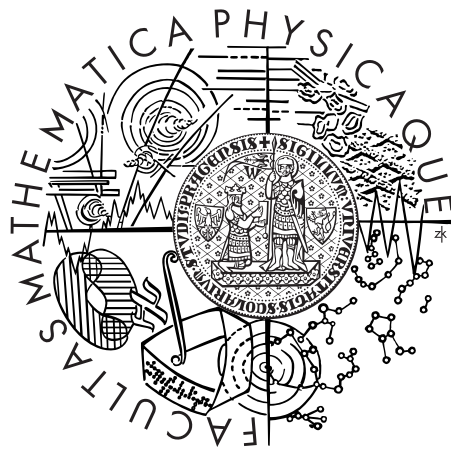


Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta

DIPLOMOVÁ PRÁCE



Dita Wagnerová

Metabolický profil lidského mozku in vivo v obraze a spektru

Oddělení magnetické rezonance ZRIR IKEM

Vedoucí diplomové práce: Ing. Milan Hájek, DrSc.

Studijní program: Biofyzika a chemická fyzika

Děkuji především svému školiteli Ing. Milanu Hájkovi, DrSc. za všestrannou pomoc při vypracování mé diplomové práce, kolegům Mgr. Filipovi Jírů, Ph.D. a MUDr. Antonínovi Škochovi, Ph.D. za trpělivost a cenné rady při vysvětlování problematiky MR spektroskopie a Mgr. Monice Dezortové, Ph.D. za pomoc s vyšetřováním pacientů a dobrovolníků.

Mé poděkování také patří všem dobrovolníkům, kteří se této studii zúčastnili, jmenovitě Evě, Lence, Radce, Míše, Honzovi, Mirkovi, Ondrovi, Lucasovi, Erikovi a Pavlovi.

V neposlední řadě bych také ráda poděkovala své rodině za podporu při studiu a při sepisování této práce.

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci napsala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů. Souhlasím se zapůjčováním práce.

V Praze dne 23. července 2007

Dita Wagnerová

Obsah

Abstrakt	1
Přehled použitých zkratk a symbolů	2
1 Úvod	4
2 Teoretická část	6
2.1 Teoretický popis NMR	6
2.1.1 Larmorova precese	6
2.1.2 Popis teorie NMR	6
2.1.3 Vektor magnetizace a Blochovy rovnice	7
2.1.4 Sekvence spinového echa	9
2.1.5 Sekvence stimulovaného echa	10
2.2 NMR spektroskopie	10
2.2.1 Chemický posun	10
2.2.2 J-interakce	11
2.2.3 Získání spekter	11
2.2.4 Lokalizace spekter	12
2.2.5 Zpracování spekter	15
2.3 Program CULICH a LCModel	16
2.3.1 Předzpracování CSI dat - CSI Preprocessing	16
2.3.2 Filtrování k-prostoru	16
2.3.3 Rekonstrukce CSI dat	16
2.3.4 LCModel	17
2.3.5 CSI Postprocessing	19
2.3.6 Metabolické mapy	21
2.4 MR zobrazování	21
2.4.1 2D MR obrazy	22
2.4.2 3D MR obrazy - MPRAGE	24
2.5 Difuzní MR zobrazování	26
2.5.1 Difuze a její využití v MR	26
2.5.2 Difuzně vážené zobrazování	27
2.6 Metabolismus a difuzní vlastnosti tumorů	29
3 Experimentální část	32
3.1 Použitá zařízení	32
3.2 Měření opakovatelnosti a reprodukovatelnosti na 1.5T a 3T	32
3.2.1 Postup při měření	32
3.2.2 Vyšetřovací protokol na 1.5T a 3T tomografu	33
3.2.3 Doba vyšetření na 1.5 T	36
3.2.4 Doba vyšetření na 3 T	36

3.2.5	Zpracování naměřených dat	36
3.3	Měření dobrovolníků a pacientů pro získání korelace mezi [Cho] a Tr_{ADC}	37
3.3.1	Vyšetřování dobrovolníků	37
3.3.2	Vyšetřování pacientů	38
3.4	Vyšetřovací algoritmus	39
3.4.1	Klasické MR obrazy	39
3.4.2	MR obrazy naměřené sekvencí MPRAGE	39
3.4.3	Spektroskopické zobrazování	40
3.4.4	Difuzní obrazy	40
3.4.5	Doba vyšetření	40
3.5	Zpracování naměřených dat	41
4	Výsledky	42
4.1	Opakovatelnost a reprodukovatelnost dat na 1.5T a 3T	42
4.2	Program KORELACE	48
4.3	Zdraví dobrovolníci	52
4.3.1	Korelace mezi koncentrací cholinu a stopy difuze	52
4.3.2	Hodnoty [Cho] a Tr_{ADC} v bílé a šedé hmotě a mozkomíšním moku u dobrovolníků	54
4.4	Pacienti s tumorem	56
4.5	Simulace	59
4.5.1	Simulace 1	59
4.5.2	Simulace 2	60
4.5.3	Simulace 3	62
4.5.4	Simulace 4	64
4.5.5	Simulace 5	64
5	Diskuse	66
5.1	Opakovatelnost a reprodukovatelnost dat v magnetickém poli 1.5T a 3T	66
5.1.1	Bílá hmota v oblasti parieto-occipitální	66
5.1.2	Oblast hippocampů	67
5.1.3	Šedá hmota v oblasti předního laloku	68
5.2	Korelace mezi koncentrací cholinu a stopou difuzního tenzoru	69
5.2.1	Zdraví dobrovolníci	69
5.2.2	Pacienti s tumorem	72
5.2.3	Simulace	73
6	Závěr	75
	Literatura	77

Název práce: *Metabolický profil lidského mozku in vivo v obraze a spektru*

Autor: *Dita Wagnerová*

Katedra (ústav): *MR ZRIR IKEM*

Vedoucí diplomové práce: *Ing. Milan Hájek, DrSc.*

e-mail vedoucího: *miha@medicon.cz*

Abstrakt: Zobrazovací a spektroskopické metody magnetické rezonance se staly užitečným nástrojem pro sledování metabolismu v lidském mozku. Tato práce se zabývá opakovatelností a reprodukovatelností spektroskopických dat měřených na 1.5T a 3T tomografu a vývojem a testováním nové metody, která by u pacientů postižených tumorem mozku byla schopna oddělit patologenní tkáň od zdravé pomocí kombinace informací z klasických MR obrazů, difuzních obrazů a spektroskopických map.

Vyhodnocení opakovatelností a reprodukovatelností v bílé hmotě v oblasti parieto-occipitální, v oblasti hippokampů a v šedé hmotě v oblasti předního laloku neukázala významné rozdíly v přesnosti měření mezi oběma typy tomografů, ale bylo prokázáno významné zvýšení poměru signál/šum u 3T tomografu.

Součástí práce bylo vytvoření programu KORELACE, který zpracovává data ze spektroskopických a difuzních map metodou "pixel po pixelu" u jednotlivých subjektů. Byla prokázána existence statisticky významné inverzní korelace mezi koncentrací cholinových sloučenin a stopou difuzního tenzoru v glioblastomech a zároveň vyloučena v oblasti zdravé tkáně u dobrovolníků. Existenci této korelace lze využít ke zjištění okrajů tumoru u jednotlivých pacientů a lze tak automaticky identifikovat oblasti zdravé tkáně. Simulace potvrdily vliv partial volume efektu na zkoumanou korelaci, ale dokázaly, že samotná korelace je podmíněna pouze vlastnostmi tumoru.

Klíčová slova: MR spektroskopie, difuze, tumory

Title: *Metabolic profile of human brain in vivo in MR image and spectrum*

Author: *Dita Wagnerová*

Department: *MR ZRIR IKEM*

Supervisor: *Ing. Milan Hájek, DrSc.*

Supervisor's e-mail address: *miha@medicon.cz*

Abstract: Magnetic resonance imaging and spectroscopic imaging have proven to be useful to monitor a metabolism in the human brain. The thesis is concerned to repeatability and reproducibility of spectroscopic data measured on 1.5T and 3T scanners and to the development of a new method enabling the separation of pathologic and healthy tissues in patients with brain tumor using the combination of MR spectroscopic and diffusion measurements.

Evaluation of repeatability and reproducibility in white matter in the parieto-occipital region, in the hippocampus and in gray matter in the frontal lobe did not show significant differences in accuracy of measurements on 1.5T and 3T scanners, but showed a significant increase of signal-to-noise ratio on 3T

As a part of the thesis a program KORELACE has been developed. The program enables the evaluation of spectroscopic and diffusion data on the "pixel-by-pixel" basis in individual subjects. The existence of a statistically significant inverse correlation between the concentrations of choline and the diffusion trace values has been proven in glioblastoma, but no significant correlation has been found in a healthy tissue in volunteers. The correlation can be used to characterize borders of brain tumors and to identify the healthy tissue. Simulations confirmed the influence of partial volume effect to the observed correlation, but also proved that the existence of the inverse correlation is given by the changes in tumors.

Keywords: MR spectroscopy, diffusion, tumor

Přehled použitých zkratk a symbolů

NMR	Nukleární Magnetická Rezonance (Nuclear Magnetic Resonance)
^1H MRS	Protonová MR Spektroskopie (Proton Magnetic Resonance Spectroscopy)
SVS	Single Voxel Spektroskopie (Single Voxel Spectroscopy)
SI, CSI	Spektroskopické zobrazování (Spectroscopic Imaging, Chemical Shift Imaging)
MRI	MR zobrazování (Magnetic Resonance Imaging)
DWI	Difuzně-vážené zobrazování (Diffusion Weighted Imaging)
DTI	Difuzní tenzorové zobrazování (Diffusion Tensor Imaging)
RF	Radiofrekvenční pole (Radiofrequency field)
TE	Echo čas (Echo Time)
TR	Repetiční čas (Repetition Time)
TM	Směšovací čas (Mixing Time)
SE	Spinové Echo (Spin Echo)
STE	Stimulované Echo (Stimulated Echo)
GE	Gradientní echo (Gradient Echo)
FT	Fourierova Transformace (Fourier Transform)
DFT	Diskrétní Fourierova Transformace (Discrete Fourier Transform)
FoV	Měřená oblast (Field of View)
VOI	Oblast zájmu (Volume of Interest)
OVS	Potlačení signálu okolních oblastí (Outer-Volume Suppression)
PRESS	Point Resolved Spectroscopy
STEAM	Stimulated Echo Acquisition Mode
2D PRESS-CSI	2D Point Resolved Spectroscopy - Chemical Shift Imaging
MPRAGE	Magnetization Prepared Rapid Acquired Gradient Echo
EPI	Echo-Planar Imaging
PSF	Funkce bodového rozptylu (Point Spread Function)
FID	Signál volné precese (Free Induction Decay)
SNR	Poměr signál/šum (Signal-to-Noise Ratio)
ADC	Difuzní koeficient (Apparent Diffusion Coefficient)
CBV	Krevní objem mozku (Cerebral Blood Volume)
CSF	Mozkomíšní mok (Cerebrospinal Fluid)
GM	Šedá hmota (Grey Matter)
WM	Bílá hmota (White Matter)
CSA	Artefakt chemického posunu (Chemical Shift Artifact)
CRB	Cramer-Rao bound
Cr	Kreatin (Creatine)
Cho	Cholin (Choline)
NAA	N-Acetyl Aspartát (N-Acetyl Aspartate)

Lac	Laktát (Lactate)
Tau	Taurin (Taurine)
Glu	Kyselina glutamová (Glutamic acid)
Gln	Glutamin (Glutamine)
Ins	Inositol (Inositol)
GABA	Kyselina γ -aminomáselná (γ -aminobutyric acid)
NAAG	N-Acetyl Aspartyl Glutamát (N-acetyl Aspartatyl Glutamate)
P_i	Fosfát

B_0	Homogenní magnetické pole
B_1	Kruhově polarizované magnetické pole
G_x, G_y, G_z	Gradienty magnetického pole
G_s	Gradienty magnetického pole pro výběr vrstvy
G_p	Gradienty magnetického pole ve směru fázového kódování
G_r	Gradienty magnetického pole ve směru frekvenčního kódování
M	Vektor magnetizace
S	Integrální intenzita
T_1	Spin-mřížková relaxační doba
T_2	Spin-spinová relaxační doba
γ	Gyromagnetický poměr
ω	Larmorova frekvence v laboratorní vztažné soustavě
Ω	Larmorova frekvence v rotující vztažné soustavě
$[X]$	Koncentrace metabolitu X
Tr_{ADC}	Stopa difuzního tenzoru
\perp	Kolmé
\parallel	Rovnoběžné

1 Úvod

Jaderná magnetická rezonance je neinvazivní radiologická zobrazovací metoda, která je schopna odhalit patologie v lidských tkáních. Od doby, kdy v roce 1939 I. I. Rabi se svými spolupracovníky poprvé provedl úspěšný experiment magnetické rezonance jader v molekulárním svazku [1], prošla tato metoda značným vývojem. Jev jaderné magnetické rezonance na vzorku v kondenzovaném stavu byl poprvé pozorován v roce 1946 Blochem, Hansenem a Packardem na vodíkových jádrech ve vodě a nezávisle také Purcellem, Torreyem a Poundem na vodíkových jádrech v pevném parafínu. Blochovi a Purcellemu byla následně udělena Nobelova cena za fyziku za první pokusy s magnetickou rezonancí. Nejprve byla tato metoda používána především ke studiu magnetických momentů a energetických přechodů jader, později ke studiu struktury a chemického složení látek pomocí jejich spekter. Od 70. let minulého století, kdy přišel R. V. Damanian s myšlenkou využití jaderné magnetické rezonance pro diagnostické účely a P. Lauterbur zveřejnil první obrazy, je tato metoda široce využívána hlavně v medicíně. O přínosu tohoto objevu pro medicínu svědčí i udělení Nobelovy ceny za medicínu P. Lauterburovi a Sir P. Mansfieldovi v roce 2003 za výzkum v oblasti zobrazování za pomoci magnetické rezonance. Od konce 80. let se také začala rozvíjet MR spektroskopie, která slouží k určování koncentrací metabolitů v měřeném vzorku tkáně. Mnoho patologií se vyznačuje změněným metabolismem buněk, přičemž tato metoda je schopna tyto změny zaznamenat. I přes svou nízkou citlivost, z důvodu nízké koncentrace metabolitů v pozorované tkáni, a vyšší časovou náročnost si ^1H MRS vydobila své místo ve výzkumu i v klinické praxi samotné.

