

Charakteristika a identifikace pacientů s neurodegenerativními poruchami

**Týmový projekt z matematické biologie
Jaro 2012**

Autoři:

Klára Benešová
Petra Kovalčíková
Radomír Kůs
Lukáš Rosol

Vedoucí projektu:

RNDr. Eva Janoušová

Obsah

Úvod a cíle práce	3
1 Teoretické pozadí	4
1.1 Alzheimerova choroba	4
1.1.1 Průběh nemoci	4
1.1.2 Stádia nemoci	4
1.2 Mírná kognitivní porucha	4
1.2.1 Diagnostika	4
1.3 MMSE	5
1.3.1 Hodnocení	5
2 Čištění dat	6
3 Definice souboru	7
3.1 Rozdělení skupin	7
3.2 Pohlaví	7
3.3 Věk	8
3.4 Hmotnost	8
3.5 MMSE	9
3.6 MMSE po 24 měsících	10
3.7 Objemy mozkových struktur	11
4 Ověřování hypotéz	12
4.1 První hypotéza: Ověření, zda se liší objem mozkových struktur v závislosti na pohlaví	12
4.2 Druhá hypotéza: Ověření, zda se liší objem mozkových struktur v závislosti na zařazení do skupiny	13
4.3 Třetí hypotéza: Ověření vztahu objemu jednotlivých mozkových struktur a MMSE skóre při přijetí do studie	15
4.4 Čtvrtá hypotéza: Ověření odlišnosti změny MMSE skóre u pacientů s Alzheimerovou chorobou a zdravými jedinci	17
Závěr	18
Používané zkratky	20
Literatura	20

Úvod a cíle práce

Data, která jsme obdrželi, obsahovala detailní záznamy o třech skupinách pacientů. První skupinu tvořili kontrolní jedinci, druhou skupinu pacienti s mírnou kognitivní poruchou a poslední skupina zahrnovala jedince s Alzheimerovou chorobou.

V první řadě bylo potřeba provést úpravu dat a jejich popisnou sumarizaci. Data jsme zkontrolovali, rekódovali a poté jsme přikročili k jejich vyčištění před samotnou analýzou. Následně jsme provedli popisnou sumarizaci souboru vyšetřovaných pacientů a objemů mozkových struktur.

Po úpravě dat a jejich popisné sumarizaci jsme přikročili k testování hypotéz. Ověřovali jsme, zda se liší objem mozkových struktur podle pohlaví a také, zda se liší objem mozkových struktur u jednotlivých skupin pacientů. Dále jsme zjišťovali, zda existuje vztah mezi objemem jednotlivých mozkových struktur a MMSE skóre u pacientů při přijetí do studie. Nakonec jsme se zaměřili ještě na hypotézu, zda je změna MMSE skóre odlišná u pacientů s Alzheimerovou chorobou ve srovnání se zdravými lidmi.

V samotném závěru jsme se pokusili výsledky naší práce shrnout a konfrontovat s fyziologickými fakty a funkcemi jednotlivých zkoumaných mozkových struktur.

1 Teoretické pozadí

1.1 Alzheimerova choroba (Alzheimer's Disease – AD)

AD je neurodegenerativní onemocnění mozku, při kterém dochází k postupné demenci. V současné době není známa příčina vzniku AD, z neuropatologických nálezů se však ví, jak nemoc probíhá.

1.1.1 Průběh nemoci

Při AD dochází k ukládání patologických proteinů ve formě vláken nebo v okolí nervových buněk. Vznikají tak amyloidové plaky, které způsobují poškození a zánik nervových buněk a jejich spojů. Dochází také k úbytku acetylcholinu, který je významný v procesu nervového vzruchu.

1.1.2 Stadia nemoci

Podle příznaků lze rozlišit tři stadia onemocnění.

- Stadium lehké demence:
Obtížné dorozumívání, zapomínání, zakládání věcí, podezíravost, vztahovačnost, popírání problémů a poruchy paměti, dezorientace v čase, bloudění na známých místech, obtížné rozhodování a bezradnost, známky deprese, úzkosti a agresivity, ztráta zájmu o koníčky, změna osobnosti – sobeckost a egocentričnost.
- Stadium střední demence:
Poruchy soudnosti, nekritičnost, prohlubování změn osobnosti, neschopnost vykonávat běžné aktivity jako je vaření a nakupování, potřeba pomoci při vykonávání osobní hygieny a oblékání, obtížná komunikace, toulání, bloudění, poruchy chování, halucinace, podezírání, stavy zmatenosti.
- Stadium těžké demence:
Poruchy příjmu potravy, nerozpoznání blízkých osob, nechápání okolního dění, ztráta schopnosti souvislé řeči, velké stavy zmatenosti, obtížná chůze, poruchy vylučování moči a stolice, úplná ztráta soběstačnosti, upoutání na invalidní vozík, tělesné i duševní chátrání, hubnutí, smrt.

1.2 Mírná kognitivní porucha (Mild Cognitive Impairment - MCI)

Vyznačuje se postižením alespoň jedné složky kognice, nicméně u těchto pacientů ještě nedochází k narušení běžných aktivit každodenního života – nejedná se tedy o demenci. Nejčastěji bývá poškozena krátkodobá paměť. Průměrně 15% pacientů s MCI (zejména s amnestickým MCI) každý rok přechází do Alzheimerovy choroby (AD). Neamnestické MCI častěji konvertují ve vaskulární demenci (VaD).

1.2.1 Diagnostika

Diagnostika podle kritérií doporučených Petersenem:

- pacienti si sami stěžují na paměť
- paměťové funkce objektivně narušeny (pod 1,5 SD ve vztahu k normě pro daný věk)

- ostatní kognitivní funkce normální
- nejsou známky demence

1.3 MMSE (Mini-Mental State Examination)

MMSE je test kognitivních funkcí, v rámci něhož se zkoumají paměťové a další funkce mozku, které bývají postiženy u demence. Testování je zaměřeno na orientaci, pozornost, paměť, opakování, počítání, psaní, malování aj.

1.3.1 Hodnocení

- < 10 bodů: těžká kognitivní porucha
- 11–20 bodů: středně těžká kognitivní porucha
- 21–23 bodů: lehká kognitivní porucha
- 24–26 bodů: hraniční stav, možnost demence
- 27–30 bodů: normální stav

2 Čištění dat

Původní datový soubor obsahoval **845 pacientů**, z nichž ale bylo potřeba některé vyřadit kvůli chybějícím klíčovým údajům nebo extrémním hodnotám některých proměnných. Dva údaje byly pozměněny jako očividné překlepy.

