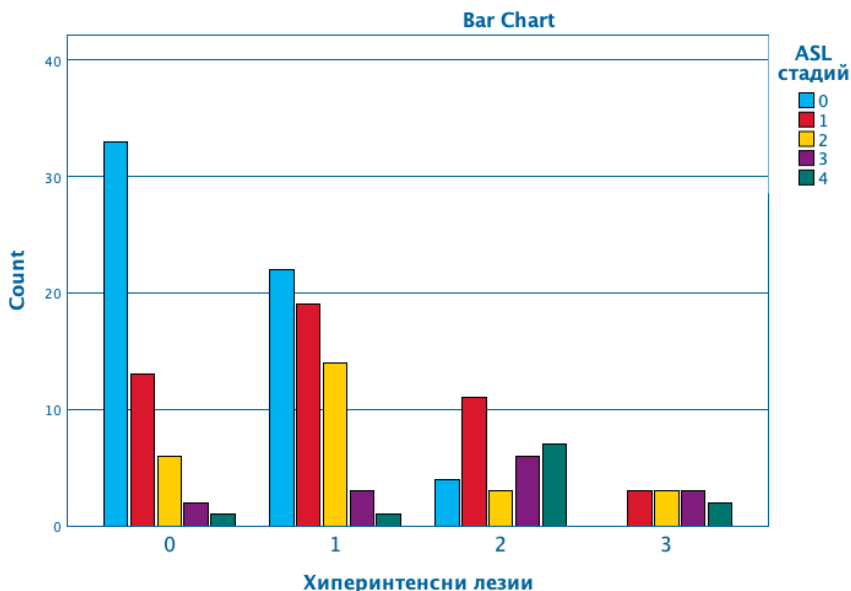
Отново извън обхвата на поставените цели и задачи си заслужава да се обърне внимание на коефициента на корелация между пол и МР белези на микроангиопатия. С изключение на левкоарайозата ($\rho=0.152$, $P=0.058$), при всички останали маркери има статистически значима права корелация с „мъжки пол“: лакуни - $\rho=0.299$; $P<0.001$, микрохеморагии - $\rho=0.239$, $P=0.003$; дилатирани периваскуларни пространства - $\rho=0.168$, $P=0.036$.

ASL – ЛЕВКОАРАЙОЗА

Хиперинтенсните лезии в бялата мозъчна материя (левкоарайоза) са най-единодушно утвърденият белег на микроангиопатия, поради което анализът на промените в мозъчната перфузия в контекста на този маркер е от фундаментално значение за дисертационния труд.

Таблица 13 - Разпределение на пациентите: ASL стадий / левкоарайоза.

		ASL стадий					Общо
		0	1	2	3	4	
Fazekas scale	0	33	13	6	2	1	55
	1	22	19	14	3	1	59
	2	4	11	3	6	7	31
	3	0	3	3	3	2	11
Общо		59	46	26	14	11	156



Фигура 22 – Разпределение на пациентите по ASL стадий при различните степени на левкоарайоза (хиперинтенсни лезии в бялата материя), оценени по скалата на Fazekas.

Разглеждайки средната величина на ASL стадия при отделните степени на левкоарайоза, се открива правопрпорционално нарастване: Средната величина при Fazekas степен 0 е 0.64 (95% CI 0.39-0.89, SD 0.95), при степен 1 – 1.02 (95% CI 0.76-1.28, SD 0.991), степен 2 – 2.03 (95% CI 1.51-2.56, SD 1.426), степен 3 – 2.36 (95% CI 1.61-3.12, SD 1.12).

Таблица 14 – ASL стадий при различните степени на левкоарайоза.