V MR spektroskopii lze měřit spektra dvěma metodami. První metodou je Single-Voxel Spektroskopie (SVS), při níž se měří spektra z jedné lokalizované oblasti. Druhou metodou je měření spekter z několika oblastí najednou, tzv. Spektroskopický Imaging (SI) nebo Chemical Shift Imaging (CSI). Metodou SI jsme schopni získat informace o prostorovém rozložení a případných změnách v koncentracích jednotlivých metabolitů, což je důležité zejména při lokalizaci lézí ve tkáních.

Oblasti postižené patologií mají nejen změněný metabolismus a tím i koncentrace jednotlivých látek, ale mění se i struktura membrán buněk a tím i kompaktnost tkání. Tyto změny lze zobrazit měřením difuzních obrazů (DWI) vody ve tkáních.

Protože každé měření má své výhody a nevýhody a poskytuje různou informaci, může kombinace několika různých měření přinést nový pohled na možný rozsah patologické oblasti.

Prvním cílem této práce bylo změřit a porovnat opakovatelnost a reprodukovatelnost spektroskopických dat měřených metodou SVS v několika významných oblastech mozku na 1.5T a 3T tomografu.

Druhým cílem pak bylo vyvinout novou metodu na zpracování MR dat měřených in vivo, kombinující informace z MR obrazu (MRI), metabolického obrazu

(CSI) a difuzního obrazu (DWI) lidského mozku a ověřit, zda existuje korelace mezi koncentrací metabolitů a hodnotou difuze v tumorozní tkáni jednoho pacienta. Získané výsledky by mohly podat důležitou informaci o stavu tkáně uvnitř i mimo oblast postiženou tumorem a pomoci odlišit nemocnou oblast od zdravé a mohly by se tak stát vodítkem pro chirurgy při případném operativním zákroku.

Tato práce je rozdělena do 5 hlavních kapitol. V **Teoretické části** jsou nejprve popsány základní principy nukleární magnetické rezonance, dále pak techniky měření a zpracování dat v in vivo MR spektroskopii, techniky klasického MR zobrazování a difuzního zobrazování a závěrem pak biochemické a difuzní vlastnosti lidských nádorů mozku.

V **Experimentální části** lze pak najít informace o použitých zařízeních, detailní popis vyšetřovacích algoritmů použitých jak pro účely zkoumání opakovatelností a reprodukovatelností dat, tak i korelací v tumorech a na konec pak způsoby zpracování naměřených dat.

Ve **Výsledcích** jsou nejprve v tabulkách uvedeny výsledky měření opakovatelností a reprodukovatelností dat ze 3 významných oblastí mozku. Dále je pak popsán program vyvinutý pro účely zpracování metabolických a difuzních obrazů tumorů a na konec pak získané výsledky dobrovolníků a pacientů a provedených simulací.

Získané informace z měření tumorů a opakovatelností a reprodukovatelností dat jsou pak diskutovány v kapitole **Diskuse** a shrnuty v kapitole **Závěr**.

2 Teoretická část

2.1 Teoretický popis NMR

2.1.1 Larmorova precese

Všechna atomová jádra obsahují neutrony a protony. Tyto elementární částice jsou charakteristické vnitřní vlastností vyplývající z kvantové mechaniky, tzv. spinem neboli spinovým momentem hybnosti \mathbf{S} . Mají také magnetický moment a jsou tedy schopny interagovat s magnetickým polem. Celkový jaderný spinový moment hybnosti \mathbf{I} a magnetický moment μ spolu úzce souvisí vztahem

$$\mu = \gamma \mathbf{I}, \quad (1)$$

kde γ je gyromagnetický poměr charakterizující jádro.

Spin v konstantním magnetickém poli není stálý, ale preceduje kolem osy rovnoběžné s vnějším magnetickým polem s frekvencí ω_0 . Tento pohyb lze znázornit jako pohyb po plášti kužele s osou rovnoběžnou s osou z . Frekvence precese ω_0 je nazývána Larmorovou frekvencí a je dána vztahem

$$\omega_0 = -\gamma \mathbf{B}_0 \quad (2)$$

Hamiltonián jaderného spinu ve stacionárním vnějším magnetickém poli \mathbf{B}_0 , orientovaném ve směru osy z laboratorního souřadného systému, je dán

$$H = -\gamma \hbar I_z B_0 = \hbar \omega_0 I_z, \quad (3)$$

kde γ je gyromagnetický poměr jádra, \hbar je Planckova konstanta a I_z je z -ová složka operátoru jaderného spinu, která může nabývat $2I + 1$ hodnot:

$$I_z = -I, -I + 1, \dots, I - 1, I \quad (4)$$

Existuje tedy $2I + 1$ energetických stavů jádra. Tento soubor energetických stavů se nazývá Zeemanův multiplet.

Přechody mezi energetickými hladinami jsou indukovány použitím přídavného, kruhově polarizovaného pole \mathbf{B}_1 . Toto pole je kolmé ke stacionárnímu magnetickému poli \mathbf{B}_0 a je mnohem slabší. K přechodům však dochází pouze v případě, že jádra jsou v rezonanci s oscilujícím magnetickým polem, tj. že úhlová frekvence pole \mathbf{B}_1 je rovna Larmorově frekvenci jader.

2.1.2 Popis teorie NMR

Teorii nukleární magnetické rezonance (NMR) lze popsat kvantově-mechanicky nebo klasicky.

Kvantová teorie důsledně popisuje spinový systém a přechody mezi jednotlivými energetickými hladinami, zároveň ale pro magnetické pole používá klasického popisu.

Námi zkoumaným systémem je nehomogenně rozložený soubor molekul a makromolekul, a tedy celý soubor spinů, které nejsou izolované. V tomto případě jsou spinový hamiltonián i vlnové funkce tohoto souboru značně komplikované a pro popis jevů v NMR experimentu je zapotřebí použít řadu aproximací [2].

Klasický popis je fenomenologickým popisem jevů magnetické rezonance, který spočívá v použití soustavy lineárních diferenciálních rovnic prvního řádu zvaných Blochovy rovnice. Jedná se o pohybové rovnice pro makroskopický vektor magnetizace \mathbf{M} daný souborem všech jader v měřené oblasti vzorku. Hlavní nevýhodou klasického popisu oproti kvantovému je nemožnost vyjádření všech spinových interakcí na mikroskopické úrovni. Například relaxační časy jsou zde zavedeny fenomenologicky. Jelikož však přesné stanovení těchto veličin není předmětem této práce, je dále používáno klasické přiblížení.

2.1.3 Vektor magnetizace a Blochovy rovnice

Vložíme-li vzorek do vnějšího statického magnetického pole \mathbf{B}_0 , vzniká vlivem anizotropního rozložení jaderných spinových polarizací v termodynamické rovnováze nenulový celkový magnetický moment [2] vyjádřený makroskopickým **vektorem magnetizace** \mathbf{M}_0 . Tato anizotropie je způsobena interakcí okolního molekulového prostředí (mřížky) se spinovým systémem. Pro vektor magnetizace platí:

$$\mathbf{M}_0 = \chi_{jad} \mathbf{B}_0, \quad (5)$$

kde χ_{jad} je **magnetická susceptibilita**. Je to makroskopická veličina, která zahrnuje mikroskopické příspěvky všech jaderných spinů ve vzorku, a je dána vzorcem

$$\chi_{jad} = \frac{\mu_0 N_V \hbar^2 \gamma^2 I(I+1)}{3k_B T}, \quad (6)$$

kde μ_0 je permeabilita vakua, N_V je počet jader na jednotku objemu, k_B je Boltzmannova konstanta a T je termodynamická teplota soustavy (viz [2]).

V termodynamické rovnováze má vektor magnetizace pouze podélnou složku (podél osy z), příčné složky se vlivem precese středuji. Působením proměnného pole \mathbf{B}_1 lze vektor magnetizace vychýlit z jeho rovnovážné polohy. Časový vývoj vektoru magnetizace v laboratorní soustavě je však v přítomnosti radiofrekvenčních pulzů v důsledku časové závislosti celkového vnějšího magnetického pole značně složitý. Pohybová rovnice magnetizace se zjednoduší přechodem do rotujícího souřadného systému s frekvencí ω_{ref} . V tomto systému pak spiny nerotují s frekvencí ω_0 , ale s novou frekvencí

$$\Omega = \omega_0 - \omega_{ref} \quad (7)$$

Pokud je tedy frekvence rotujícího souřadného systému shodná s Larmorovou frekvencí, pak je celkové vnější magnetické pole v daném místě časově nezávislé a je dáno pouze hodnotou pole \mathbf{B}_1 (vliv \mathbf{B}_0 je vyrušen).

Jak již bylo zmíněno, časový vývoj vektoru magnetizace je popsán fenomenologickými **Blochovými rovnicemi** ($\mathbf{z} \parallel \mathbf{B}_0$):

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_x - \frac{M_x}{T_2} \quad (8)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_y - \frac{M_y}{T_2} \quad (9)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_z - \frac{M_z - M_0}{T_1}, \quad (10)$$

kde \mathbf{B} je celkové lokální magnetické pole v rotující vztažné soustavě. Lokální znamená, že toto pole závisí na poloze daného jádra a jeho odlišnosti od makroskopického vnějšího pole odráží elektronovou strukturu [1]. Veličiny T_1 a T_2 jsou fenomenologicky zavedené konstanty charakterizující relaxační mechanismy ve studovaném spinovém systému, který má tendenci návratu do rovnovážného stavu. Konstanta T_1 se nazývá **podélná**, tj. **spin-mřížková relaxační doba** a vyjadřuje rychlost návratu podélné složky magnetizace ($\parallel \mathbf{B}_0$) do její rovnovážné hodnoty M_0 . Tato relaxace je způsobena interakcí (výměnou energie) mezi spinovým systémem a mřížkou. Konstanta T_2 se nazývá **příčná**, tj. **spin-spinová relaxační doba** a vyjadřuje rychlost ubývání příčné složky magnetizace ($\perp \mathbf{B}_0$), která je důsledkem spin-spinových interakcí uvnitř studovaného vzorku.

Jak již bylo popsáno, vychýlení magnetizace z její rovnovážné polohy je dosaženo aplikací **radiofrekvenčních (rf) pulzů**. Tyto rf pulzy jsou často velmi krátké, aby bylo možné během této doby zanedbat účinky relaxačních mechanismů. Samotné měření pak probíhá v době, kdy je rf pole \mathbf{B}_1 (s kruhovou frekvencí rovnou Larmorově frekvenci) vypnuto. Řešíme-li tedy Blochovy rovnice v rotující vztažné soustavě s rotací rovnou rotaci rf pole, je pole \mathbf{B}_1 konstantní a vektor magnetizace bude precedovat s úhlovou frekvencí γB_1 . Směr vektoru magnetizace po skončení rf pulzu závisí na délce a fázi aplikovaného sklápěcího rf pulzu. V našich experimentech se používají 2 druhy pulzů. Oba se aplikují ve směru osy x , ale liší se sklápěcím úhlem $\beta = \int \gamma B_1 dt$. Je to $\beta = \frac{\pi}{2}$ pulz, po jehož aplikaci vektor magnetizace leží kolmo k \mathbf{B}_0 i k \mathbf{B}_1 . Dále je to $\beta = \pi$ pulz, po kterém vektor magnetizace míří proti směru \mathbf{B}_0 .

Měřený signál po aplikaci rf pulzů se nazývá **signál volné precese** (FID). Z Blochových rovnic plyne, že úbytek velikosti příčné složky magnetizace po působení $\frac{\pi}{2}$ -pulzu je dán

$$M_{\perp}(t) = M_0 e^{-t/T_2} \quad (11)$$

Časová změna magnetizace generuje elektrické proudy v přijímací cívice. Detekovaný signál $s(t)$ při následné synchronní kvadraturní detekci má komplexní tvar

$$s(t) = n e^{-t/T_2} e^{i(\Omega_0 t + \phi)}, \quad (12)$$

kde n je úměrné počtu spinů, Ω_0 je Larmorova frekvence v rotujícím souřadném systému a ϕ je počáteční fáze.

Toto však platí pouze pro vzorek, který by byl tvořen spiny rotujícími zcela stejnou Larmorovou frekvencí a nacházel by se v dokonale homogenním poli. Ve skutečnosti je návrat magnetizace do rovnováhy rychlejší, protože nehomogenity magnetického pole mění Larmorovu frekvenci jednotlivých spinů a dochází tak k jejich rychlejšímu rozfázování. Signál ve skutečnosti ubývá s příčným relaxačním časem T_2^*

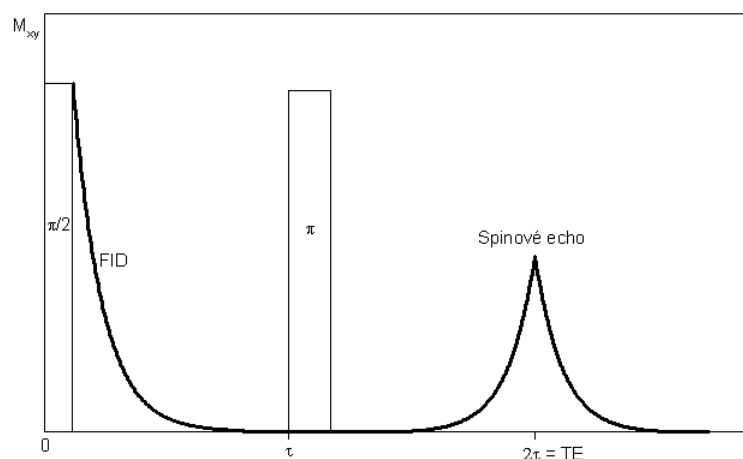
$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{nehomog}} \quad (13)$$

Pro vyloučení vlivu nehomogenit na příčný relaxační čas, a tím i na pološířku píku, se v praxi používá speciální kombinace několika pulzů za sebou, tzv. sekvence spinového a stimulovaného echa.

2.1.4 Sekvence spinového echa

Sekvence spinového echa obsahuje 2 pulzy. Nejprve se aplikuje $\frac{\pi}{2}$ -pulz a po přesně daném čase τ pak π -pulz. V čase $t = 2\tau$ se objeví nárůst signálu, tzv. **spinové echo**. Doba $TE = 2\tau$ se nazývá echo čas. Mechanismus vzniku spinového echa je založen na rozfázování spinů vlivem nehomogenit magnetického pole po sklopení do příčné roviny $\frac{\pi}{2}$ -pulzem a jejich opětovným zřázováním po aplikaci π -pulzu. Schématické znázornění tohoto mechanismu je na Obr.1. Velikost příčné magnetizace M_{\perp} v čase $t = TE$ je pak dána vzorcem

$$M_{\perp}(t = TE) = M_0 e^{-2\tau/T_2} = M_0 e^{-TE/T_2} \quad (14)$$



Obrázek 1: Sekvence spinového echa: časový vývoj příčné složky magnetizace M_{xy} po aplikaci jednotlivých pulzů.