- 4 Chybějící údaj: skupina
- 2 Chybějící údaj: pohlaví
- 2 Chybějící údaj: věk
- 6 Chybějící údaj: MMSE
- 5 Extrémní hodnota: hmotnost
- 2 Extrémní hodnota: věk
- 7 Duplicitní záznam

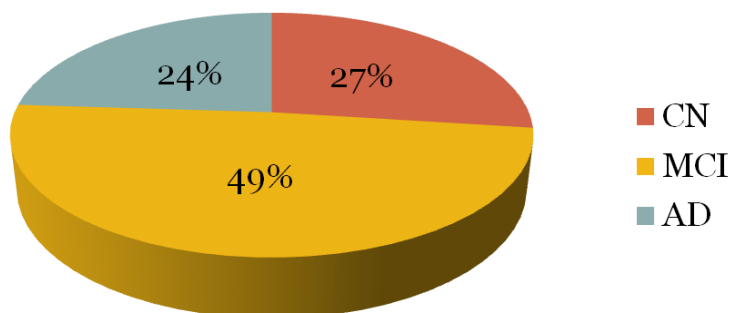
Upravený datový soubor zahrnoval **817 pacientů**. Pro ověření jedné z našich hypotéz bylo nutné vytvořit druhý speciální datový soubor, který obsahoval pouze **454 pacientů**, jelikož 363 pacientů muselo být ještě dodatečně vyřazeno kvůli nevyplněné hodnotě MMSE skóre po 24 měsících.

3 Definice souboru

3.1 Rozdělení skupin (n = 817)

Sumarizace podle skupin:

Kontrolní jedinci	Mírná kognitivní porucha	Alzheimerova choroba
221	400	196

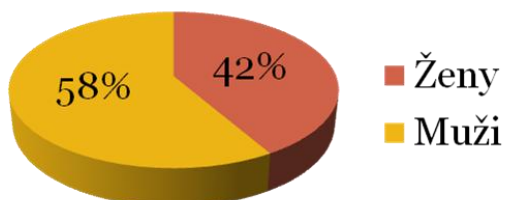


Bylo provedeno sloučení skupin pacientů se stabilní a progresivní formou mírné kognitivní poruchy.

3.2 Pohlaví (n = 817)

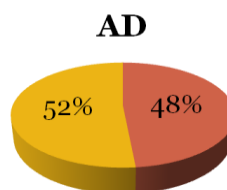
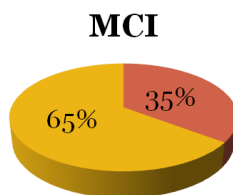
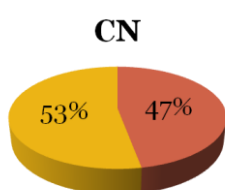
Sumarizace podle pohlaví:

Ženy	Muži
340	477



Kategorizace podle skupin:

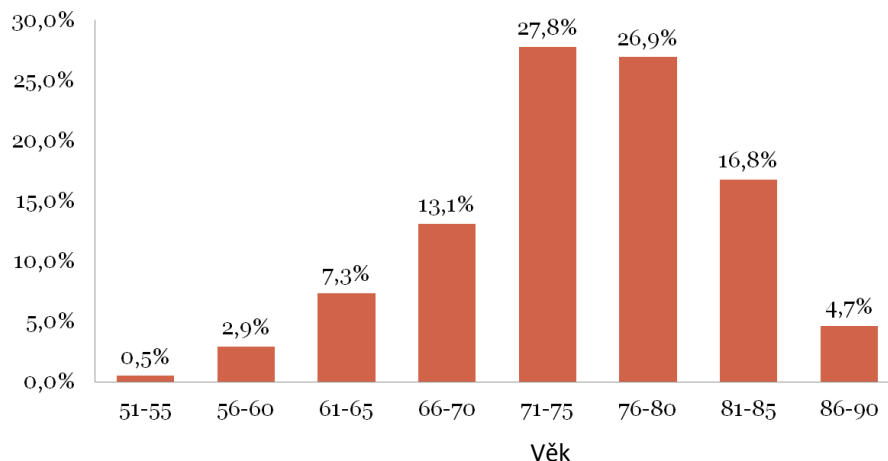
Skupina/Pohlaví	Ženy	Muži
CN	104	117
MCI	141	259
AD	95	101



3.3 Věk (n = 817)

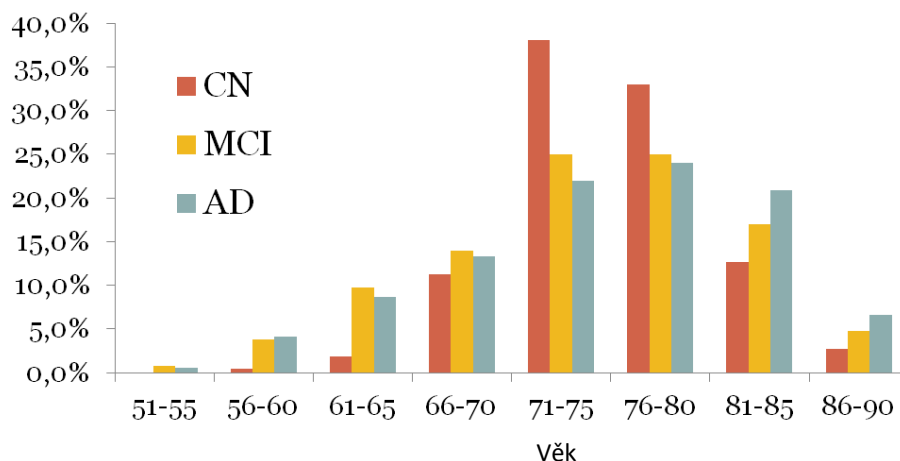
Sumarizace podle věku (v letech):

Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
75,00	74,20	37,65	137,44	14,78



Kategorizace věku podle skupin (v letech):

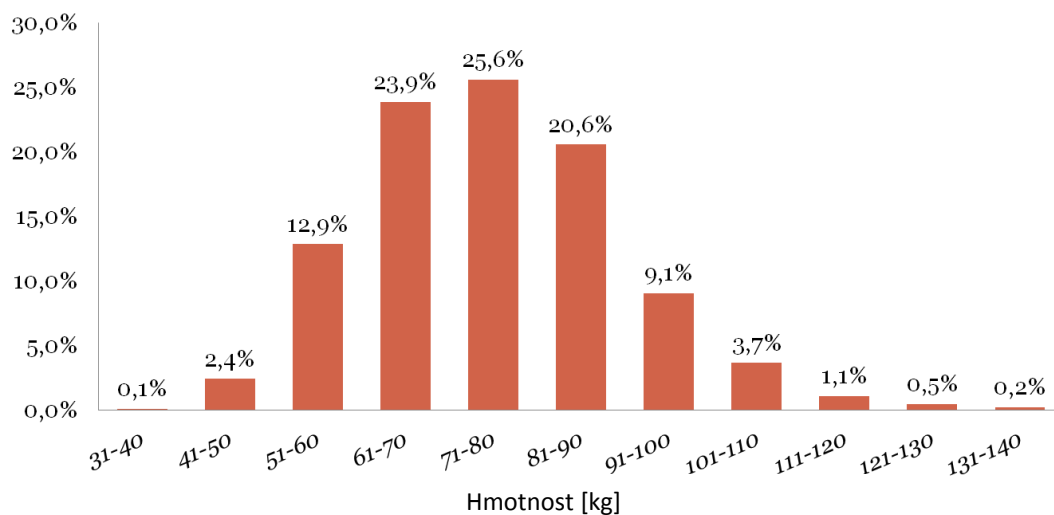
Skupina/Věk	Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
CN	75,50	75,00	59,00	88,00	4,91
MCI	74,31	75,00	54,00	89,00	7,46
AD	75,18	76,00	55,00	90,00	7,72