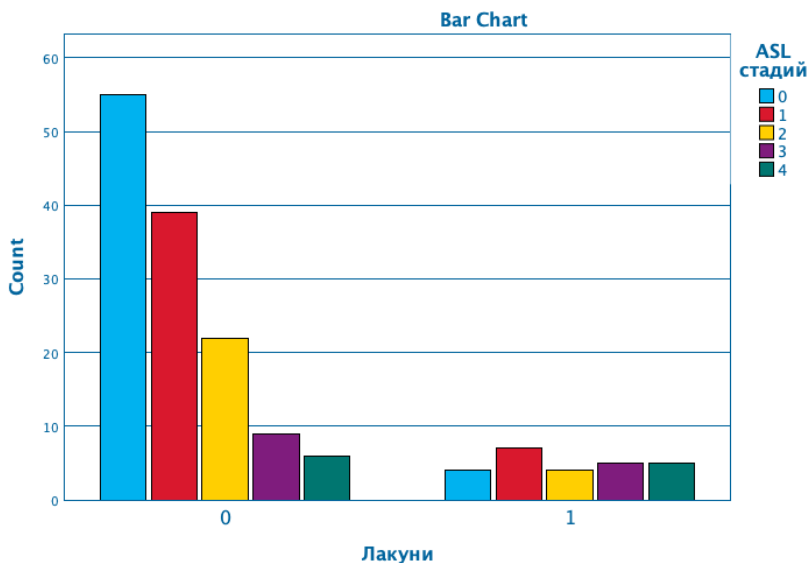
	Fazekas 0	Fazekas 1	Fazekas 2	Fazekas 3
ASL – средна величина	0.64	1.02	2.03	2.36
ASL - медиана	0	1	2	2
ASL - мода	0	0	1	3
Брой	55	59	31	11

Директно доказателство за връзката между двете величини откриваме при изчисляване на корелационния коефициент на Spearman, при който има подчертана статистическа значимост - $\rho=0.46$; $P<0.001$.

ASL – ЛАКУНИ

Таблица 15 - Разпределение на пациентите: ASL стадий / наличие на лакуни.

		ASL стадий					Общо
		0	1	2	3	4	
Лакуни	Не	55	39	22	9	6	131
	Да	4	7	4	5	5	25
Общо		59	46	26	14	11	156



Фигура 23 – Разпределение на пациентите по ASL стадий при липса/наличие на лакуни. 0=липсват лакуни; 1=наличие на поне 1 лакуна.

И при този белег на мозъчна микроангиопатия се открива права зависимост със стадия на редуциране на ASL перфузията.

Таблица 16 – ASL стадий при липса/наличие на лакуни.

	Липсват лакуни	Налични лакуни
ASL – средна величина	1.02	2.00
ASL - медиана	1	2
ASL - мода	0	1
Брой	131	25

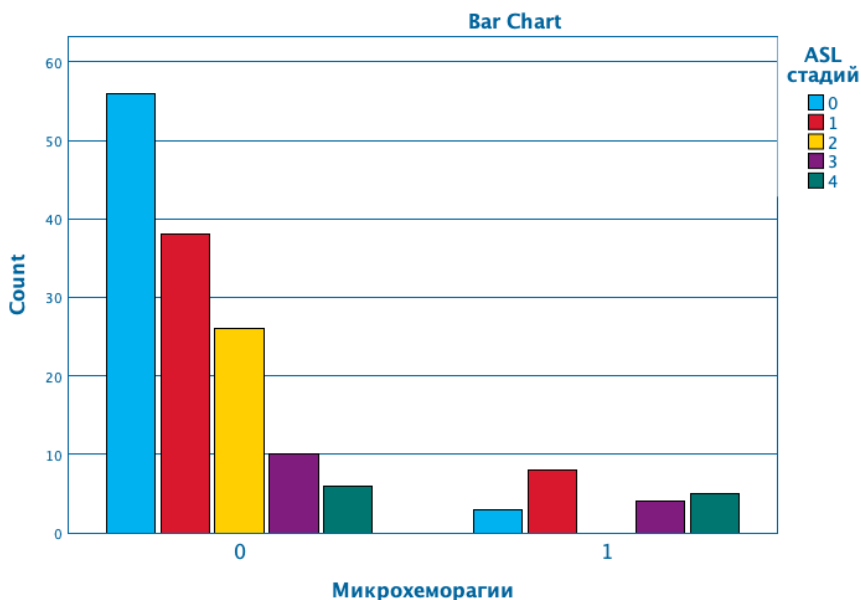
Корелационната зависимост (Spearman) между двата показателя е статистически сигнификантна - $\rho=0.266$; $P=0.001$.