2.1.5 Sekvence stimulovaného echa

Sekvence stimulovaného echa obsahuje celkem tři $\frac{\pi}{2}$ -pulzy. Aplikujeme-li v čase τ od 1. pulzu 2. pulz a 3. pulz pak v čase $\tau + TM$ (čas TM se nazývá mixing time), objeví se v čase $2\tau + TM$ signál tzv. **stimulovaného echa** [3]. Jeho časový vývoj je na rozdíl od spinového echa závislý také na podélném relaxačním čase (lze odvodit z Blochových rovnic [4]):

$$M_{\perp}(t = TM) \sim M_0 e^{-2\tau/T_2} e^{-TM/T_1} \quad (15)$$

Při této sekvenci ještě kromě stimulovaného echa vzniknou tři spinová echa modulovaná exponenciálním poklesem daným příčným relaxačním časem, stejně jako je tomu v sekvenci spinového echa. Tato echa vznikají jako důsledek zřázování spinů od každé kombinace dvojic pulzů, tj. od 1. a 2. pulzu, od 1. a 3. pulzu a od 2. a 3. pulzu. Jelikož však vznikají v jiných časech než stimulované echo, námi měřený signál neovlivňují.

2.2 NMR spektroskopie

V experimentech se ukazuje, že i Larmorovy frekvence stejných spinů (se stejným γ) se od sebe mírně liší. Interakce mezi spiny totiž specifickým způsobem ovlivňují hodnotu externího magnetického pole \mathbf{B}_0 , a tak jsou protony v různých místech vzorku vystaveny různému lokálnímu magnetickému poli \mathbf{B}_{lok} . V biologických vzorcích se jedná především o chemický posun a J-interakci. Dipól-dipólová interakce se zde středuje k nule.

2.2.1 Chemický posun

Chemický posun v NMR spektroskopii představuje hlavní kvalitativní rozlišení jednotlivých signálů jader. Elektronové obaly atomů částečně odstiňují vnější magnetické pole a jádra se tak nacházejí v lokálním magnetickém poli

$$B_{loc} = (1 - \sigma)B_0, \quad (16)$$

kde σ je tzv. **stínící konstanta**, která, jak již bylo řečeno, odráží chemické okolí protonu [5].

Larmorovy frekvence ω_k nekvivalentních protonů ve vzorku jsou pak dány

$$\omega_k = \gamma(1 - \sigma_k)B_0 \quad (17)$$

Jelikož je tedy změna Larmorovy frekvence závislá na velikosti statického pole \mathbf{B}_0 , zavádí se pro popis chemického okolí nezávislého na vnějším poli nová veličina, tzv. **chemický posun** δ :

$$\delta_k = \frac{\omega_k - \omega_{ST}}{\omega_{ST}} 10^6, \quad (18)$$

kde ω_{ST} je rezonanční frekvence standardu. Chemický posun se udává v jednotkách *ppm* (parts per milion).

Jako standardu se v *in vivo* ^1H NMR spektroskopii používá signál N-acetyl aspartátu s frekvencí $\omega_{NAA} = 2,01$ ppm.

2.2.2 J-interakce

J-interakce, neboli nepřímá spin-spinová interakce, je zprostředkována chemickými vazbami (elektrony) daných jader, a tak ovlivňuje rezonanční frekvence jader. Je charakteristická tím, že štěpí pouze signál pocházející od neekvivalentních jader na několik signálů, a to v rámci jedné molekuly. Je nezávislá na velikosti statického magnetického pole \mathbf{B}_0 . Počet multiplétů X vzniklých štěpením touto interakcí je v přiblížení spekter 1. řádu (štěpení řádově menší než rozdíl chemických posunů původních singletů) dán vzorcem

$$X = 2nI + 1, \quad (19)$$

kde n je počet neekvivalentních jader s kvantovým číslem I interagujících s daným jádrem.

2.2.3 Získání spekter

Jak bylo popsáno výše, reálný vzorek díky vzájemným interakcím obsahuje N druhů protonů s Larmorovými frekvencemi $\omega_1, \dots, \omega_N$ a příčnými relaxačními časy T_{21}, \dots, T_{2N} . Signál volné precese z rovnice (12) tedy přejde do tvaru

$$s(t) = \sum_{k=1}^N n_k e^{-t/T_{2k}} e^{i(\Omega_k t + \phi_k)}, \quad (20)$$

kde n_k je úměrné počtu spinů daného typu a ϕ_k značí jejich počáteční fázi.

Pro lepší interpretaci dat se často naměřený signál $s(t)$ převádí pomocí Fourierovy transformace (FT) z tzv. časové domény do frekvenční domény. Získaná závislost $s(\omega)$ se nazývá **spektrum** a díky linearitě FT má tvar součtu spektrálních křivek odpovídajících jednotlivým neekvivalentním protonům:

$$S(\omega) = \sum_{k=1}^N S_k(\omega) = \sum_{k=1}^N FT[n_k e^{-t/T_{2k}} e^{i(\Omega_k t + \phi_k)}](\omega) \quad (21)$$

Po integraci má tedy signál jednotlivých složek tvar

$$S_k(\omega) = n_k e^{i\phi_k} \frac{T_{2k}}{1 - i(\omega_k - \omega)T_{2k}} \quad (22)$$

Vyjádříme-li v této rovnici zvlášť reálnou a imaginární část, dostaneme

$$S_k(\omega) = n_k e^{i\phi_k} \left(\frac{T_{2k}}{1 + i(\omega_k - \omega)^2 T_{2k}^2} + i \frac{T_{2k}^2}{1 + i(\omega_k - \omega)^2 T_{2k}^2} \right) \quad (23)$$

Reálná složka odpovídá **absorpční Lorentzově křivce** a imaginární složka **disperzní Lorentzově křivce**. Pro účely NMR se používá absorpční Lorentzovy křivky, protože její pík je užší a také rychleji ubývá směrem k okrajům, což je výhodné především ve spektrech obsahujících více píků. Čistě absorpční křivky však získáme pouze, pokud ze vztahu (23) eliminujeme člen $e^{i\phi_k}$, a to vynásobením komplexně sdruženým členem. Toto nazýváme **fázovou korekcí**. Ta se při vyhodnocování spekter provádí ručně plynulou změnou hodnoty ϕ . Další možností je také pracovat s absolutní hodnotou spektra, čímž se fázové korekci vyhneme [6].

Z rovnice (23) vyplývají následující vlastnosti absorpční Lorentzovy křivky

- křivky nabývají maxima při $\omega = \omega_k$ a maxima jednotlivých píků mají hodnoty $n_k T_{2k}$
- pološířky píků jsou $\Delta\omega_{1/2} = \frac{2}{T_{2k}}$
- plochy pod křivkami, tzv. integrální intenzity S_k , jsou úměrné $n_k\pi$ a lze tedy z nich vypočítat koncentrace daných ekvivalentních protonů.

2.2.4 Lokalizace spekter

Pro klinickou praxi je nutné umět změřit spektra z předem definované oblasti tkáně. Důležitá je především schopnost tato spektra naměřit z malého objemu (tzv. voxelu), jehož polohu a velikost je možné nastavit pomocí předem naměřených MR obrazů. Lokalizovaná in vivo ^1H MR spektroskopie se dělí na spektroskopii z jednoho voxelu, tzv. Single Voxel Spektroskopii (SVS) a na měření spekter z více voxelů najednou, tzv. spektroskopické zobrazování (SI, CSI).

Single voxel spektroskopii [7] změříme spektrum z malého objemu daného průsečíkem tří na sebe kolmých rovin vyexcitovaných s použitím gradientů a radiofrekvenčních pulzů. Toho lze dosáhnout použitím sekvencí PRESS nebo STEAM, kdy selektivními pulzy excitujeme pouze část vzorku obsahující vybraný objem.

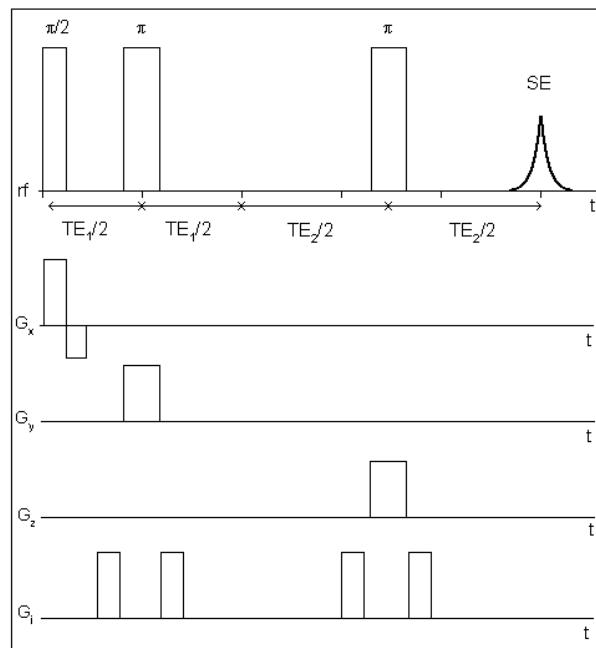
Spektroskopickým zobrazováním [8] změříme spektra z několika voxelů v dané vyexcitované vrstvě najednou a to postupnou změnou hodnot gradientů ve dvou na sebe kolmých směrech. Měření CSI lze provést např. pomocí sekvence 2D PRESS-CSI.

Ve všech uvedených sekvencích se k selekci používají radiofrekvenční pulzy, které mají pravoúhlý excitační frekvenční profil (nejčastěji sinc pulzy), čímž získáme již zmiňovaný pravoúhlý tvar excitovaného objemu.

PRESS (Point Resolved Spectroscopy) Základní schéma této metody je znázorněno v Obr. 2. K excitaci vybraného objemu se používá selektivních rf pulzů aplikovaných v přítomnosti gradientů magnetického pole. Signál, který v metodě PRESS měříme, je signál spinového echa (viz sekce 2.1.4). Tato sekvence obsahuje tři selektivní pulzy, jeden $\pi/2$ -pulz a dva π -pulzy. Společně s 1. rf pulzem je aplikován gradient \mathbf{G}_x ve směru osy x , čímž vyexcitujeme spiny ve vrstvě kolmé na tuto osu. Po čase $TE_1/2$ aplikujeme společně s 2. rf pulzem gradient \mathbf{G}_y ve směru osy y , čímž

excitujeme vrstvu kolmou na osu y . V oblasti průniku obou vrstev vzniká v čase TE_1 v důsledku zfázování spinů spinové echo. Toto echo se však neměří. V čase $TE_1 + TE_2/2$ aplikujeme společně s posledním rf pulzem gradient \mathbf{G}_z ve směru osy z , takže vrstva tímto vyexcitovaná je kolmá na obě vrstvy vyexcitované předešlými pulzy. V čase $TE_1 + TE_2$ dojde ke zfázování spinů ležících v průsečíku všech tří vyexcitovaných vrstev, a tak ke vzniku spinového echa z požadovaného objemu.

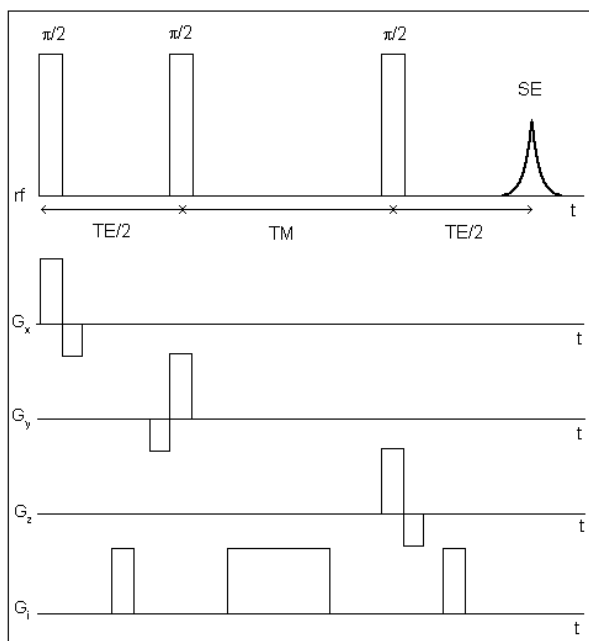
V sekvenci jsou kromě zmíněných rf pulzů a gradientů zapínány ještě dodatečné gradienty \mathbf{G}_i , které potlačují vznik možných nežádoucích signálů, podrobněji v [9]. Gradienty \mathbf{G}_i značí libovolný směr x, y, z .



Obrázek 2: Schéma sekvence PRESS

STEAM (Stimulated Echo Acquisition Mode) Základní schéma sekvence STEAM je zobrazeno na Obr. 3. Obdobně jako u sekvence PRESS i zde používáme k excitaci vybraného objemu tří selektivních rf pulzů s aplikací gradientů magnetického pole, měřený signál je však signál stimulovaného echa (viz sekce 2.1.5). Všechny tři rf pulzy jsou $\pi/2$ -pulzy. Společně s 1. rf pulzem aplikujeme gradient \mathbf{G}_x . V čase $TE/2$ je aplikován 2. rf pulz společně s gradientem \mathbf{G}_y . Magnetizace sklopená do longitudinální polohy následně relaxuje po dobu TM . V čase $TE/2 + TM$ je aplikován 3. rf pulz společně s gradientem \mathbf{G}_z . Za dobu $TE/2$ od posledního pulzu pak pozorujeme signál stimulovaného echa.

Obdobně jako u sekvence PRESS i zde jsou zapínány dodatečné gradienty magnetického pole pro optimalizaci této sekvence, podrobněji v [9].



Obrázek 3: Schéma sekvence STEAM

2D PRESS-CSI (2D Point Resolved Spectroscopy - Chemical Shift Imaging)

Základní schéma sekvence 2D PRESS-CSI pro měření transverzálních vrstev je zobrazeno na Obr. 4.

Výběr vrstvy, ze které chceme naměřit spektra, je zcela analogický jako v samotné sekvenci PRESS. Na rozdíl od sekvence PRESS je zde navíc po dobu τ aplikováno N ekvidistantně se měnících přídavných gradientů magnetického pole \mathbf{G} ve směru fázového kódování [3]. Pokud je v případě 1D-CSI zapnut gradient \mathbf{G}_x , precesní frekvence ω všech spinů se liší podél osy x ,

$$\omega(x) = \gamma x G, \quad (24)$$

což způsobí vznik prostorově závislého fázového posunu $\phi(x)$ na konci fázového kódování,

$$\phi(x) = -\gamma x G \tau, \quad (25)$$

kde x je pozice spinů podél osy x s uvážením středu gradientu v $x = 0$.