3.4 Hmotnost (n = 817)

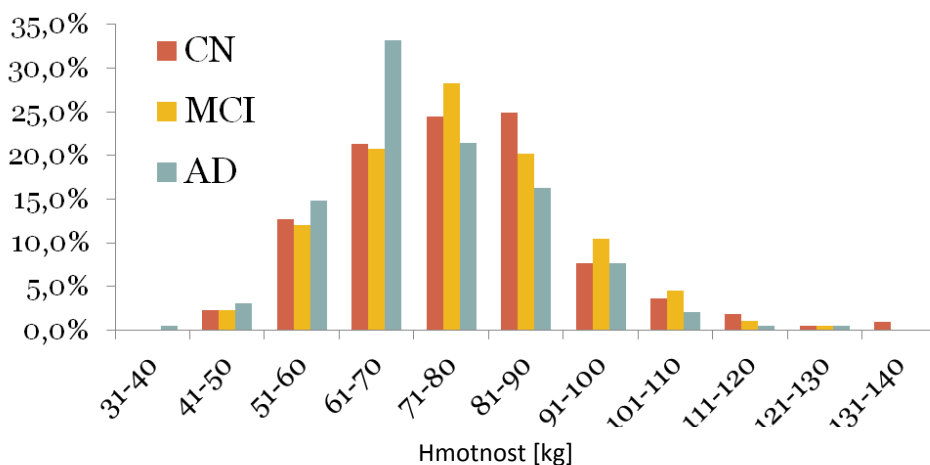
Sumarizace podle hmotnosti [kg]:

Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
26,70	27,00	18,00	30,00	2,69



Kategorizace hmotnosti podle skupin [kg]:

Skupina/ Hmotnost [kg]	Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
CN	76,46	76,66	45,59	137,44	15,74
MCI	75,87	74,92	43,54	121,11	14,35
AD	71,58	68,95	37,65	127,50	14,08



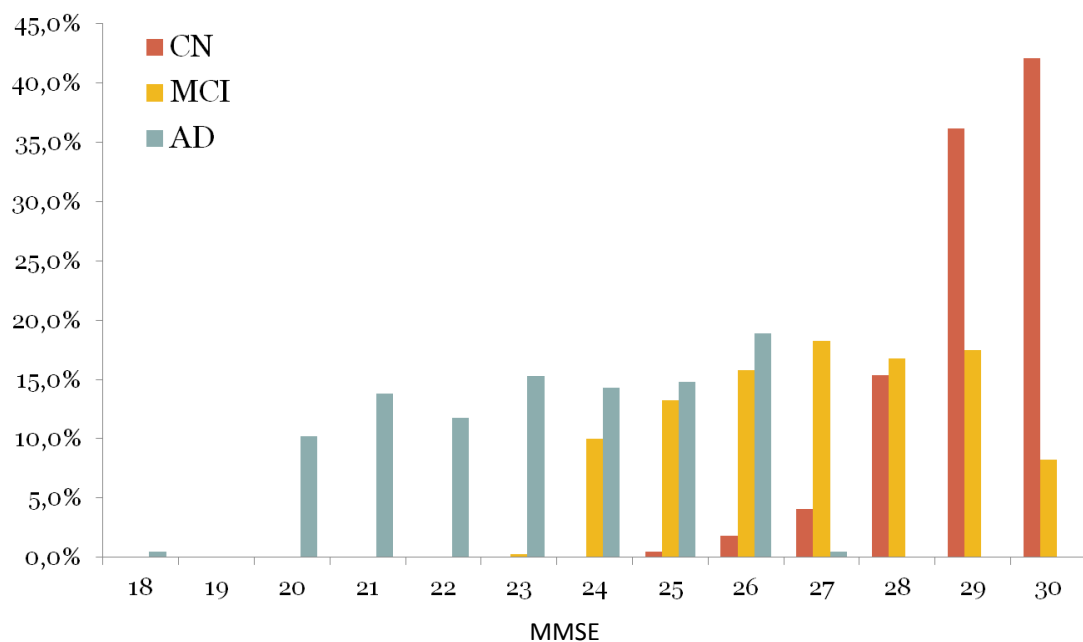
3.5 MMSE (n = 817)

Sumarizace MMSE:

Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
24,95	27,00	2,00	30,00	5,53

Kategorizace MMSE podle skupin:

Skupina/ MMSE	Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
CN	29,11	29,00	25,00	30,00	0,98
MCI	27,03	27,00	23,00	30,00	1,8
AD	23,30	23,00	18,00	27,00	2,04



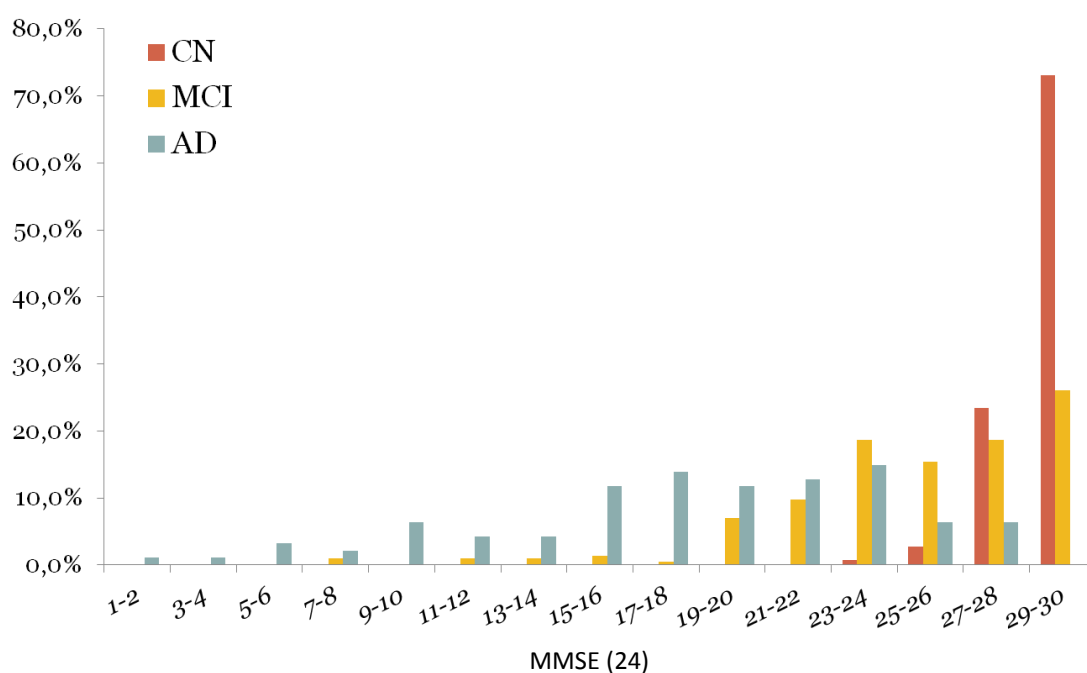
3.6 MMSE po 24 měsících (n = 454)