Трябва да се има предвид, че наличието на лакуни е дихотомна вариабилна – за нея има само два варианта – няма лакуни или има лакуни (не се изследва количествено или полуколичествено броят на лакуните).

ASL – МИКРОХЕМОРАГИИ

Таблица 17 - Разпределение на пациентите: ASL стадий / наличие на микрохеморагии.

		ASL стадий					Общо
		0	1	2	3	4	
Микрохеморагии	Не	56	38	26	10	6	136
	Да	3	8	0	4	5	20
Общо		59	46	26	14	11	156



Фигура 24 – Разпределение на пациентите по ASL стадий при липса/наличие на дълбокоразположени микрохеморагии. 0=липсват микрохеморагии; 1=наличие на поне 1 микрохеморагия.

Наличието на микрохеморагии и стадият на редуциране на ASL перфузията са също в позитивна зависимост.

Таблица 18 – ASL стадий при липса/наличие на микрохеморагии.

	Липсват микрохеморагии	Налични микрохеморагии
ASL – средна величина	1.06	2.00
ASL - медиана	1	1
ASL - мода	0	1
Брой	136	20

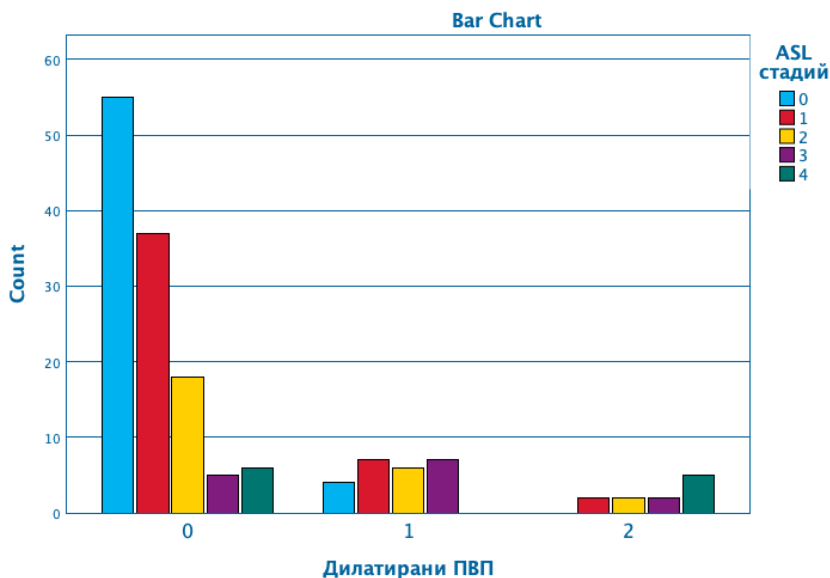
Корелационната зависимост (Spearman) между двата показателя е статистически сигнификантна - $\rho=0.218$; $P=0.006$.

Наличието на микрохеморагии в изследването (както и при лакуните) е дихотомна вариабилна.

ASL – ДИЛАТИРАНИ ПЕРИВАСКУЛАРНИ ПРОСТРАНСТВА

Таблица 19 - Разпределение на пациентите: ASL стадий / степен на наличните ДПВП.

		ASL стадий					Общо
		0	1	2	3	4	
Дилатирани ПВП - степен	0	55	37	18	5	6	121
	1	4	7	6	7	0	24
	2	0	2	2	2	5	11
Общо		59	46	26	14	11	156



Фигура 25 – Разпределение на пациентите по ASL стадий при различна степен на налични ДПВП.

Корелационната зависимост (Spearman) между двата показателя е статистически сигнификантна - $\rho=0.396$; $P<0.001$.

Пациентите с под 10 дилатирани периваскуларни пространства на нивото на базалните ядра от по-засегната страна (степен 0) имат средна стойност на ASL стадия 0.93 (95% CI 0.73-1.12, SD 1.104), тези с от 10 до 25 ДПВП (степен 1) – 1.67 (95% CI 1.21-2.13, SD 1.090), а в групата с най-изразени промени – над 25 ДПВП (степен 2) – 2.91 (95% CI 2.09 -3.73, SD 1.221).