Zavedením veličiny k_l pro každou hodnotu gradientu G_l l -tého kroku fázového kódování

$$k_l = \frac{\gamma}{2\pi} G_l \tau = \frac{\gamma}{2\pi} l \Delta G \tau = -N/2 \dots N/2 - 1 \quad (26)$$

lze prostorově závislý fázový posun $\phi_l(x)$ odpovídající l -tému kroku fázového kódování zapsat jako

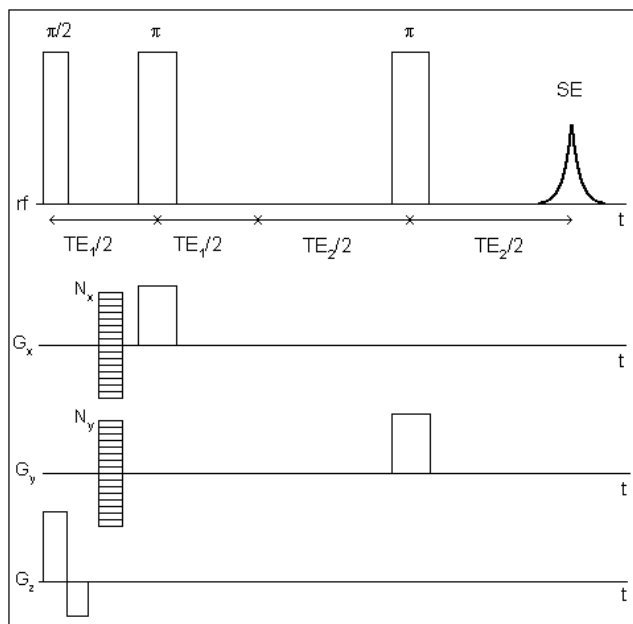
$$\phi_l(x) = -2\pi k_l x \quad (27)$$

Naměřený signál $S(t, k_l)$ je pak funkcí k_l

$$S(t, k_l) = \int_{\text{vzorek}} s(t, x) e^{-i2\pi k_l x} dx, \quad (28)$$

kde $s(t, x)$ jsou jednotlivé signály rozložené podél osy x .

V případě 2D-CSI dochází ke změně hodnot gradientů ve dvou na sebe kolmých směrech. Např. pokud měříme transverzální řezy a zároveň je $\mathbf{z} \parallel \mathbf{B}_0$, jedná se o gradienty \mathbf{G}_x a \mathbf{G}_y . Postupnou změnou hodnot těchto gradientů lze proměřit jednotlivé voxely v dané vybrané vrstvě, přičemž počet N_x a N_y opakování sekvence s různou hodnotou gradientu rozhoduje o počtu naměřených voxelů v rámci jedné CSI vrstvy. Podrobnosti lze najít např. v [3, 10].



Obrázek 4: Schéma sekvence 2D PRESS-CSI

Ve skutečnosti při měřeních CSI ještě této základní 2D PRESS-CSI sekvenci často předchází sekvence na potlačení signálů z okolních oblastí, tzv. Outer Volume Suppression (OVS) [3, 11, 12] a sekvence na potlačení signálu vody [13].

2.2.5 Zpracování spekter

Při kvantitativní analýze NMR signálu nás nejčastěji zajímá amplituda (resp. integrální intenzita) frekvence a relaxační časy T_2 . Pro zlepšení vlastností výsledného spektra se ještě před vlastní aplikací FT provádí s naměřenými daty různé operace. Na pracovišti, kde vznikla tato práce, se ke zpracování SVS dat používá komerčního programu LCModel. Analýza CSI dat je prováděna pomocí programu CULICH, který využívá zpracování dat programem LCModel. Podrobnější popis je uveden v následujících sekcích.

2.3 Program CULICH a LCModel

Zpracování CSI dat programem CULICH [14] obsahuje několik kroků. Před i po vlastní diskrétní Fourierově transformaci (DFT) je nutné ještě data upravit tak, aby co nejvíce odpovídala skutečné situaci. Stručný popis jednotlivých kroků je uveden níže, podrobnosti např. v [3, 10].

2.3.1 Předzpracování CSI dat - CSI Preprocessing

- **Doplnění nulami**

V 2D-CSI tento krok spočívá v připojování nul k naměřeným datům signálu $S(t, \mathbf{k}_{l,m})$ před FT a slouží k umělému zvětšení počtu naměřených voxelů, což zlepšuje rozlišení spektroskopických obrazů. Doplnění nulami představuje interpolační metodu, neovlivňuje PSF (Point Spread Function) [3], což vyplývá z vlastností FT [15], ani nemění prostorové rozlišení CSI experimentu.

- **Posun spektroskopické sítě**

Dalším krokem rekonstrukce dat pomocí FT je možnost dodatečného posunutí celé spektroskopické sítě, což plyne také z vlastností FT [15]. To je velice užitečné pro ovlivnění partial volume efektu (viz sekce 2.3.5) a také pro umístění oblasti zájmu do středu voxelu.

2.3.2 Filtrování k-prostoru

- **Apodizace**

Cílem apodizace neboli filtrování k-prostoru po náběru dat je zmírnit vliv PSF, která vzniká jako důsledek DFT, a tím snížit vliv nežádoucích příspěvků z okolních voxelů k měřenému signálu. Apodizace spočívá ve vynásobení naměřených dat v k-prostoru symetrickou funkcí, tzv. filtrem, který má maximum ve středu k-prostoru a mírně klesá k jeho okraji. Optimálním filtrem z pohledu snížení postranních satelitů PSF a co nejmenšího rozšíření hlavního píku je Hammingova funkce $w(l)$ (pro 1D) [16]

$$w(l) = 0.54 + 0.46 \cos\left(\frac{\pi l}{2l_{max}}\right), \quad (29)$$

kde l prochází přes N vzorkovacích hodnot a $l_{max} = N_{max}$.

2.3.3 Rekonstrukce CSI dat

V sekci 2.2.4 v oddílu 2D PRESS-CSI bylo naznačeno získání signálu pomocí 1D fázového kódování. Jak již bylo uvedeno, klasické 2D-CSI získáme pomocí fázového kódování ve dvou navzájem kolmých směrech. Naměřený časový signál $S(t, k_l, k_m)$ je pak funkcí dvou proměnných v k-prostoru k_l a k_m . Jelikož jsou hodnoty gradientů

měněny diskrétně, výsledný signál je získán pomocí DFT. Nejprve pomocí zpětné prostorové DFT získáme časový signál v reálném prostoru $S(t, x, y)$

$$S(t, x, y) = \frac{1}{N_x} \frac{1}{N_y} \sum_{l,m} S(t, k_l, k_m) w(k_l) w(k_m) e^{2\pi i(k_l x + k_m y)}, \quad (30)$$

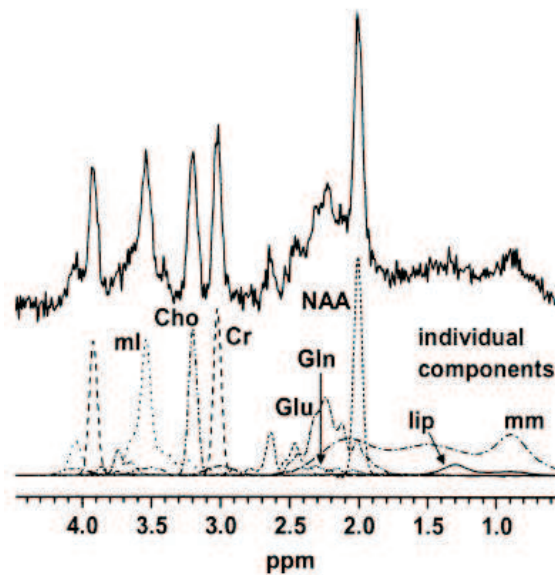
kde N_x , resp. N_y je počet inkrementů gradientu magnetického pole ve směru osy x , resp. osy y , $w(k_l)$, resp. $w(k_m)$ jsou filtrovací Hammingovy funkce ve směru osy x , resp. ve směru osy y , a k_l , resp. k_m je l -tý krok fázového kódování ve směru osy x , resp. m -tý krok ve směru osy y .

Provedeme-li následně časovou FT tohoto signálu $S(t, x, y)$ v časové doméně, získáme hledaný signál $S(\Omega, x, y)$ ve frekvenční doméně pro každý jednotlivý voxel.

2.3.4 LCModel

Určení signálů jednotlivých metabolitů a stanovení jejich absolutních koncentrací je důležité pro přesné srovnání a interpretaci výsledků. Tato kvantitativní analýza je prováděna programem LCModel [17]. Měřený signál je však ovlivněn mnoha faktory, s nimiž je nutné při výpočtu pracovat. Korekce na partial volume efekt (viz sekce 2.3.5) a na artefakt chemického posunu jsou stručně popsány v sekci 2.3.5. Podrobnější informace a popis ostatních korekcí lze najít např. v [10, 18, 19].

Fitování signálů jednotlivých metabolitů Program LCModel pracuje tak, že rozkládá změřená *in vivo* spektra na spektra jednotlivých metabolitů naměřených *in vitro*, která představují základní sadu spekter (viz Obr. 5).



Obrázek 5: Rozklad naměřeného spektra (nahore) na jednotlivé metabolity obsažené v základní sadě (dole). Obrázek převzat z [17].

Pro správný rozklad spektra je nezbytné, aby základní sada spekter (báze) obsahovala všechny metabolity pozorovatelné v *in vivo* spektru. Je tedy nutné vybrat správnou bázi odpovídající echo času měřící sekvence. Známé koncentrace *in vitro* spekter základní sady slouží jako referenční hodnoty pro výpočet koncentrací metabolitů v *in vivo* spektru. Pro účely výpočtu koncentrací se nejprve *in vivo* i *in vitro* data v časové doméně doplní nulami na dvojnásobný počet bodů a provede se FT. Diskrétní *in vivo* spektrum $S(\nu_k)$ je pak namodelováno pomocí základních setů metabolitů M_l jako (podle zvolené báze):

$$\hat{S}(\nu_k) = e^{-i(\phi_0 + \nu_k \phi_1)} \left[\sum_{j=1}^{N_B} \beta_j B_j(\nu_k) + \sum_{l=0}^{N_M} C_l \sum_{n=-N_S}^{N_S} L_n M_l(\nu_{k-n}, \gamma_1, \varepsilon_1) \right] \quad (31)$$

s podmínkami

$$C_l \geq 0 \quad (32)$$

$$\gamma_1 \geq 0 \quad (33)$$

$$\sum_{n=-N_S}^{N_S} L_n = 1, \quad (34)$$

kde C_l je koncentrace metabolitů N_M měřených *in vitro*, přičemž počet N_M závisí na zvolené bázi. Základní spektra $M_l(\nu, 0, 0)$ jsou upravena na relaxační časy T_2 v *in vivo* (γ_1) a posuny vůči referenčním spektrům (ε_1). Poslední suma v této rovnici představuje diskrétní konvoluci základních sad metabolitů M_l s koeficientem tvaru čáry L_n pro započtení nehomogenit a vířivých proudů (*angl. eddy currents*).

Základní sada metabolitů $M_l(\nu, \gamma_1, \varepsilon_1)$ s parametry γ_1 a ε_1 je spočtena z

$$M_l(\nu, \gamma_1, \varepsilon_1) = DFT\{m_l(t)e^{-t(\gamma_1 + i\varepsilon_1)}\}, \quad (35)$$

kde $m_l(t)$ je inverzní DFT modelového spektra $M_l(\nu, 0, 0)$.

V rovnici (31) je baselina spektra namodelována pomocí N_B kubických B-spline křivek (*angl. cubic B-splines*) β_j s rovnoměrně rozloženými uzly. ϕ_0 a ϕ_1 představují nultý a první řád fázových korekcí.

Parametry modelu jsou odhadnuty Marquardovou modifikací Gaussovy-Newtonovy metody nejmenších čtverců

$$\frac{1}{\sigma^2(S)} \sum_{k=1}^N \{Re[\hat{S}(\nu_k) - S(\nu_k)]\}^2 + T = \text{minimum}, \quad (36)$$

kde T je parametr obsahující příspěvky pro hladkost a nulové okrajové podmínky na koeficienty tvaru fitu a na hladkost baseliny.

Ke spočteným koncentracím jednotlivých metabolitů jsou metodou Cramer-Rao bounds odhadnuty i chyby stanovení těchto koncentrací. Jedná se o nejmenší možnou standardní odchylku všech parametrů modelu spektra, které jsou vypočteny na základě znalosti modelu použitého pro fitování dat.

Škálování základní sady metabolitů a změřeného *in vivo* spektra je vykonáno automaticky LCModelem podle objemu voxelu a odpovídajícího napětí neselektivního $\pi/2$ -pulzu.

Stanovení absolutních koncentrací jednotlivých metabolitů Stanovení absolutních koncentrací metabolitů z nařizovaného spektra vychází z předpokladu úměrnosti mezi koncentrací metabolitů (související s magnetizací) a detekovaným signálem. Počáteční informace o koncentracích C_{st} kalibračních standardů a objemu voxelu V_{st} , ze kterého jsou signály standardů měřeny, lze tedy využít pro výpočet koncentrací C_{met} metabolitů ze spektra naměřeného z objemu V_{met} . Z rovnice

$$\frac{S_{met}}{N_{met}V_{met}C_{met}} = \frac{S_{st}}{N_{st}V_{st}C_{st}} \quad (37)$$

tedy dostáváme

$$C_{met} = \frac{S_{met}^{cor} N_{st} V_{st}}{S_{st}^{cor} N_{met} V_{met}} C_{st}, \quad (38)$$

kde S_{met} je signál od příslušného metabolitu, S_{st} je signál nakalibrovaných standardů o známé koncentraci C_{st} a N_{met} a N_{st} je počet protonů v molekule přispívající k signálu. Index *cor* značí, že pro výpočty absolutních koncentrací metabolitů je nutné pracovat se signálem upraveným různými korekcemi:

$$S^{cor}(l, m) = \frac{S(l, m)}{f_1 \cdot f_2 \cdots f_n}, \quad (39)$$

kde f_i jsou prováděné korekce a (l, m) značí pozici daného voxelu ve spektroskopické síti. Podrobnosti lze najít v [10].

2.3.5 CSI Postprocessing

- **Korekce na artefakt chemického posunu (Chemical Shift Artefact)**

Pokud se v excitovaném objemu vyskytuje několik metabolitů s různým chemickým posunem, a tedy s různou rezonanční frekvencí, jsou pak tyto spiny excitovány na různých pozicích. V případě platnosti aproximace $\sigma_i \ll 1$ (σ_i je stínící konstanta) je posun d_i (ve směru rovnoběžném s aplikovaným gradientem G) vrstvy excitované pro metabolit i vzhledem k pozici vrstvy pro spiny rezonující na excitační frekvenci dán (pro 1 směr)

$$d_i \approx \frac{2\pi\Delta f_i}{\gamma G}, \quad (40)$$

kde Δf_i je rozdíl rezonanční frekvence metabolitů od vysílací frekvence v Hz . Ve skutečnosti vznikají v důsledku artefaktu chemického posunu (CSA) posuny vrstev ve všech třech ortogonálních směrech podél aplikovaných gradientů.