Sumarizace MMSE po 24 měsících:

Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
26,70	27,00	18,00	30,00	2,69

Kategorizace MMSE po 24 měsících podle skupin:

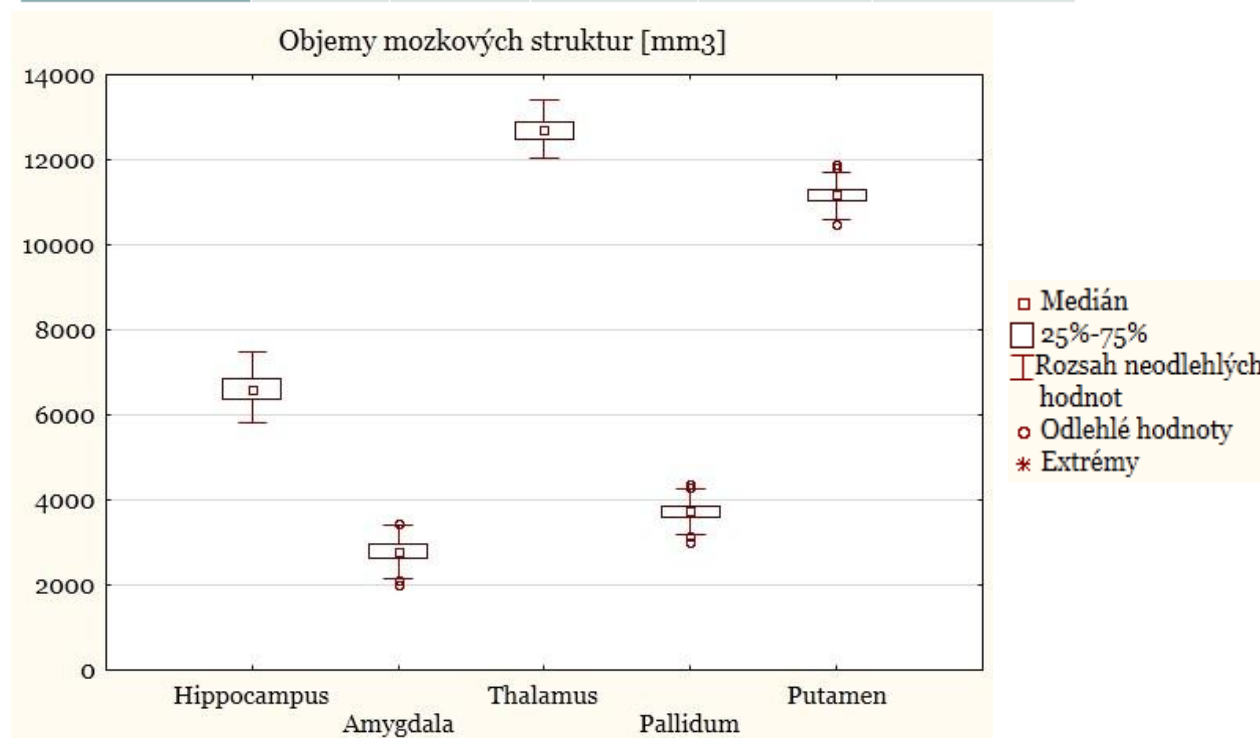
Skupina/ MMSE	Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
CN	28,98	29,00	24,00	30,00	1,21
MCI	25,17	26,00	8,00	30,00	4,17
AD	18,23	19,00	2,00	28,00	5,99



3.7 Objemy mozkových struktur (n = 817)

Sumarizace objemů mozkových struktur [mm³]:

[mm ³]	Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylna
Hippocampus	6618	6579	5805	7487	344
Amygdala	2785	2774	2002	3455	235
Thalamus	12678	12688	12029	13398	265
Pallidum	3728	3732	3010	4362	204
Putamen	11162	11168	10488	11874	200



4 Ověřování hypotéz

4.1 První hypotéza: Ověření, zda se liší objem mozkových struktur v závislosti na pohlaví (n = 817)

Nulová a alternativní hypotéza byla stanovena následovně:

H_0 : objem mozkové struktury se neliší v závislosti na pohlaví

H_1 : objem mozkové struktury se liší v závislosti na pohlaví

Testování bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha=0,05$. Srovnány byly objemy mozkových struktur u žen ($n_1 = 340$) a mužů ($n_2 = 477$).

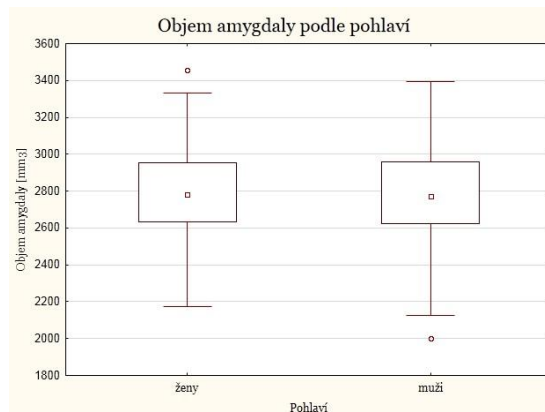
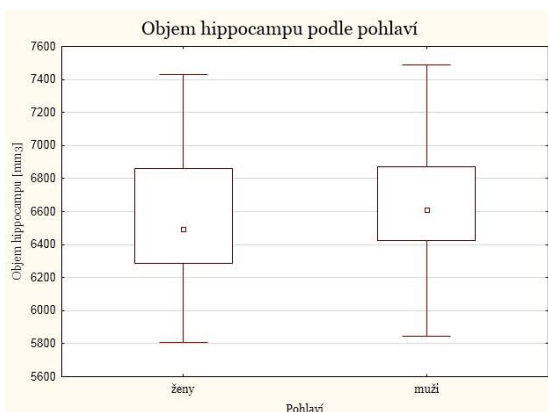
Postup:

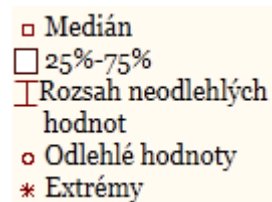
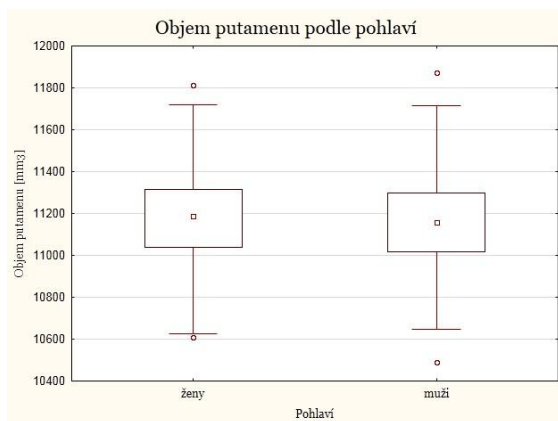
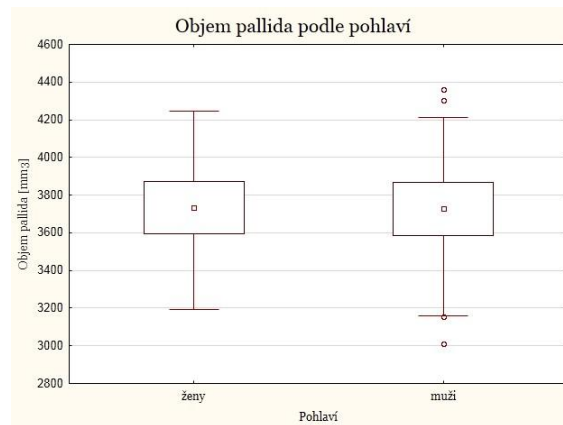
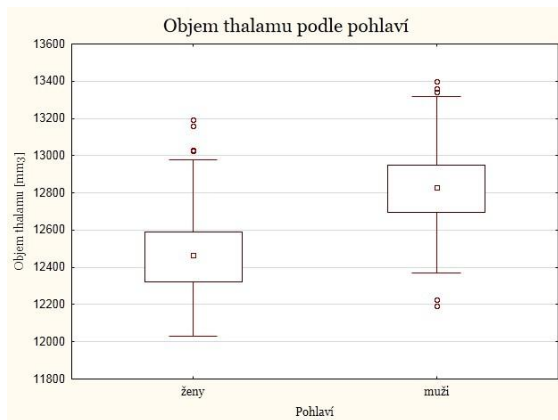
- ověření normality dat (vizuálně, Shapiro-Wilkův test):
 - A) Splněn předpoklad normálního rozdělení
 - Ověření homogenity rozptylů (F-test)
 - a) Shodné rozptyly – dvouvýběrový t-test
 - b) Odlišné rozptyly – Welchova korekce pro dvouvýběrový t-test
 - B) Nesplněn předpoklad normálního rozdělení
 - Ověření předpokladu pro stejné pravděpodobnostní rozdělení
 - a) Splněno – Mannův-Whitneyho test
 - b) Nesplněno – Kolmogorovův-Smirnovův test

U objemu hippocampu nebyl splněn předpoklad normality, proto jsme použili neparametrický test pro dva výběry – **Mannův-Whitneyho test**.

	p-hodnota	Nulová hypotéza
Hippocampus	<0,001	zamítáme
Amygdala	0,85	nezamítáme
Thalamus	<0,001	zamítáme
Pallidum	0,90	nezamítáme
Putamen	0,09	nezamítáme

U hippocampu a thalamu byla zamítnuta nulová hypotéza na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ve prospěch alternativní hypotézy.





Závěr:

Muži mají objemnější hippocampus a thalamus než ženy. Objem amygdaly, pallida a putamenu se u mužů a žen neliší.

4.2 Druhá hypotéza: Ověření, zda se liší objem mozkových struktur v závislosti na zařazení do skupiny (n = 817)

Nulová a alternativní hypotéza byla stanovena následovně:

H_0 : objem mozkové struktury se mezi skupinami neliší

H_1 : alespoň u jedné skupiny pacientů se objem mozkové struktury liší

Testování bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha=0,05$. Srovnány byly skupiny pacientů: CN ($n_1 = 221$) x MCI ($n_2 = 400$) x AD ($n_3 = 196$).

Postup:

A) Analýza rozptylu (ANOVA) – nutné podmínky:

- i. Nezávislost pozorovaných hodnot
 - ii. Normalita dat (vizuální ověření, Shapirův-Wilkův test)
 - iii. Homogenita rozptylů – Brownův-Forsythův test
- a) Zamítnutí hypotézy o shodě středních hodnot → Scheffého test
b) Nezamítnutí hypotézy o shodě středních hodnot

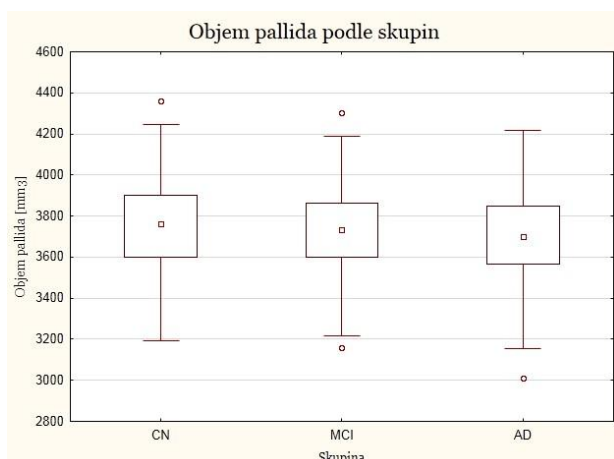
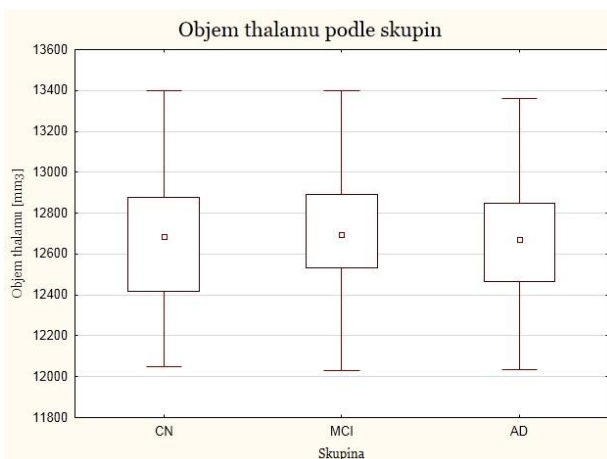
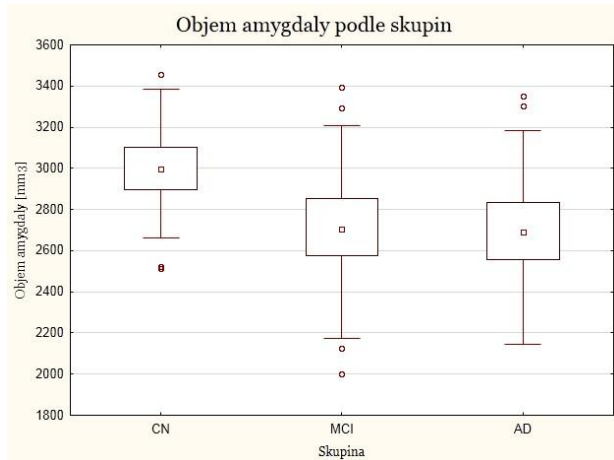
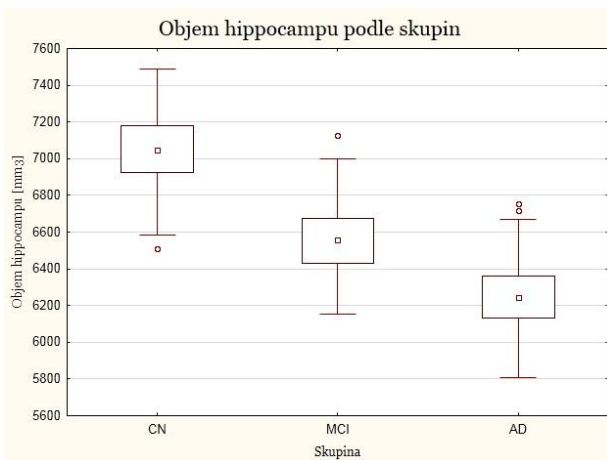
B) Kruskalův-Wallisův test (neparametrická alternativa analýzy rozptylu v případě nesplnění některého z předpokladů uvedených výše)