Таблица 20 – ASL стадий при различна степен на налични ДПВП.

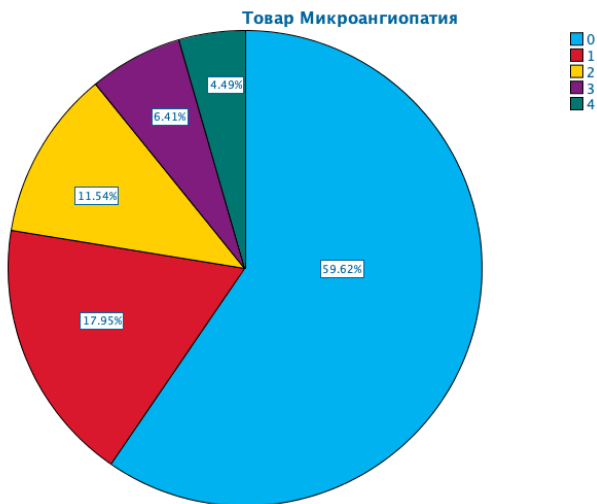
	Степен 0 (<10)	Степен 1 (10-25)	Степен 2 (>25)
ASL – средна величина	0.93	1.67	2.91
ASL - медиана	1	2	3
ASL - мода	0	1	4
Брой	121	24	11

ASL – ОБЩ ТОВАР НА МИКРОАНГИОПАТИЯ (TOTAL SMALL VESSEL DISEASE BURDEN)

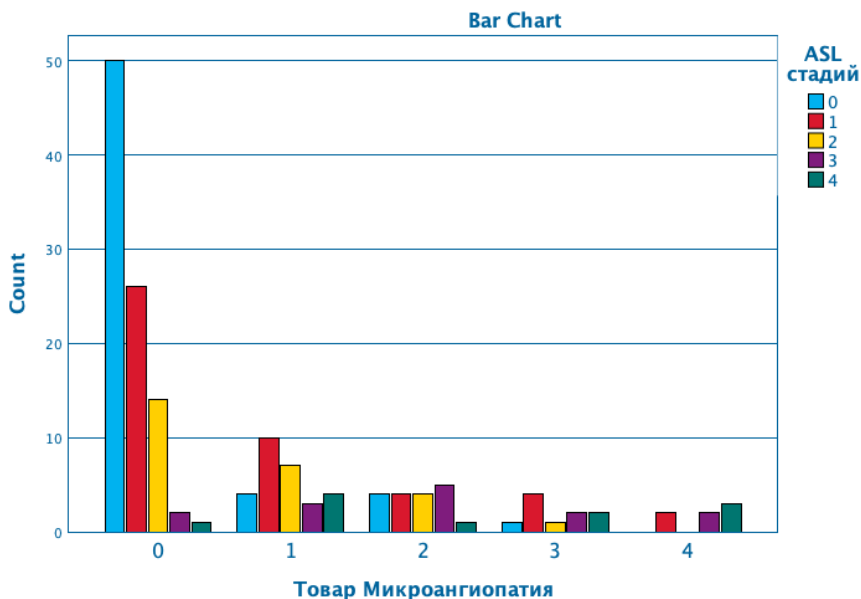
Общият товар на микроангиопатия (total small vessel disease burden; TSVDB) отразява по-точно степента на засягане от процеса. Присъствието на по-голям брой маркери на микроангиопатия едновременно има по-голям ефект върху клиничните проявления при засегнатите пациенти [19, 32, 33].

Таблица 21- Разпределение на пациентите: ASL стадий / общ товар на микроангиопатия.

		ASL стадий					Общо
		0	1	2	3	4	
Общ товар на микроангиопатия	0	50	26	14	2	1	93
	1	4	10	7	3	4	28
	2	4	4	4	5	1	18
	3	1	4	1	2	2	10
	4	0	2	0	2	3	7
Общо		59	46	26	14	11	156



Фигура 26 – Разпределение на пациентите според общия товар на микроангиопатия.



Фигура 27 – Разпределение на пациентите по ASL стадий при различна степен на общ товар на микроангиопатия.