Díky nižší citlivosti π -pulzů k CSA ve srovnání s $\pi/2$ -pulzy je π -pulz v PRESS sekvenci obvykle aplikován s gradientem podél toho směru vrstvy, kde je

tloušťka vrstvy nejmenší. Zbylé π a $\pi/2$ pulzy jsou tak aplikovány společně s gradienty ve směrech fázového kódování, což vede k asymetrickému posunu podél každého z těchto směrů.

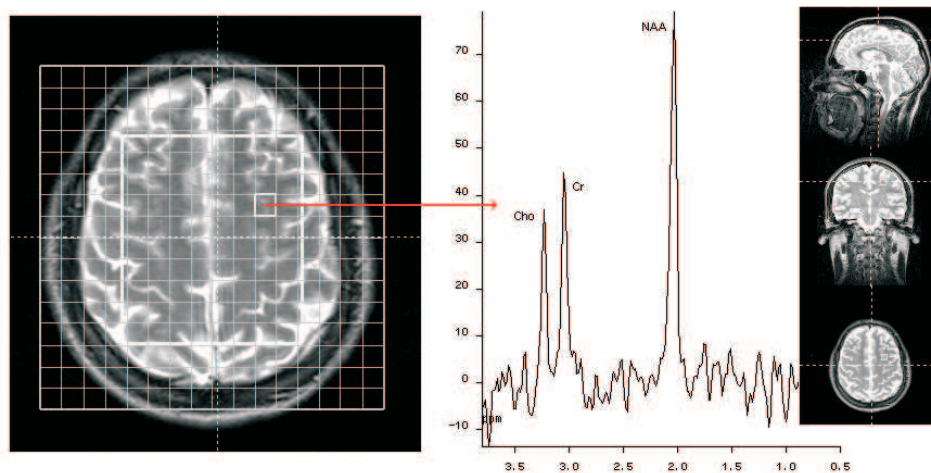
- **Korekce na partial volume efekt**

Stanovení absolutních koncentrací podle rovnice (38) předpokládá rovnoměrné rozložení metabolitů v celém voxelu. Pokud jsou však metabolity rozloženy v měřeném objemu nerovnoměrně, je výsledek výpočtu koncentrací zkreslený. Tento jev se nazývá partial volume efekt.

Z pohledu rozložení metabolitů v mozku lze mozkovou hmotu rozdělit na tkáň a mozkomíšní mok (*angl. cerebrospinal fluid (CSF)*). Ve srovnání s tkání je koncentrace metabolitů v mozkomíšním moku zanedbatelná. Jelikož každý voxel ve spektroskopické síti obsahuje obecně různé množství CSF, je výsledný změřený signál metabolitů tímto ovlivněn. Proto je nutné provést korekci na procentuální zastoupení CSF v měřeném voxelu. To se zjišťuje pomocí segmentace anatomických obrazů na tkáň a CSF, která se provádí z 3D MR obrazů, tzv. MPR obrazů (viz sekce 2.4.2). Následně se pomocí koregistrace těchto segmentovaných obrazů se spektroskopickými daty určí procentuální zastoupení CSF p^{CSF} v daném voxelu (l, m) a provede se korekce podle vzorce [20]

$$f_{CSF}(l, m) = 1 - p^{CSF}(l, m) \quad (41)$$

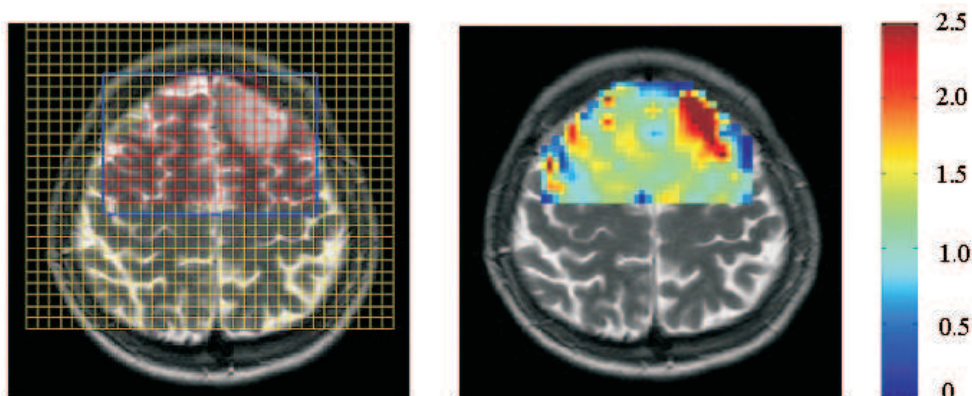
Koncentrace metabolitů se mění i v rámci tkáně. Rozdíly v koncentracích jsou však mezi šedou (*angl. gray matter (GM)*) a bílou (*angl. white matter (WM)*) hmotou mnohem menší než rozdíly mezi tkání a CSF, a proto nejsou výsledné signály tímto tolik ovlivněny.



Obrázek 6: Spektroskopická síť a spektrum odpovídající zvýrazněnému voxelu

2.3.6 Metabolické mapy

Program CULICH umožňuje zobrazit všechna spektra ve spektroskopické síti najednou, a nebo spektrum každého jednotlivého voxelu zvlášť (viz Obr. 6). Metabolická mapa pro vybraný metabolit vzniká barevným naškálováním všech voxelů spektroskopické sítě podle hodnoty koncentrace metabolitu v daném voxelu. Každá metabolická mapa k sobě obsahuje i chybovou mapu. Spektroskopická mapa cholinu je zobrazena na Obr. 7.



Obrázek 7: Spektroskopická síť se zvýrazněnou měřenou oblastí a k ní spočtená metabolická mapa cholinu

2.4 MR zobrazování

MR zobrazování (Magnetic resonance imaging, MRI) je vyspělá radiologická metoda využívající jevu nukleární magnetické rezonance. Na rozdíl od klasické NMR neposkytuje informaci o spektrech z celého objemu vzorku, ale využívá rezonanční podmínky pro získání prostorového rozlišení [13]. Základní koncept MRI je takový, že Larmorova frekvence ω_0 je prostorově závislá, takže rozdíly ve frekvencích excitovaných spinů po Fourierově transformaci souvisí hlavně s umístěním jednotlivých spinů v prostoru (méně pak s chemickým posunem - viz sekce 2.2.1). Toho je dosaženo prostorově závislým vnějším magnetickým polem $\mathbf{B}(\mathbf{r})$ generovaným formou gradientů magnetického pole \mathbf{G} :

$$\mathbf{B}(\mathbf{r}) = \mathbf{B}_0 + \mathbf{r}\mathbf{G} \quad (42)$$

Gradienty jsou aplikovány tak, aby změna magnetického pole v jednom směru (zde např. ve směru z , pro ostatní směry analogicky) byla konstantní:

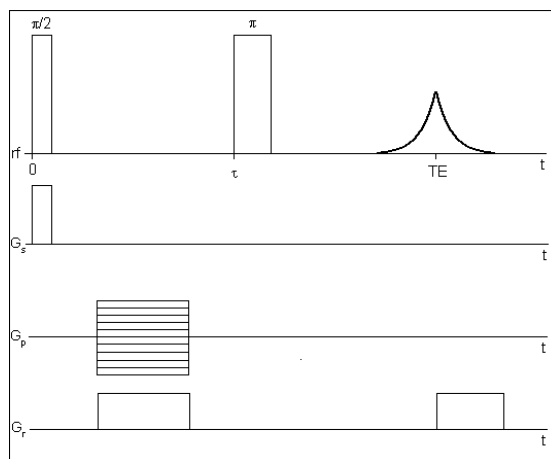
$$\mathbf{G}_z = \frac{d\mathbf{B}}{dz} = K, \quad (43)$$

kde K je konstanta.

Kontrast jednotlivých bodů MR obrazu je dán koncentrací ^1H protonů v daném místě vzorku a zároveň jejich relaxačními časy v tomto místě.

2.4.1 2D MR obrazy

V nejčastěji používaném dvoudimenzionálním MR zobrazování (2D MRI) se anatomické obrazy získávají ve 4 krocích: Nejprve je třeba vybrat vrstvu, kterou chceme zobrazit, dále zajistit fázové a frekvenční kódování tak, aby měřený signál byl zpětnou Fourierovou transformací obrazu a na konec provést samotnou 2D Fourierovu transformaci (FT). Schéma celé sekvence pro získání 2D MR obrazů je znázorněna na Obr. 8.



Obrázek 8: Schéma sekvence pro MR zobrazování. Základem je sekvence spinového echa. Při 1. rf pulzu jsou zapnuty gradienty výběru vrstvy G_s . Před 2. rf pulzem jsou zapínány gradienty ve směru fázového a frekvenčního kódování, přičemž velikost gradientů fázového kódování G_p se při každém opakování sekvence mění a velikost gradientů frekvenčního kódování G_r zůstává konstantní. Jejich kombinací tak lze postupně snímat řádky k -prostoru. Načítání dat je pak zajištěno zapnutím gradientu ve směru frekvenčního kódování.

Výběr vrstvy Excitace protonů pouze z dané vrstvy v 3D objektu lze dosáhnout kombinací rf pulzů a gradientů magnetického pole G_s . Při zapnutém gradientu, např. ve směru G_z , je každá z -ová pozice charakterizována specifickým magnetickým polem $B(z)$, a tak specifickou rezonanční frekvencí protonů $\omega_{0m}(z)$ s danou stínící konstantou σ_m :

$$\omega_{0m}(z) = \gamma B(z) \approx \gamma(1 - \sigma_m)B_0 + \gamma G_z z \quad (44)$$

Aproximaci lze provést díky platnosti $G_z z \ll B_0$ a $\sigma_m \ll 1$.

Aplikujeme-li selektivní rf pulz (pulz excitující pouze vybraný rozsah frekvencí) současně s gradientem magnetického pole G_z , jsou excitována pouze jádra s ω_0 v daném frekvenčním rozsahu, tedy nacházející se v dané rovině kolmé ke směru gradientu o dané souřadnici z :

$$z = \frac{\omega_{0m} - \gamma(1 - \sigma_m)B_0}{\gamma G_z} \quad (45)$$

Pozici vrstvy v prostoru lze tedy měnit silou gradientu magnetického pole a frekvencí rf pulzu, tj. jaká jádra budou excitována.

Frekvenční šíře $\Delta\omega$ selektivního pulzu je dána časovým průběhem jeho amplitudy $B_{1max}(t)$. Amplituda pulzu, který má obdélníkový frekvenční profil ve frekvenční doméně, je v časové doméně modulována funkcí:

$$B_{1max}(t) \sim \frac{\sin t}{t} \quad (46)$$

Ve skutečnosti však není možné pulz zapnout na nekonečně dlouhou dobu, a proto dochází k deformaci frekvenčního profilu pulzu. Pro malé sklápěcí úhly pulzů je pro zjištění časového průběhu amplitudy pulzu možné použít FT [9]. Pro větší sklápěcí úhly nelze z důvodu nelinearity spinového systému metodu FT použít. Pro stanovení časové modulace pulzu je třeba vycházet z Blochových rovnic.

Tloušťka excitované vrstvy Δz je závislá na síle gradientu magnetického pole G_z a na frekvenční šířce rf pulzu $\Delta\omega$:

$$\Delta z = \frac{\Delta\omega}{\gamma G_z} \quad (47)$$

Silnější gradient vytváří širší rozsah možných rezonančních frekvencí napříč vzorkem, a tak způsobí výběr užší vrstvy za předpokladu, že šířka rf pulz zůstává konstantní. Stejného efektu lze dosáhnout i snížením frekvenční šířky pulzu při zachování stejné síly gradientu. Nevýhodou druhého způsobu je současná změna echo času dané sekvence, popř. profilu vrstvy.

Výběr vrstvy nemusí být proveden pouze pro jednu samotnou vrstvu v prostoru, ale může být použit pro výběr více vrstev najednou [13]. V tzv. prokládacím módu (*z angl. interleaved manner*) je nabírán signál z několika nesousedních vrstev postupně během obnovovací periody jedné vrstvy. Tato perioda bývá označována jako repetiční čas (TR). Signály z dalších vrstev jsou pak získány během následujících period. Excitace nesousedních vrstev po sobě je nutná z důvodu již zmíněných nedokonalých profilů pulzu, které působí nejen na spiny ve vybrané vrstvě, ale částečně ovlivňují i spiny v okolních vrstvách.

Fázové kódování Po vybrání jedné nebo více vrstev je nutné prostorově rozlišit původ signálů v dané rovině vrstvy. Rozlišení v jednom ze směrů se nazývá fázové kódování a je ho dosaženo zapnutím gradientu G_p rovnoběžného s vybranou vrstvou, např. ve směru osy x . V tomto případě se tedy velikost vnějšího magnetického pole mění podél osy x . V důsledku různé velikosti magnetického pole podél jedné strany vrstvy budou spiny rotovat s různou frekvencí. Budou se tak lišit svou fází, která je úměrná souřadnici uvnitř dané vrstvy:

$$\Phi(x) = \omega t_1 = \gamma(B_0 + xG_p)t_1, \quad (48)$$

kde t_1 je doba, po kterou je prováděno fázové kódování.

Frekvenční kódování Rozlišení ve druhém směru (kolmém na první směr) dané vrstvy je dosaženo opět zapnutím gradientu, např. ve směru y . Larmorova frekvence spinů se v tomto případě liší podél osy y . Gradient frekvenčního kódování G_r je aplikován po dobu t_2 během načítání dat.

Rekonstrukce obrazu - 2D Fourierova transformace Měřený signál bude celkovým signálem ze všech míst vzorku. Pokud neuvažujeme relaxace, pozorovaný signál $S(t)$ v přítomnosti časově závislého gradientu magnetického pole $\mathbf{G}(t)$ má tvar:

$$S(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} n(\mathbf{r}) e^{-i\gamma \mathbf{r} \int_0^t \mathbf{G}(t') dt'} d\mathbf{r} = \int_{-\infty}^{+\infty} n(\mathbf{r}) e^{-i\mathbf{k}(t)\mathbf{r}} d\mathbf{r}, \quad (49)$$

kde $n(\mathbf{r})$ je hustota spinů v daném místě a t je čas po aplikaci $\frac{\pi}{2}$ -pulzu. Proměnná $\mathbf{k}(t) = \int_0^t \mathbf{G}(t') dt'$ vyjadřuje prostorovou frekvenci z 2D \mathbf{k} -prostoru [13].