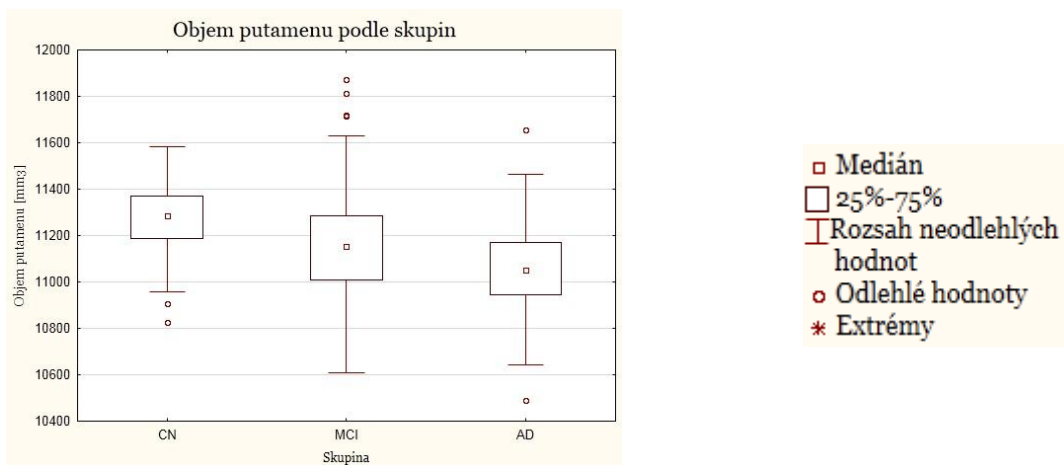
- a) Zamítnutí hypotézy, že všechny výběry pocházejí z téhož rozdělení → metoda mnohonásobného porovnávání
- b) Nezamítnutí hypotézy, že všechny výběry pocházejí z téhož rozdělení

U thalamu byl zamítnut předpoklad o normalitě dat u skupiny kontrolních jedinců a u amygdaly, thalamu a putamenu byl zamítnut předpoklad o homogenitě rozptylů, proto jsme se rozhodli k testování použít neparametrický **Kruskalův-Wallisův test**.

	p-hodnota	Nulová hypotéza
Hippocampus	< 0,001	zamítáme
Amygdala	< 0,001	zamítáme
Thalamus	0,24	nezamítáme
Pallidum	0,11	nezamítáme
Putamen	< 0,001	zamítáme

U hippocampu, amygdaly a putamenu byla zamítnuta nulová hypotéza na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ve prospěch alternativní hypotézy. Metoda mnohonásobného porovnávání ukázala, že objem hippocampu a putamenu se liší ve všech skupinách, zatímco u amygdaly se liší objem pouze mezi CN-MCI a CN-AD.





Závěr:

Objem hippocampu a putamenu: CN > MCI > AD.
 Objem amygdaly: CN > MCI = AD.
 Objem thalamu a pallida se mezi skupinami pacientů neliší.

4.3 Třetí hypotéza: Ověření vztahu objemu jednotlivých mozkových struktur a MMSE skóre při přijetí do studie (n = 817)

Nulová a alternativní hypotéza byla stanovena následovně:

H_0 : veličiny jsou stochasticky nezávislé

H_1 : veličiny nejsou stochasticky nezávislé

Testování bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha=0,05$.

Postup:

Vypočetli jsme **Spearmanův korelační koeficient R_s**

$$r_s = 1 - \frac{6}{n(n^2 - 1)} \sum_{i=1}^n (R_i - Q_i)^2 ,$$

kde R_i značí pořadí náhodné veličiny X_i a Q_i pořadí náhodné veličiny Y_i , $i = 1, \dots, n$.