Тестът на Spearman разкрива сигнификантна корелация между общия товар на микроангиопатия и ASL перфузионните промени – $P < 0.001$, $\rho = 0.482$.

Разглеждайки средните стойности на ASL стадия при отделните степени на товар, се вижда, че несигнификантна разлика има единствено между степен 1 и 2 - съответно 1.75 и 1.72 (95% CI 1.26-2.24, SD 1.226 при степен 1 и съответно 1.09-2.36, 1.274 при степен 2). При степен 0 средната стойност е 0.69 (95ДИ 0.51-0.87, CO 0.884), при степен 3 – 2.0 (95ДИ 0.99-3.01, CO 1.414), степен 4 – 2.86 (95ДИ 1.61-4.1, CO 1.345).

Таблица 22 – ASL стадий при различни степени на общ товар на микроангиопатия.

	TSVDB 0	TSVDB 1	TSVDB 2	TSVDB 3	TSVDB 4
ASL – средна величина	0.69	1.75	1.72	2.00	2.86
ASL - медиана	0	1.5	2	1.5	3
ASL - мода	0	1	3	1	4
Брой	93	28	18	10	7

ОБОБЩЕНИЕ НА АНАЛИЗА

Налице са множество фактори, които дават увереност, че извършеното изследване е с висока информативност:

- Изследвани са 106 пациенти с различно проявени МР образни белези за микроангиопатия, както и 50 пациенти с нормално изобразяване на главния мозък.
- Налице са изключващи критерии при подбора на пациентите, намаляващи възможността за грешки в интерпретацията, фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати.
- Протоколът за изследване е универсален и приложен по еднакъв начин при всички пациенти, гарантиращо обективността на резултатите.
- Изследванията са извършени на апарат за магнитнорезонансна томография, чиито технически характеристики, сред които от особено значение е високата напрегнатост на магнитното поле (3Т), позволяват получаване на образи с изключително високо качество и са предпоставка за максимално обективна интерпретация.

- Налице е висока степен на надеждност на интерпретацията между оценителите (inter-rater reliability) при анализ на образните находки.

Основната отправна точка на анализа и резултатите е доказателството, при това с изключително висока статистическа значимост $P < 0.001$, че мозъчната перфузия е различна при пациенти с микроангиопатия и такива с нормален МР образ.

Имайки предвид проучванията, повечето извършени в последното десетилетие, сочещи че хиперинтензитетите в бялата материя, лакуните, дилатираните периваскуларни пространства и микрохеморагиите са част от общ процес – мозъчна микроангиопатия, не е изненадващо, че и нашите резултати допринасят за тази теза: всички тези образни белези корелират сигнификантно помежду си.

Извършените корелационни тестове, както и дескриптивният анализ демонстрират статистически сигнификантна права корелация между стадия на глобално редуциране на ASL перфузията и всички изследвани МР белези на микроангиопатия. Особено внимание трябва да се обърне на факта, че най-големите корелационни коефициенти се наблюдават при сравнение със степента на левкоарайоза ($\rho = 0.46$) и общия товар на микроангиопатия ($\rho = 0.482$) – единият представлява най-утвърденият маркер на микроангиопатия, а другият - събирателната характеристика, за която се смята, че най-добре може (в сравнение с останалите маркери поединично) да оцени тежестта на засягане от този научно и социално значим процес.

Потвърждаването на тезата, че общата редукция на мозъчния перфузионен кръвоток корелира с наличието на обективни данни за микроангиопатия и тяхната степен, би могло да се окаже важен

принос в разбирането на патофизиологията на тези промени в мозъчния паренхим.

Друга статистически значима корелация установяваме между възрастта и редуцията на ASL измереният CBF. На този етап може единствено да се спекулира дали това е в резултат на натрупване на съдови рискови фактори, какво е точното разпределение на ролите между общото намаляване на помпената функция на сърцето и локалните микроваскуларни нарушения в мозъка. Любопитни са данните при корелация на възрастта с отделните маркери на микроангиопатия и факта, че статистически значима зависимост се открива единствено при сравнение с хиперинтенсните лезии в бялата материя, а при останалите белези, вкл. и общия товар на микроангиопатия, такава липсва.