Rozepíšeme-li rovnici (49) do složek a předpokládáme-li časově konstantní gradienty, bude signál v časové doméně dán vzorcem:

$$S(t_1, t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} n(x, y) e^{-i\gamma(xG_p t_1 + yG_r t)} dx dy, \quad (50)$$

kde $n(x, y)$ je koncentrace protonů vody v daném místě vrstvy. Integrační meze lze rozšířit do nekonečna, protože oblast mimo vzorek není excitována.

Zavedeme-li $k_x = \gamma G_p t_1$ a $k_y = \gamma G_r t$, lze rovnici (50) přepsat

$$S(k_x, k_y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} n(x, y) e^{-i(k_x x + k_y y)} dx dy \quad (51)$$

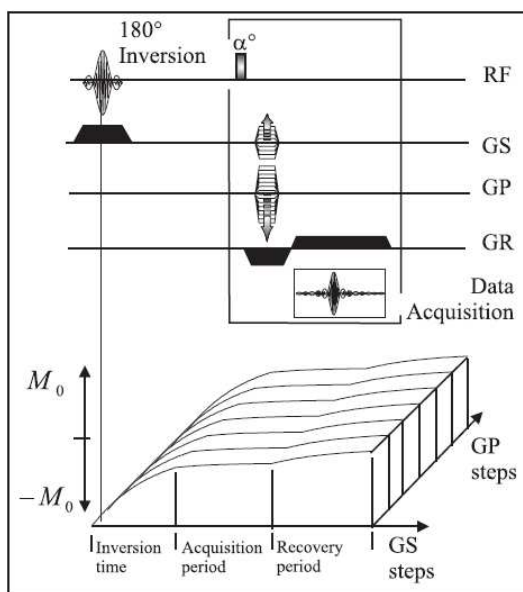
Vztahy (49), resp. (50), resp.(51) představují zpětnou 2D FT funkcí $n(\mathbf{r})$, resp. $n(x, y)$. Provedeme-li Fourierovu transformaci v proměnných k_x a k_y , získáme mapu koncentrací protonů v dané vrstvě $n(x, y)$. K tomu je však nutné znát závislost $S(k_x, k_y)$, která se získá postupným měřením $S(t)$ v průběhu frekvenčního kódování při různých velikostech gradientu ve směru fázového kódování G_p (proto se fázové kódování provádí podél kratší osy řezu).

Výsledná podoba MR obrazu je ovlivněna kromě koncentrace protonů i dalšími faktory, především relaxačními časy T_1 , T_2 , repetičním časem TR a echo časem TE . Hlavní vliv na kontrast MR obrazů mají relaxační časy protonů vody v jednotlivých tkáních. O tom, zda MR obraz bude dán hodnotou T_2 relaxačního času či hodnotou T_1 relaxačního času, rozhoduje délka repetičního času a echo času.

2.4.2 3D MR obrazy - MPRAGE

Cílem MR zobrazování je získání co nejlepšího kontrastu obrazů při co nejkratším TR a malém sklápěcím úhlu. Toho lze dosáhnout aplikací inverzního (π) pulzu před akviziční dobou [21]. 3D verze této sekvence byla nazvána 3D MPRAGE (*angl. three-dimensional magnetization prepared rapid acquired gradient echo*) [22]. Tyto

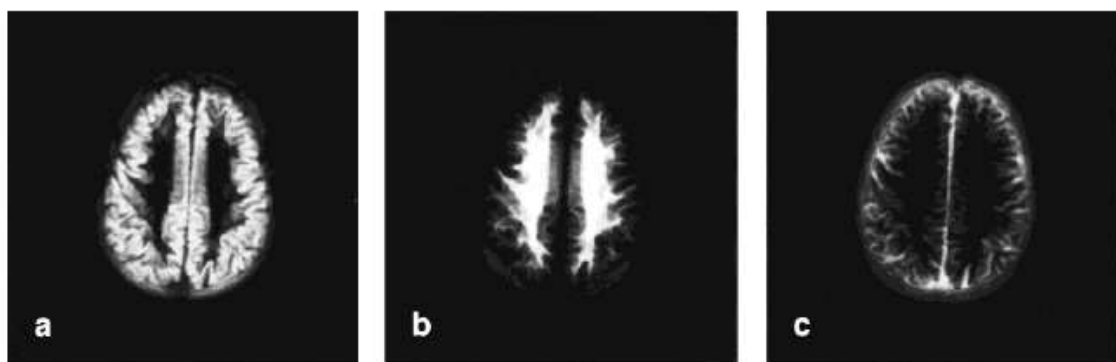
T_1 vážené 3D MR obrazy jsou pro svůj dobrý kontrast mezi bílou, šedou hmotou a mozkomíšním mokem často používány pro segmentace mozku.



Obrázek 9: Schéma sekvence 3D MPRAGE. Obrázek převzat z [23].

Schéma sekvence 3D MPRAGE je zobrazeno na Obr. 9. Inverzní pulz je aplikován před náběrem dat jednotlivých řádků k-prostoru přes smyčku kódující pozici vrstvy, zatímco kódování v rovině vrstvy zůstává konstantní. Po krátké obnovovací době (*angl. recovery period*) je opět aplikován inverzní pulz a smyčka kódující pozici vrstvy je zopakována s jinou hodnotou gradientu ve směru fázového kódování.

Na Obr. 10 jsou zobrazeny segmentované obrazy šedé hmoty, bílé hmoty a mozkomíšního moku lidského mozku.



Obrázek 10: Segmentované obrazy šedé hmoty, bílé hmoty a mozkomíšního moku (zleva doprava). Obrázky převzaty z [24].

2.5 Difuzní MR zobrazování

2.5.1 Difuze a její využití v MR

Základní principy difuzního MR zobrazování byly objeveny v 80. letech minulého století [25–27]. Byly založeny na kombinaci MR zobrazování a v té době již známého vlivu molekulové difuze na NMR signál při použití bipolárních gradientů magnetického pole [28].

Molekulová difuze souvisí s náhodným neuspořádaným translačním pohybem molekul (Brownův pohyb), pocházející z tepelné energie těchto molekul. Nejvýhodnější molekulou z pohledu difuzního MR zobrazování je voda, která zaujímá min. 60% objemu lidského těla. Molekuly vody tak během svého náhodného, difuzí řízeného pohybu prostupují strukturou tkáně na mikroskopické úrovni, dokonce i za hranicemi běžného rozlišení obrazů [29]. Molekuly vody totiž v mozkové tkáni překonávají vzdálenosti přibližně 10 μm , srážejí se, překřičují či interagují s dalšími složkami jako jsou buněčné membrány, nervová vlákna nebo makromolekuly.

Celkový efekt pozorovaný v difuzním MR zobrazování je takový, že obrazy voxelů o velikosti několika mm^3 odrážejí rozdíly v rozložení molekul vody přítomných v tomto voxelu. Pozorování tohoto nerovnoměrného rozložení tak může přinést jedinečný klíč k detailům struktury a geometrické organizace tkáně. Zobrazování difuze pomocí MR je oproti jiným metodám výhodné v tom, že difuzní proces je zcela nezávislý na jevu magnetické rezonance či velikosti magnetického pole, takže difuzní obrazy přinášejí informaci o difuzním procesu jako takovém.

Ve skutečnosti je difuze třídimensionální proces. Takže pohyblivost molekuly ve tkáni nemůže být ve všech směrech stejná. Tato anizotropie může pocházet ze zvláštního fyzikálního uspořádání struktury (podobné tekutým krystalům) nebo od překážek, které v některých směrech pohyb molekul omezují. Princip difuzního MR zobrazování je tedy takový, že difuze je do MR signálu zakódována pomocí gradientních pulzů magnetického pole [30] a viditelné je pouze to nerovnoměrné molekulové rozložení, které se objevuje podél směrů těchto gradientů. Anizotropii v difuzi lze tak snadno pozorovat pomocí mnoha různých difuzních měření, kdy se mění směry gradientů magnetického pole, a pomocí toho lze pak z jednotlivých směrů vytvořit difuzní tenzor

$$\underline{\mathbf{D}} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \quad (52)$$

a získat tak informaci o difuzi vody v prostoru, čehož se využívá např. v zobrazování pomocí difuzního tenzoru (*angl. Diffusion Tensor Imaging* (DTI)).

V případě 2D difuzního MR zobrazování však není nutné znát hodnoty difuze v jednotlivých směrech, ale stačí průměrná hodnota difuze v daném místě tkáně. Tato metoda se nazývá difuzně-vážené zobrazování (*angl. Diffusion-Weighted Imaging* (DWI)).

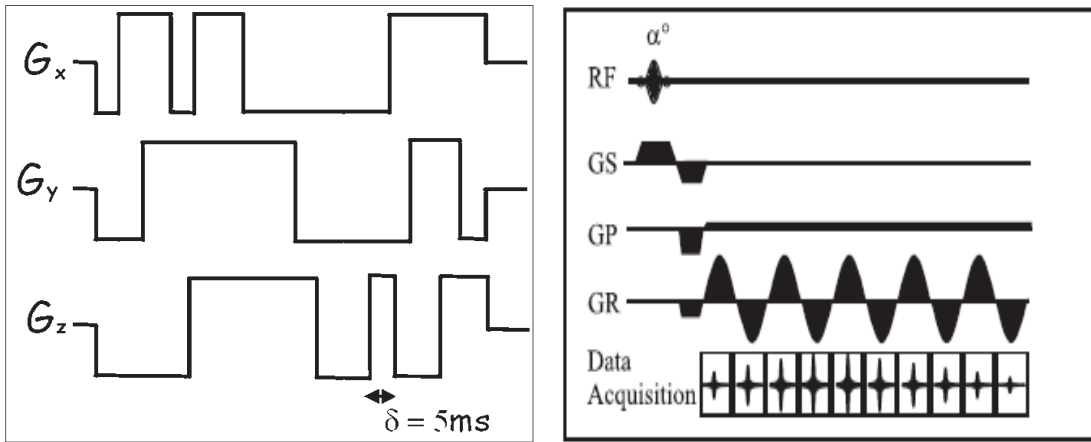
2.5.2 Difuzně vážené zobrazování

Jak již bylo zmíněno, ve 2D difučním MR zobrazování je difuze plně popsána skalárním parametrem, tzv. aparentním difučním koeficientem (*angl. Apparent Diffusion Coefficient* (ADC)). Jedná se o stopu difučního tenzoru, tedy pro něho platí

$$ADC = \frac{1}{3}(D_{xx} + D_{yy} + D_{zz}) \quad (53)$$

MR signál závisející na stopě difučního tenzoru lze naměřit přímo pomocí sekvence EPI-Trace.

Sekvence EPI-Trace Schéma sekvence Trace je zobrazeno na Obr. 11(a). Pomocí speciálně spočtené kombinace spínání gradientů magnetického pole ve třech na sebe kolmých směrech je signál, zformovaný sekvencí Trace [31] a nasnímaný sekvencí EPI, přímo závislý na *ADC*. Na Obr. 11(b) je zobrazeno schéma sekvence SE-EPI. Při sekvenci Trace-EPI se však k excitaci nepoužívá rf pulzu pro měření spinového echa (SE), ale měří se gradientní echo získané pomocí sekvence Trace. Sekvence EPI [32] využívá k načítání dat frekvenčního a fázového kódování podobně, jak je to popsáno v sekci 2.4.1.



(a) Sekvence Trace

(b) Sekvence SE-EPI

Obrázek 11: Schéma sekvence Trace, převzaté z [31], a sekvence SE-EPI, převzaté z [23].

Difušní obrazy Vliv difuzí na MRI signál je jeho útlum [33]. Signál $S_b(\tau)$ v časovém intervalu $[0, \tau]$ je dán vztahem

$$S_b(\tau) = S_0(0)e^{-\int_0^\tau \mathbf{k}(t') \cdot \underline{\mathbf{D}} \cdot \mathbf{k}(t') dt'}, \quad (54)$$

kde S_0 je intenzita signálu bez difučního vážení, $\mathbf{k}(t')$ je trajektorie v k -prostoru a $\underline{\mathbf{D}}$ je difuční tenzor.

Je-li splněna podmínka ortogonality

$$\int_0^{\tau} \mathbf{k}_i(t') \mathbf{k}_j(t') dt' = 0 \{i \neq j\} \quad (55)$$

a zavedeme-li difuzně vážený faktor b , který charakterizuje gradientní pulzy (časový průběh, amplitudu, tvar) [34]

$$b = \int_0^{\tau} k^2(t') dt' = \gamma^2 \int_0^{TE} \left(\int_0^{t'} G(t'') dt'' \right)^2 dt', \quad (56)$$

pak rovnice (54) přejde na tvar

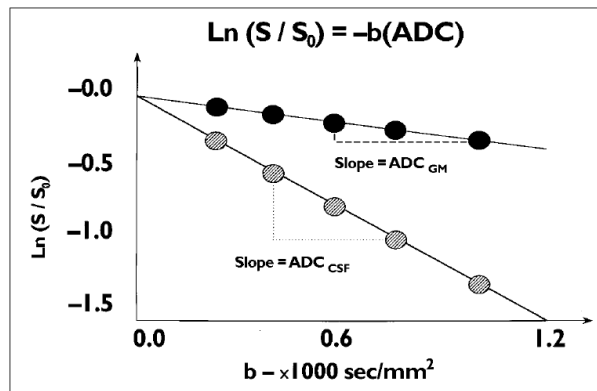
$$S_b = S_0 e^{-bADC} \quad (57)$$

Signál je tedy exponenciálně závislý na hodnotě ADC .

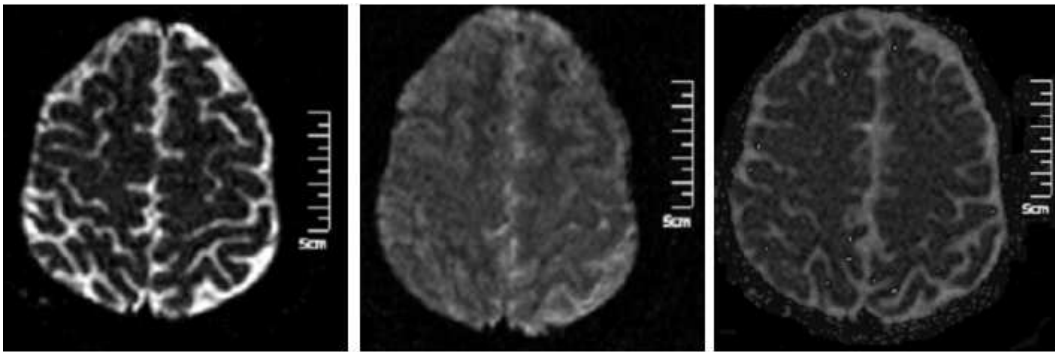
Zlogaritmuje-li rovnici (57), dostaneme

$$\ln \frac{S_b}{S_0} = -bADC \quad (58)$$

Změříme-li tedy difuzní obrazy pro několik hodnot b (např. $b = 50, 500, 1000$ s/mm^2), pak ADC v rovnici (58) vystupuje jako koeficient úměrnosti mezi dvěma známými veličinami. Vyneseme-li tuto závislost do grafu pro odpovídající si pixely, lze zjistit hodnotu ADC pro každý pixel a z těchto hodnot zrekonstruovat ADC obraz (viz Obr. 12). Na Obr. 13 jsou zobrazeny difuzní obrazy pro $b = 50$ a 500 s/mm^2 a výsledný ADC obraz.