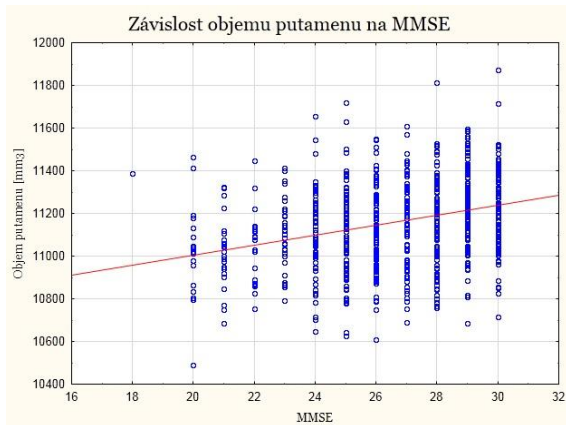
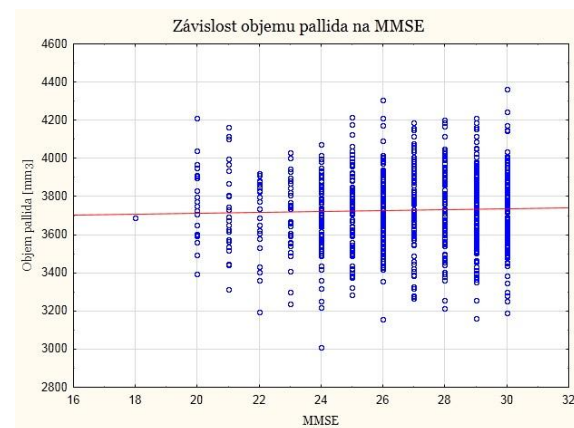
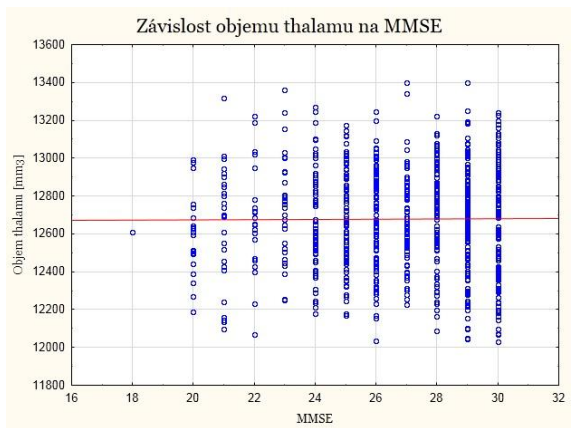
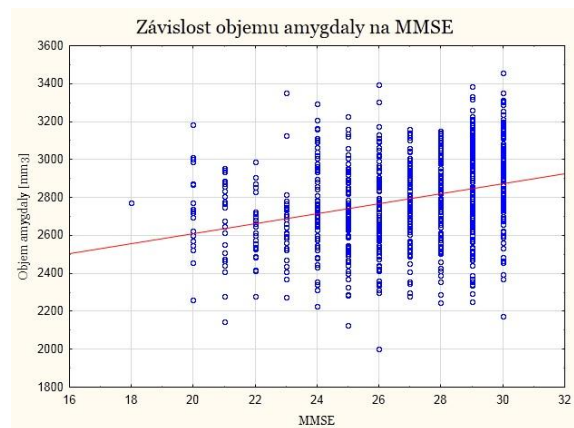
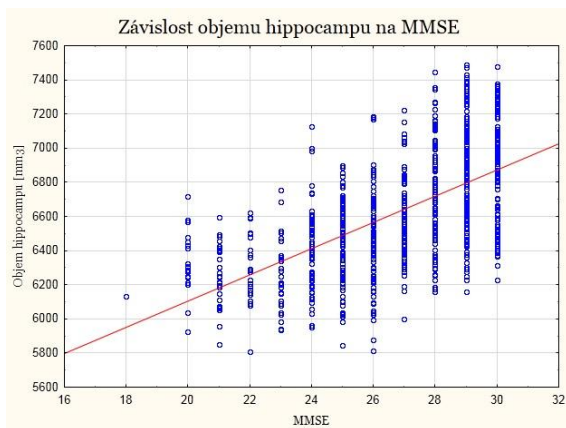
	Hippocampus	Amygdala	Thalamus	Pallidum	Putamen
MMSE	0,634	0,375	-0,005	-0,016	0,354

Získanou hodnotu r_s jsme dosadili do testové statistiky

$$T_0 = \frac{r_s \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r_s^2}} \approx t(n-2) .$$

	p-hodnota	Nulová hypotéza
Hippocampus	<0,001	zamítáme
Amygdala	<0,001	zamítáme
Thalamus	0,92	nezamítáme
Pallidum	0,74	nezamítáme
Putamen	<0,001	zamítáme

U hippocampu, amygdaly a putamenu byla zamítnuta nulová hypotéza na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ve prospěch alternativní hypotézy.



Závěr:

Čím je nižší objem hippocampu, amygdaly a putamenu, tím je nižší hodnota MMSE skóre. Objem thalamu a pallida s hodnotou MMSE skóre nesouvisí.

4.4 Čtvrtá hypotéza: Ověření odlišnosti změny MMSE skóre u pacientů s Alzheimerovou chorobou a zdravými jedinci (n=241)

Nulová a alternativní hypotéza byla stanovena následovně:

H_0 : změna MMSE skóre po 24 měsících se neliší u CN a AD

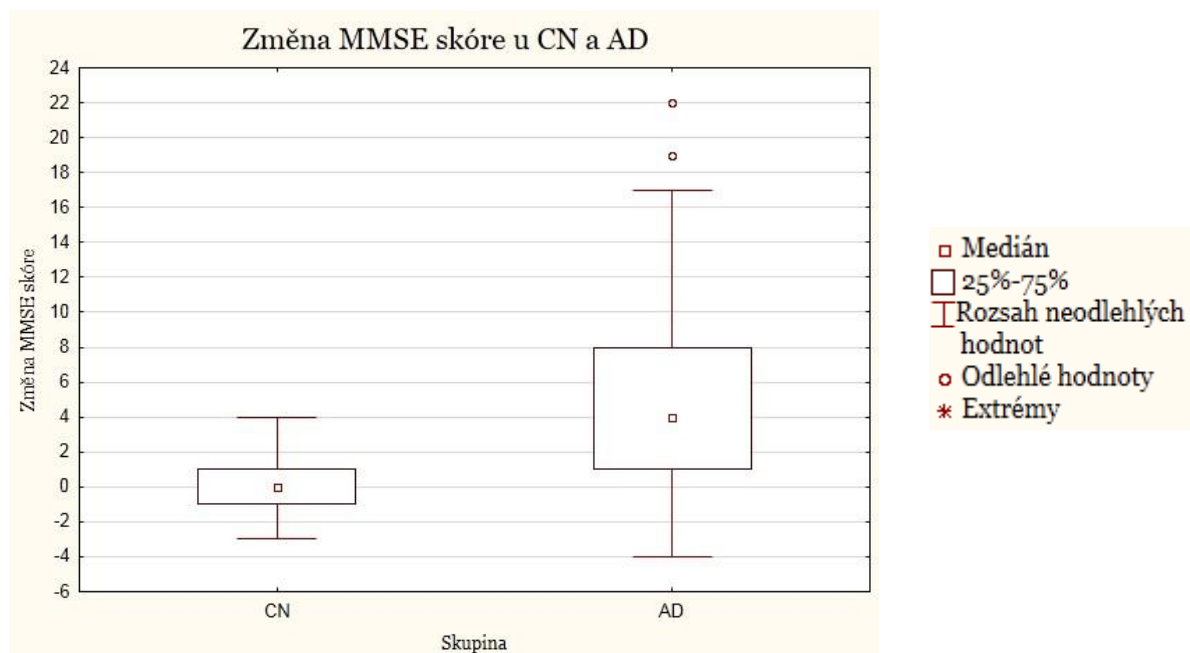
H_1 : změna MMSE skóre po 24 měsících se liší u CN a AD

Testování bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha=0,05$. Srovnávány byly změny MMSE skóre u skupin pacientů: CN (n = 145) x AD (n = 94).

Postup:

Zavedli jsme si novou proměnnou *změna MMSE* definovanou následovně:
změna MMSE skóre = *MMSE při přijetí do studie* – *MMSE po 24 měsících*.