Обратно на фактора възраст, факторът мъжки пол корелира право с всички белези на микроангиопатия (вкл. общия товар), с изключение на левкоарайозата. Възможно е това да е породено от обикновено повечето съдови рискови фактори при мъжете, като фактът, че най-утвърденият белег на мозъчна микроангиопатия е единственият, който не корелира сигнификантно към момента остава без обяснение.

ОСОБЕНОСТИ И ЛИМИТАЦИИ

Един от относителните недостатъци на проучването е, че се корелират промени, чиито „видим“ морфологичен субстрат е в бялото мозъчно вещество, докато ASL перфузионният образ се основа на перфузията в сивата мозъчна материя, а сигналът от бялата материя е пренебрежимо слаб. Този недостатък произтича от физичната същност на техниката. Макар че съществуват проучвания, които се стремят към изучаване на перфузионните нарушения в бялото мозъчно вещество чрез ASL техника, поради

значително по-големите транзитни времена в тази тъкан и необходимостта от увеличаване на PLD/TI (post-labeling delay / inversion time), резултантният образ е обикновено в недобро съотношение сигнал-шум. Този недостатък би могъл да се компенсира от по-силно магнитно поле от масово използваните в практиката (1.5T, 3T) като 7T, но подобна апаратура е налична в силно ограничен брой центрове.

Тук следва да се подчертае, че проучването цели откриване на генерални патофизиологични зависимости при глобалните промени в мозъчната перфузия, а не е насочено към микроперфузионните нарушения, които вероятно са налице на микроскопско ниво при конкретните лезии.

Ключово предимство на предложения подход за изследване и корелация е, че използваният метод отразява общомозъчната перфузия. Това е от особена важност, имайки предвид, че вече е известно, че микроангиопатията е общомозъчно заболяване.

На основата на едно от предимствата на проведеното изследване – константните, немодифицирани условия на добиване на ASL перфузионния образ при всички пациенти – би могъл да се изведе и една относителна лимитация: Не са отчетени факторите, които потенциално биха могли да нарушат или забавят „пристигането“ на артериалната кръв до мозъка – напр. сигнификантни екстракраниални стенози, нарушена сърдечна функция, възраст (вероятно производна на преходно описаните два фактора). Бавното пристигане на кръвния болус е една от причините за намален или липсващ перфузионен сигнал при ASL.

Въпреки, че този недостатък е отбелязан, е важно да се наблегне, че не би трябвало да е приемат само негативните му страни. Намалената перфузия и в тези случаи носи много важна информация, която трябва да се отчете, а не просто да бъде „замаскирана“ чрез увеличаване на времето между маркирането и аквизицията.

Смятаме, че адаптирането на „закъснението“ след маркиране е не само оправдано, но и желателно в случаите на фокална мозъчна

патология, като напр. туморна формация, когато целим не добиване на информация за общомозъчния кръвоток, а за фокални алтерации в перфузията на лезията, както и релативното им отношение към кръвотока в нормалния мозъчен паренхим. Когато фокусът е общомозъчни нарушения и особено когато биват сравнявани голяма група от пациенти, адаптирането на закъснението не е желателно и крие по-голям риск от фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати.

БЪДЕЩИ НАСОКИ

Доказването на корелационна зависимост между перфузия и микроангиопатия, поставя допълнителни вълнуващи въпроси за причинно-следствената връзка между тези показатели – дали перфузионните нарушения предшестват появата на МР белези на микроангиопатия или обратното. Това е есенциален въпрос за разбирането на генезата на промените и трябва да бъде обект на бъдещи проучвания, които да проследят динамиката на промените във времеви период с достатъчен обхват, при фокус и към двата типа промени – перфузионни и морфологични.

Важна насока към бъдещи проучвания е корелирането на перфузионните промени с клиничната симптоматика на пациентите, особено при тези, които демонстрират липса или с малко/лекостепенни МР маркери на микроангиопатия.