Obrázek 12: Graf závislosti přirozeného logaritmu intenzity signálu $\ln \frac{S_b}{S_0}$, naměřeného z difuzních obrazů s různou hodnotou difuzně váženého faktoru b , umožňuje určit ADC z lineární regrese sady bodů. Obrázek převzat z [35].



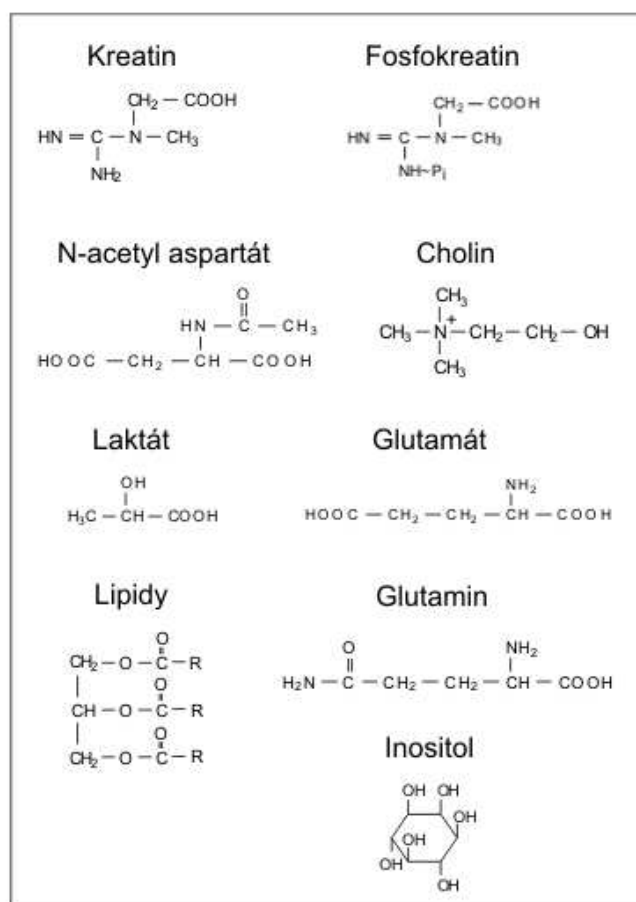
Obrázek 13: Difuzní obrazy pro $b = 50$ a 500 s/mm^2 a výsledný ADC obraz

2.6 Metabolismus a difuzní vlastnosti tumorů

Nejčastěji vyskytujícími se nádory lidského mozku jsou gliomy. Z histologického hlediska se jedná o velmi heterogenní nádory obsahující biologickou tkáň s různým stupněm buněčné a jaderné mnohotvarosti, mitotické aktivity, prokrvení a nekrózy. Každý typ gliomů může mít buď nízký nebo vysoký stupeň zhoubnosti. Navzdory agresivní léčbě jsou prognózy zhoubných gliomů obecně velmi slabé z důvodu jejich infiltrativní povahy a vysoké rychlosti opětovného návratu nemoci [36,37]. Správné stanovení diagnózy a hranic tumoru jsou z tohoto pohledu tedy klíčové. Použití kombinace několika na sobě nezávislých měření (MRI, DWI, MRSI) může v tomto směru poskytnout důležité informace. Metoda DWI odráží jak fyzikálně-chemické vlastnosti tkáně (např. viskozitu, teplotu), tak i její strukturální části (makromolekuly, membrány a intracelulární organely) [38]. MRS oproti tomu poskytuje biochemické informace patologických změn na buněčné úrovni [39].

Samotné spektroskopické výsledky však mohou být teoreticky ovlivněny topografickým histopatologickým složením [40]. Významné metabolity pozorované pomocí spektroskopie magnetické rezonance jsou uvedeny na Obr. 14. Významným ukazatelem patologie u tumorů je signál cholinových sloučenin. Celkový změřený cholinový signál obsahuje příspěvky nejen od cholinu (Cho), ale také od fosfocholinu (PCho), glycerofosfocholinu (GPCho) a fosfatidylcholinu (P-ylCho). Husté hypercelulární oblasti vykazují značné zvýšení intenzity cholinového signálu v gliomech [41], zatímco další oblasti u infiltrujícího okraje a nekrotického jádra jsou charakteristické nižším zvýšením intenzity signálu cholinu. Jelikož je PCho základní biosyntetický prekurzor membránových fosfolipidů, je souvislost zvýšené koncentrace PCho s buněčnou proliferací často připisována zrychlení membránového a fosfolipidového metabolismu. Hladina PCho může být tedy zvýšena i z důvodu lepší membránové syntézy potřebné v aktivně proliferujících buňkách [40]. Z biologického hlediska však výše zmíněné důvody zvýšení koncentrace cholinových sloučenin spolu souvisí. Tkáň, která vykazuje vysoký stupeň proliferace nebo která je onkogeneticky pozměněna, také pravděpodobně vykazuje vysokou celularitu bez přítomnosti

vyrovnávacích apoptotických mechanismů nebo omezení prokrvení dané oblasti.



Obrázek 14: Schématické značky vybraných metabolitů pozorovaných v ^1H MRS

Z difuzních měření bylo zjištěno, že vyšší hodnota ADC odpovídá oblastem s nižší celularitou (cysty, nekrózy nebo edémy) [42], což souvisí s výskytem relativně velkého extracelulárního objemu, kde je difuze méně omezená. Oproti tomu nižší hodnota ADC byla zjištěna v oblastech s vyšší celularitou (zdravá tkáň), kde je z důvodu většího intracelulárního prostoru hodnota difuze omezena [43].

Z měření kombinujících MRS a DWI byla zjištěna statisticky významná korelace mezi koncentrací cholinových sloučenin a ADC u lidských gliomů [37, 40, 44, 45], přestože neexistuje žádný důvod podporující hypotézu lineární závislosti mezi zmíněnými parametry. Tyto korelace byly stanoveny z měření oblastí s různým stádiem onemocnění u několika pacientů a podporují hypotézu, že hustota nádorových buněk hraje významnou roli v určování hladiny koncentrace cholinových sloučenin. Další studie [43] také prokázala pozitivní korelaci mezi koncentrací cholinu a celularitou v tumoru a inverzní korelaci mezi hodnotou ADC a celularitou, ale neprokázala souvislost mezi indexem buněčné proliferace a $nCho$. Z toho tedy vyplývá, že hustota buněk má výrazně větší vliv na cholinový signál než předpokládané zrychlení membránového pohybu.

Další studie kombinující různé MR a biologické techniky, které byly prováděny s různými typy onemocnění tkáně, prokázaly výrazné rozdíly v koncentracích jednotlivých metabolitů, v hodnotách *ADC* a krevního objemu mozku (*angl. cerebral blood volume* (CBV)) [42, 44, 46–51].

3 Experimentální část

3.1 Použitá zařízení

Měření týkající se zjišťování korelace mezi koncentrací cholinu a stopy difuze v tumorech metodou pixel po pixelu byla prováděna na celotělovém tomografu Magnetom-Vision 1.5T firmy Siemens se supravodivým magnetem chlazeným kapalným heliem. Pro zobrazování i spektroskopická měření byla použita standardní sedlová hlavová cívka s kruhově polarizovaným polem naladěná na protonovou rezonanční frekvenci 63.62 MHz. Součástí tomografu byly stíněné gradienty pro potlačení vzniku vířivých proudů. Během doby, kdy vznikala tato práce, proběhla na pracovišti ZRIR IKEM výměna stávajícího zařízení za nový celotělový tomograf Trio 3T firmy Siemens. Zde je pro zobrazování a spektroskopii použita 8-kanálová přijímací hlavová cívka s protonovou rezonanční frekvencí 123.26 MHz. Excitace je prováděna pomocí celotělové cívky. Měření opakovatelnosti a reprodukovatelnosti dat bylo prováděno na obou typech tomografů.

3.2 Měření opakovatelnosti a reprodukovatelnosti na 1.5T a 3T

Pro zjištění opakovatelnosti a reprodukovatelnosti měření spekter a pro porovnání výsledků mezi dvěma generacemi celotělových tomografů, bylo provedeno několik měření spekter u tří zdravých dobrovolníků ve věku (24 ± 1) let. Časový interval mezi měřeními na 1.5T tomografu Magnetom-Vision a 3T tomografu Trio byl 3 měsíce.

3.2.1 Postup při měření

Dobrovolník byl nejprve seznámen s postupem vyšetření a podepsal informovaný souhlas. Poté byl v poloze na zádech a hlavou v hlavové cívce umístěn do tomografu. Pro dosažení co nejlepší homogenity magnetického pole je poloha dobrovolníka vůči magnetu nastavena tak, aby se střed hlavové cívky nacházel ve středu magnetu.

V 1. části měření byl proveden kompletní protokol vyšetření, popsán níže v této sekci. Spektroskopické měření však pro potřeby opakovatelnosti bylo pro stejnou polohu VOI a beze změny jakéhokoliv parametru spuštěno 3x za sebou. Na konec bylo ještě naměřeno spektrum vody. Dobrovolník byl poté vyndán z tomografu přibližně na 10 minut.

Pro potřeby reprodukovatelnosti, tj. zjištění změn v naměřených koncentracích pro opakovaná vyšetření, byl dobrovolník opět umístěn do tomografu a celá procedura byla ještě 2x zopakována.

U každého z dobrovolníků se měřená oblast na 1.5T tomografu shodovala s měřenou oblastí na 3T tomografu.

3.2.2 Vyšetřovací protokol na 1.5T a 3T tomografu

Klasické MR obrazy Nejprve byly naměřeny T_2 vážené MR obrazy v sagitálním, frontálním a transverzálním směru pro pozdější lokalizaci VOI při spektroskopickém vyšetření. MR obrazy byly naměřeny zobrazovací sekvencí turbo spinové echo (TSE) s tloušťkou řezů 5 mm. Vzdálenost mezi jednotlivými řezy byla na 1.5T tomografu nastavena na 0,3 mm, na 3T tomografu na 0 mm. Parametry pro měření MR obrazů u jednotlivých dobrovolníků jsou pro 1.5T tomograf shrnuty v Tab. 2, 4, 3 a pro 3T tomograf v Tab. 5, 7 a 6.

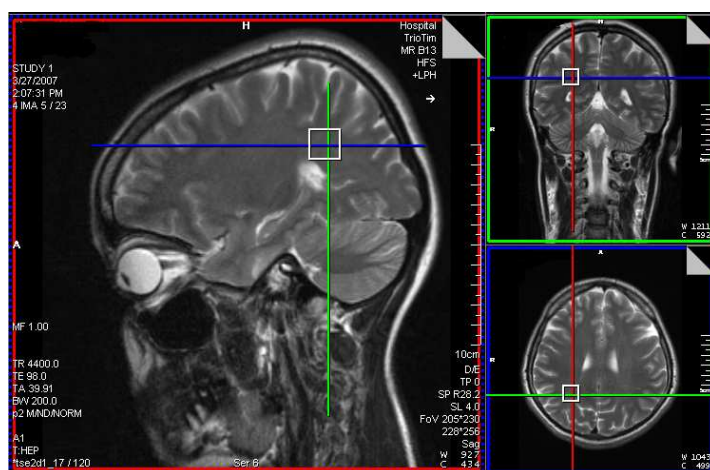
MR obrazy naměřené sekvencí MPRAGE Kvůli možným malým odchylkám v lokalizaci VOI při opakovaných měřeních je nezbytné provést segmentaci tkáně v měřené oblasti. Díky znalosti procentuálního zastoupení bílé hmoty, šedé hmoty a mozkomíšního moku ve vybraném VOI lze dodatečně provést korekce spočtených koncentrací jednotlivých metabolitů. T_1 vážené MPRAGE obrazy jsou 3D obrazy s velikostí pixelu 1x1x1 mm. Jedná se o obrazy měřené sekvencí gradientního echa (GE) se sklápěcím úhlem o hodnotě 8° na tomografu Magnetom-Vision a 10° na tomografu Trio. Shrnutí MPRAGE parametrů u jednotlivých dobrovolníků pro 1.5T tomograf je uvedeno v Tab. 2, 4, 3, pro 3T tomograf pak v Tab. 5, 7 a 6.

Single Voxel spektroskopie Měření SVS lze, jak na tomografu Magnetom-Vision, tak na tomografu Trio, provádět automaticky. Pak stačí pouze nastavit pozici a velikost měřené oblasti.

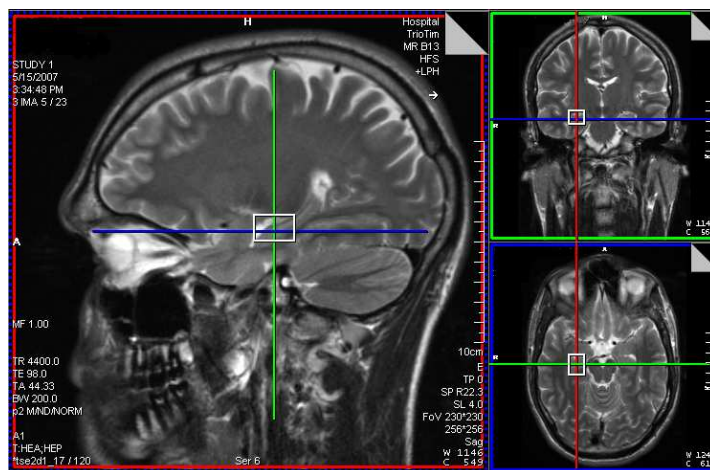
V případě 1.5T tomografu však tato metoda není dostatečně spolehlivá, a proto se nepoužívá. Pak je několik počátečních kroků potřebných pro měření SVS shodných s měřením CSI. Nejprve se opět musí nastavit homogenita vnějšího pole B_0 v oblasti celé hlavy, viz. sekce 3.4. Poté se v dané spektroskopické sekvenci pomocí MR obrazů nastaví velikost a poloha měřeného VOI. Velikost měřených oblastí u jednotlivých dobrovolníků je uvedena v Tab. 2, 4 a 3. Lokalizace VOI u jednotlivých dobrovolníků je uvedena v Tab. 1. Dále je nutné uvnitř vybraného objemu nastavit homogenitu pole. Lokální shimování se v případě SVS provádí ručně. Před spuštěním spektroskopického měření se musí dále optimalizovat daná sekvence nastavením frekvence a změnami napětí na transmitter cívice pro správnou hodnotu sklápěcího pulzu a pro dosažení optimálního potlačení signálu vody.