Jelikož data nespĺňují předpoklady parametrického testu, použili jsme neparametrický **Mannův-Whitneyho test**. Sledovaná p-hodnota se realizovala hodnotou menší než 0,001, tedy jsme na hladině významnosti $\alpha=0,05$ zamítli nulovou hypotézu ve prospěch alternativní hypotézy.



Závěr:

U pacientů s AD je větší průměrný pokles MMSE skóre ($m = 5,03$; 95% IS: $\langle 3,87; 6,19 \rangle$) než u kontrolních jedinců ($m = 0,21$; 95% IS: $\langle 0,00; 0,41 \rangle$).

Závěr

Jako poslední bod naší práce by bylo vhodné doplnit statistický popis o to, co nám její výsledky říkají a jak (popř. jestli vůbec) se shodují s teoretickým pozadím problematiky neurodegenerativních onemocnění mozku. Nejprve si ale budeme muset uvést některé charakteristiky jednotlivých struktur mozku.

Stručný nástin funkcí částí mozku:

Hippocampus:

- Hraje významnou roli v procesu krátkodobého uchování informací a vzpomínek a v jejich přechodu do paměti dlouhodobé. Mimo to souvisí i s prostorovou orientací.

Amygdala:

- Zpracovává dovednosti, postupy a návyky. Úzce komunikuje s hippocampem. Amygdala je také střediskem emocí.

Putamen:

- Ovlivňuje různé typy učení, kupř. zpětnovazební, implicitní.

Thalamus:

- Podílí se na vegetativních funkcích a přenosech signálů z periferních receptorů do příslušných korových oblastí.

Pallidum:

- Je jedním z bazálních ganglií a spolu se subthalamem je součástí extrapyramidálního motorického systému. Ovládá tedy nevolní motorické funkce (jako jsou např. reflexy nebo koordinace v prostoru).

Nyní si rozdělme jednotlivé mozkové struktury do dvou skupin s pracovním označením skupina A a skupina B.

Skupina A:

- Skupina A zahrnuje mozkové struktury, které jsou právě u Alzheimerovy choroby nejvíce ovlivněny. Našimi daty jsme potvrdili odlišnost objemů těchto struktur u jednotlivých skupin pacientů i jejich vztah k MMSE skóre.

Skupina B:

- Skupina B obsahuje ty mozkové struktury, jejichž hlavní funkce nejsou Alzheimerovou chorobou výrazně ovlivněny. Naše data neprokázala, že by byl mezi jejich objemy a MMSE skóre nějaký vztah, ani že by u nich docházelo při nemoci k atrofii.

Podíváme-li se na výsledky našich hypotéz, konkrétně druhé a třetí, zjistíme, že do skupiny A se řadí hippocampus, amygdala a putamen. Thalamus a pallidum spadají do skupiny B.

Ve druhé hypotéze se zabýváme tím, zda se liší objem mozkových struktur v závislosti na zařazení pacienta do skupiny, a ve třetí hypotéze tím, zda se liší objem jednotlivých mozkových struktur v závislosti na MMSE skóre při přijetí pacienta do studie. Pokud se nad tím hlouběji zamyslíme, měly by obě tyto hypotézy ukázat závislost mezi stejnými mozkovými strukturami, protože zařazení pacienta do skupiny se odvíjí od výsledku MMSE skóre při jeho přijetí do studie. Nyní přirozeně vyvstává otázka, jestli se dá opodstatnit

závislost MMSE skóre a jednotlivých struktur mozku fyziologickými znalostmi dané problematiky.

Při podrobnějším pohledu na MMSE skóre zjistíme, že atrofování nebo nějaká dysfunkce hippocampu, amygdaly a putamenu by se měla výrazně projevit na výsledku testu. Jak již bylo řečeno, hippocampus slouží ke krátkodobému uchování informací. V rámci testu pro stanovení hodnoty MMSE skóre se například po pacientovi požaduje krátkodobé zapamatování a vybavení si několika slov. Správná činnost hippocampu je tedy třeba. Amygdala pomáhá hippocampu a zároveň pomáhá s některými psychickými úkony, které se v testu také vyskytují. Putamen kupříkladu zprostředkovává zpětnou vazbu, tedy když je pacientovi řečeno (případně písemně sděleno na papíře), aby nějaký úkon provedl, musí tato informace přejít přes putamen a být zde zpracována.

Na druhou stranu role thalamu a pallida by neměla být přímo propojena s hodnotou MMSE skóre. Thalamus slouží jako převodník signálů a má vliv na vegetativní funkce organismu a pallidum hraje roli v motorice. Jejich vliv na psychické funkce (které jsou zkoumány v testu) je tedy menší než vliv předchozích tří.

Roli samozřejmě hrají i různé další funkce zmíněných struktur, které zde ale pro zjednodušení nezmiňujeme.

Ve stručnosti se ještě podíváme na závěr první a čtvrté hypotézy a na srovnání s fyziologickými skutečnostmi. K první hypotéze nemáme žádný rozumný podklad, proč by se měly objemy struktur lišit v závislosti na pohlaví. Čtvrtá hypotéza je na druhou stranu víceméně logická. Když totiž nějaká struktura funguje špatně, bude v budoucnu hůře využívána čili méně trénována. Snížení tréninku bude mít za následek další zhoršení funkce. Zde se kruh typu pozitivní zpětné vazby uzavírá a následuje opět pokles tréninku. Toto zde uvádíme jako důvod, proč se stav pacientů s AD zhoršuje s uplynulým časem více než u kontrolních jedinců.

Závěrem je třeba ještě zmínit, že naše testování bylo provedeno na mužích i ženách společně. Vzhledem k tomu, že ženy a muži podle výsledku první hypotézy nemají stejný objem některých mozkových struktur a že poměrné zastoupení pohlaví není u všech skupin pacientů stejné, bylo by korektní provést všechny testy zvlášť na mužích a ženách. Tuto variantu si dovolíme ponechat jako motivaci pro další potenciální práci.

Používané zkratky

AD	Alzheimerova choroba
CN	kontrolní jedinci
IS	interval spolehlivosti
MCI	mírná kognitivní porucha
MMSE	Mini-Mental State Examination
SD	směrodatná odchylka

Literatura

Budíková, Marie – Lerch, Tomáš – Mikoláš, Štěpán: Základní statistické metody. První dotisk prvního vydání. Brno : Masarykova univerzita, 2009. 180 s. ISBN 978-80-210-3886-8

Pavlík, Tomáš – Dušek, Ladislav: Biostatistika. První vydání. Brno : Akademické nakladatelství CERM, s.r.o., 2012. 131 s. ISBN 978-80-7204-782-6

Internetové zdroje:

- URL 1: <http://www.alzheimer.cz/>
URL 2: <http://www.medicabaze.cz/>
URL 3: <http://www.wikipedia.org/>