ИЗВОДИ

1. Потвърждават се данните от съвременната литература за наличие на сигнификантна корелационна зависимост между отделните магнитнорезонансни белези на мозъчна микроангиопатия.
2. Промените в мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, корелират сигнификантно с отделните магнитнорезонансни белези на мозъчна микроангиопатия.
3. Промените в мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, корелират сигнификантно с общия товар на мозъчна микроангиопатия.
4. Съществува сигнификантна права корелация между редуцията на мозъчната перфузия, измерена чрез arterial spin labeling, и факторите възраст и мъжки пол.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мозъчната микроангиопатия е проблем с огромно клинично и социално значение. Някои нейни проявления включват когнитивни нарушения, деменция, инсулт, двигателни нарушения. Патопфизиологията на процеса е все още ненапълно разкрита, като в последните схващанията за фокални исхемични промени се преобрази в съвременното разбиране за общомозъчен динамичен процес, вероятно развиващ се на базата на дифузна микроваскуларна ендотелиална увреда. Утвърдиха се „видимите“ МР маркери на мозъчна микроангиопатия - левкоарайозата, лакуните, микрохеморагиите, дилатираните периваскуларни пространства. Вниманието към „невидимите“ промени и фактори, водещи до развитието на образни и клинични субстрати е от особено голямо значение, тъй като вече се знае, че микроангиопатични патопфизиологични процеси се развиват и в привидно (за конвенционалните МР техники) нормална мозъчна тъкан.

Предоставената от ASL възможността за неинвазивно изследване на мозъчната перфузия, позволява по-безпрепятствено вникване в мозъчната физиология.

Благодарение на ASL разкриваме сигнификантна корелационна зависимост между белезите на микроангиопатия и глобалните перфузионни нарушения в мозъка - потенциална крачка към по-доброто разбиране на един от големите проблеми в съвременната неврология.

ОЧАКВАНИ ПРИНОСИ

1. Доказаха се важни корелационни зависимости между мозъчната микроангиопатия и глобалната церебрална перфузия, които са от потенциална полза за по-доброто разбиране на един от най-значимите невропатологични процеси.
2. Предложена е скала за качествена оценка на глобалната мозъчна перфузия с arterial spin labeling МРТ.
3. За пръв път в България се извършва мащабно проучване, базирано върху arterial spin labelling МРТ.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Wardlaw, J.M., C. Smith, and M. Dichgans, *Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging*. *Lancet Neurol*, 2013. **12**(5): p. 483-97.
2. van der Flier, W.M., et al., *Small vessel disease and general cognitive function in nondisabled elderly: the LADIS study*. *Stroke*, 2005. **36**(10): p. 2116-20.
3. Herrmann, L.L., M. Le Masurier, and K.P. Ebmeier, *White matter hyperintensities in late life depression: a systematic review*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2008. **79**(6): p. 619-24.
4. de Laat, K.F., et al., *Loss of white matter integrity is associated with gait disorders in cerebral small vessel disease*. *Brain*, 2011. **134**(Pt 1): p. 73-83.
5. Gorelick, P.B., et al., *Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association*. *Stroke*, 2011. **42**(9): p. 2672-713.
6. Muller, K., G. Courtois, and M.V. Ursini, *New Insight Into the Pathogenesis of Cerebral Small-Vessel Diseases*. 2017. **48**(2): p. 520-527.
7. Wardlaw, J.M., C. Smith, and M. Dichgans, *Small vessel disease: mechanisms and clinical implications*. *Lancet Neurol*, 2019. **18**(7): p. 684-696.
8. Iadecola, C., *The Neurovascular Unit Coming of Age: A Journey through Neurovascular Coupling in Health and Disease*. *Neuron*, 2017. **96**(1): p. 17-42.
9. Rasmussen, M.K., H. Mestre, and M. Nedergaard, *The glymphatic pathway in neurological disorders*. *Lancet Neurol*, 2018. **17**(11): p. 1016-1024.

10. Petersen, M.A., J.K. Ryu, and K. Akassoglou, *Fibrinogen in neurological diseases: mechanisms, imaging and therapeutics*. Nat Rev Neurosci, 2018. **19**(5): p. 283-301.
11. Williams, D.S., et al., *Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(1): p. 212-6.
12. Grade, M., et al., *A neuroradiologist's guide to arterial spin labeling MRI in clinical practice*. Neuroradiology, 2015. **57**(12): p. 1181-202.
13. Wintermark, M., et al., *Comparative overview of brain perfusion imaging techniques*. Stroke, 2005. **36**(9): p. e83-99.
14. Fazekas, F., et al., *MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging*. AJR Am J Roentgenol, 1987. **149**(2): p. 351-6.
15. Doubal, F.N., et al., *Enlarged perivascular spaces on MRI are a feature of cerebral small vessel disease*. Stroke, 2010. **41**(3): p. 450-4.
16. Rouhl, R.P., et al., *Virchow-Robin spaces relate to cerebral small vessel disease severity*. J Neurol, 2008. **255**(5): p. 692-6.
17. Zhu, Y.C., et al., *Severity of dilated Virchow-Robin spaces is associated with age, blood pressure, and MRI markers of small vessel disease: a population-based study*. Stroke, 2010. **41**(11): p. 2483-90.
18. Klarenbeek, P., et al., *Higher ambulatory blood pressure relates to enlarged Virchow-Robin spaces in first-ever lacunar stroke patients*. J Neurol, 2013. **260**(1): p. 115-21.
19. Wardlaw, J.M., et al., *Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration*. Lancet Neurol, 2013. **12**(8): p. 822-38.
20. Gouw, A.A., et al., *Heterogeneity of small vessel disease: a systematic review of MRI and histopathology correlations*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2011. **82**(2): p. 126-35.

21. Shoamanesh, A., C.S. Kwok, and O. Benavente, *Cerebral microbleeds: histopathological correlation of neuroimaging*. *Cerebrovasc Dis*, 2011. **32**(6): p. 528-34.
22. De Reuck, J., et al., *Comparison of 7.0-T T(2)*-magnetic resonance imaging of cerebral bleeds in post-mortem brain sections of Alzheimer patients with their neuropathological correlates*. *Cerebrovasc Dis*, 2011. **31**(5): p. 511-7.
23. Fazekas, F., et al., *Histopathologic analysis of foci of signal loss on gradient-echo T2*-weighted MR images in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage: evidence of microangiopathy-related microbleeds*. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1999. **20**(4): p. 637-42.
24. Dichgans, M., et al., *Cerebral microbleeds in CADASIL: a gradient-echo magnetic resonance imaging and autopsy study*. *Stroke*, 2002. **33**(1): p. 67-71.
25. Tatsumi, S., M. Shinohara, and T. Yamamoto, *Direct comparison of histology of microbleeds with postmortem MR images: a case report*. *Cerebrovasc Dis*, 2008. **26**(2): p. 142-6.
26. Haacke, E.M., et al., *Susceptibility weighted imaging (SWI)*. *Magn Reson Med*, 2004. **52**(3): p. 612-8.
27. Tong, K.A., et al., *Susceptibility-weighted MR imaging: a review of clinical applications in children*. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2008. **29**(1): p. 9-17.
28. Schweser, F., et al., *Differentiation between diamagnetic and paramagnetic cerebral lesions based on magnetic susceptibility mapping*. *Med Phys*, 2010. **37**(10): p. 5165-78.
29. Staals, J., et al., *Brain microbleeds relate to higher ambulatory blood pressure levels in first-ever lacunar stroke patients*. *Stroke*, 2009. **40**(10): p. 3264-8.
30. Vernooij, M.W., et al., *Prevalence and risk factors of cerebral microbleeds: the Rotterdam Scan Study*. *Neurology*, 2008. **70**(14): p. 1208-14.

31. Klarenbeek, P., et al., *Ambulatory blood pressure in patients with lacunar stroke: association with total MRI burden of cerebral small vessel disease*. *Stroke*, 2013. **44**(11): p. 2995-9.
32. Huijts, M., et al., *Accumulation of MRI Markers of Cerebral Small Vessel Disease is Associated with Decreased Cognitive Function. A Study in First-Ever Lacunar Stroke and Hypertensive Patients*. *Front Aging Neurosci*, 2013. **5**: p. 72.
33. Staals, J., et al., *Stroke subtype, vascular risk factors, and total MRI brain small-vessel disease burden*. *Neurology*, 2014. **83**(14): p. 1228-34.