Na 3T tomografu lze automatickou proceduru na měření SVS využít. Ukazuje se však, že při měření v oblasti hippokampů je automatické nastavení homogenity magnetického pole nedostatečné, a proto je nutné provést celé měření ručně. V tomto případě je tedy měření shodné s měřeními na 1.5T tomografu. Velikost měřených oblastí u jednotlivých dobrovolníků je uvedena v Tab. 5, 7 a 6. Lokalizace VOI u jednotlivých dobrovolníků je uvedena v Tab. 1 a na Obr. 15.

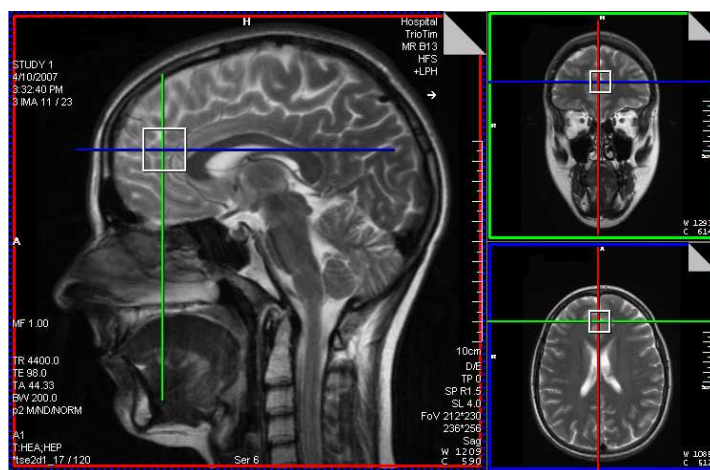
Pro případné korekce vířivých proudů se ještě měří spektrum vody a to stejným způsobem jako měření metabolitů, jen s jedinou výjimkou a to, že se nepotlačuje



(a) Pozice SVS u dobrovolníka D1: Bílá hmota



(b) Pozice SVS u dobrovolníka D2: Hippokampus



(c) Pozice SVS u dobrovolníka D3: Šedá hmota

Obrázek 15: Polohy měřených voxelů u jednotlivých dobrovolníků

signál vody. Hodnota napětí na transmitteru odpovídající pulzu vody se tedy nastavuje na 0 V. Jelikož voda dává o několik řádů silnější signál než metabolity, lze tímto způsobem naměřené spektrum považovat za spektrum vody.

Tabulka 1: Lokalizace VOI při SVS

Dobrovolník	Lokalizace
D1	Bílá hmota vpravo (P-O dx)
D2	Hippokampus vpravo (HC dx)
D3	Šedá hmota vpředu (GM front.)

Tabulka 2: Vyšetřovací protokol pro dobrovolníka D1 na 1,5 T tomografu

Měření	Sekvence	TR [ms]	TE [ms]	NA	Rozměry [mm]
MRI	TSE	4400	99	1	5
MPR	GE	2300	4	1	1
SVS	PRESS	5000	135	64	15x15x15

Tabulka 3: Vyšetřovací protokol pro dobrovolníka D2 na 1,5 T tomografu

Měření	Sekvence	TR [ms]	TE [ms]	NA	Rozměry [mm]
MRI	TSE	4400	99	1	5
MPR	GE	2300	4	1	1
SVS	PRESS	5000	135	64	15.4x20x13.4

Tabulka 4: Vyšetřovací protokol pro dobrovolníka D3 na 1,5 T tomografu

Měření	Sekvence	TR [ms]	TE [ms]	NA	Rozměry [mm]
MRI	TSE	4400	99	1	5
MPR	GE	2300	4	1	1
SVS	STEAM	5000	10	64	20x21x21

Tabulka 5: Vyšetřovací protokol pro dobrovolníka D1 na 3 T tomografu

Měření	Sekvence	TR [ms]	TE [ms]	NA	Rozměry [mm]
MRI	TSE	4400	98	1	5
MPR	GE	2300	4.24	1	1
SVS	PRESS	5000	135	64	15x15x15

Tabulka 6: Vyšetřovací protokol pro dobrovolníka D2 na 3 T tomografu

Měření	Sekvence	TR [ms]	TE [ms]	NA	Rozměry [mm]
MRI	TSE	4400	98	1	5
MPR	GE	2300	4.43	1	1
SVS	PRESS	5000	135	64	15x20x13

Tabulka 7: Vyšetřovací protokol pro dobrovolníka D3 na 3 T tomografu

Měření	Sekvence	TR [ms]	TE [ms]	NA	Rozměry [mm]
MRI	TSE	4400	98	1	5
MPR	GE	2300	4.43	1	1
SVS	STEAM	5000	30	64	20x21x21

3.2.3 Doba vyšetření na 1.5 T

Čas potřebný pro naměření MR obrazů je přibližně 3 min. Dalších, v průměru 7 minut trvá získání MPRAGE obrazů. Pro jedno spektroskopické měření je potřeba necelých 6 minut. Celkový počet spekter v rámci jedné série je 3, tedy necelých 18 min. K tomuto času je však nutné ještě připočítat dobu potřebnou pro shimování homogenity magnetického pole a pro optimalizaci dané sekvence, což může celkem trvat až 15 minut. Naměření spektra vody s 1 akvizicí trvá 11 sekund. Celkový čas pro jednu sérii je tedy přibližně 45 minut. Dalších cca 10 minut je dobrovolník mimo MR tomograf. Protože dobrovolník podstupuje měření celkem 3x, dosahuje celková doba tohoto měření necelé 3 hodiny.

3.2.4 Doba vyšetření na 3 T

Čas potřebný pro naměření MR obrazů je přibližně 2,5 min. Dalších v průměru 5,5 minut trvá získání MPRAGE obrazů. Pro jedno spektroskopické měření je potřeba necelých 6 minut. Celkový počet spekter v rámci jedné série je 3, tedy necelých 18 min. Pokud je měření provedeno automaticky, je tedy celkový čas potřebný k měření 1 série asi 30 minut. Pokud není automatické shimování dostatečné, je k tomuto času třeba ještě připočítat dobu potřebnou pro shimování homogenity magnetického pole a pro správné nastavení parametrů dané sekvence, což může celkem trvat až 15 minut. Naměření spektra vody při 4 akvizicích trvá necelou 1 minutu. Dalších cca 10 minut je dobrovolník mimo MR tomograf. Celková doba tohoto měření tedy dosahuje maximálně 2,5 hodiny.

3.2.5 Zpracování naměřených dat

Ke zpracování SVS dat se používá komerční program LCModel. Spektroskopická data jsou automaticky analyzována ve frekvenční doméně. Před zpracováním je však

nejprve nutné zvolit bázi, ve které se budou data zpracovávat. Báze totiž rozhoduje o počtu bazových spekter, která se budou při analýze dat používat. Báze pro sekvenci PRESS s echo časem $TE = 135$ ms obsahuje 5 metabolitů a báze pro sekvenci STEAM s echo časem $TE = 10$ ms pak 15 metabolitů. Podrobnější popis této metody je uveden v sekci 2.3.4.

MPRAGE obrazy jsou analyzovány programem SPM2 a získané segmentované obrazy jsou pak automaticky zpracovány procedurou napsanou na našem pracovišti. Tato procedura vyžaduje zadání velikosti a pozice VOI a počet MPRAGE řezů. Jejím výstupem je procentuální zastoupení bílé hmoty, šedé hmoty a mozkomíšního moku v měřeném VOI.

Získané hodnoty koncentrací jednotlivých metabolitů jsou upraveny podle výsledků segmentace měřeného voxelu. Jelikož rozdíly v koncentracích metabolitů v bílé a šedé hmotě nejsou příliš vysoké, data byla upravena pouze podle obsahu mozkomíšního moku v daném VOI. Data jsou tedy upravena podle vzorce (41). Takto získané upravené koncentrace jsou poté podrobeny statistické analýze pro získání informací o opakovatelnosti a reprodukovatelnosti spektroskopických měření.

3.3 Měření dobrovolníků a pacientů pro získání korelace mezi [Cho] a Tr_{ADC}

Pacienti i dobrovolníci jsou při vyšetření mozku uloženi do tomografu v poloze na zádech s hlavou upevněnou v hlavové cívce. Pro dosažení co nejlepší homogenity magnetického pole je poloha pacienta či dobrovolníka vůči magnetu nastavena tak, aby se střed hlavové cívky nacházel ve středu magnetu. Z bezpečnostních důvodů každý pacient i dobrovolník dostane do ruky signální zařízení pro případ potíží.

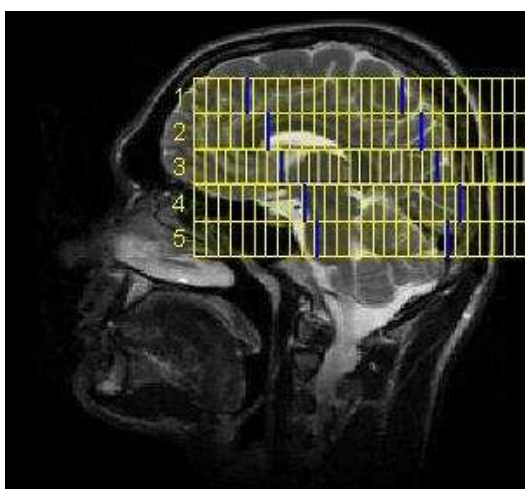
3.3.1 Vyšetřování dobrovolníků

Pro vyloučení možné závislosti koncentrace cholinu na ADC u zdravých lidí, byla naměřena kontrolní skupina sedmi dobrovolníků ve věku (23 ± 3) let. Každý z dobrovolníků byl nejprve požádán o písemný souhlas s vyšetřením. Dobrovolníci před MR vyšetřením nepodstupovali žádná lékařská vyšetření. Kontraindikací by bylo pouze prokázání jakéhokoliv neurologického onemocnění.

Vyšetřovací protokol (viz sekce 3.4) je podobný protokolu pro vyšetřování pacientů. Jedinou výjimkou je zkrácení repetičního času (TR) u klasických MR obrazů z 5400 ms u pacientů na 4400 ms u dobrovolníků. Cenou za kratší dobu vyšetření je nižší kvalita MR obrazu, což však vzhledem k předpokladu zdravého dobrovolníka není překážkou. CSI bylo u dobrovolníků měřeno z různých oblastí mozku tak, aby byla k dispozici kontrolní data pro různé lokalizace tumoru v mozku pacientů. Čísla u lokalizace CSI v Tab. 8 určují transversální polohu podle Obr. 16. Kompletní postup vyšetření je popsán v sekci 3.4 a zpracování naměřených dat pak v sekci 3.5.

Tabulka 8: Informace o skupině dobrovolníků

Dobrovolník	Věk	Lokalizace CSI
D4	23	1
D5	21	2
D6	23	1
D7	25	1
D8	24	3
D9	26	1
D10	20	3



Obrázek 16: Transverzální polohy měřených CSI vrstev u dobrovolníků a pacientů (žlutě)

3.3.2 Vyšetřování pacientů

Pacient je nejprve poučen o průběhu vyšetření a toto poučení písemně potvrdí. Přesto, že je indikace k vyšetření provedena jeho ošetřujícím lékařem, je nutné se ujistit, zda pacient nemá kardiostimulátor nebo nějaké feromagnetické implantáty.

V této studii byla naměřena skupina 11 pacientů s tumorem mozku ve věku v rozmezí 7-75 let. Většina pacientů nebyla léčena chemoterapií, ale podstoupila chirurgický zákrok, při kterém jim byl tumor vyoperován. Informace o jednotlivých typech tumorů, získané z následných histologických vyšetření, jsou uvedeny v Tab. 9. U 3 pacientů (P4, P5, P8) nejsou výsledky histologie k dispozici. Vyšetřovací protokol je stejně jako v případě dobrovolníků popsán v sekci 3.4 a zpracování naměřených dat pak v sekci 3.5. Lokalizace měřených CSI vrstev pro jednotlivé pacienty jsou uvedeny v Tab. 9.

Tabulka 9: Informace o skupině pacientů

Pacient	Věk	Typ tumoru	Lokalizace CSI
P1	75	Glioblastom G IV	4
P2	23	Fibril.Astrocytom G II	1
P3	65	Glioblastom G IV	3
P4	35	nezjištěno	3
P5	31	nezjištěno	3
P6	66	Glioblastom G IV	3
P7	30	Astrocytom G II	4 a 5
P8	7	nezjištěno	5
P9	28	Fibril.Astrocytom G II	1
P10	38	Anaplast.Astrocytom G III	2
P11	62	Glioblastom G IV	3

3.4 Vyšetřovací algoritmus

Vyšetřování dobrovolníků i pacientů probíhalo vždy v několika krocích. Nejprve byly naměřeny MR obrazy, spektroskopie a na konec difuzní obrazy.

Tabulka 10: Vyšetřovací algoritmus

Měření	Sekvence	TR [ms]	TE [ms]	NA	d [mm]	FoV [mm]
MRI	TSE	5400(4400)	99	1	5	260x260
MPR	GE	2300	4	1	1	230x230
CSI	2D PRESS-SI	1500	135(40)	2	18	160x160
DWI	EPI-Trace	8000	137	8	5(3)	230x230

3.4.1 Klasické MR obrazy

T_2 vážené MR obrazy slouží především k lokalizaci VOI pro spektroskopická vyšetření. Jsou měřeny ve třech navzájem kolmých směrech (sagitálním, frontálním a transverzálním) zobrazovací sekvencí turbo spinové echo (TSE). Tloušťka d řezů byla při všech měřeních 5 mm. Vzdálenost mezi jednotlivými řezy byla 0,3 mm. Parametry pro měření MR obrazů jsou shrnuty v Tab. 10.

3.4.2 MR obrazy naměřené sekvencí MPRAGE

T_1 vážené MPRAGE obrazy jsou 3D obrazy s velikostí pixelu 1x1x1 mm. Díky dobrému kontrastu mezi šedou hmotou, bílou hmotou a mozkomíšním mokem byly použity pro segmentace tkání. Jedná se o obrazy měřené sekvencí gradientního echa (GE) se sklápěcím úhlem o hodnotě 8°. Shrnutí MPRAGE parametrů je uvedeno v Tab. 10.

3.4.3 Spektroskopické zobrazování

Před spuštěním samotné sekvence na měření spekter je nutné provést několik kroků.

Nejprve je třeba nastavit homogenitu vnějšího pole B_0 v oblasti celé hlavy. To je u tomografu Vision zajištěno tzv. shimovacími cívkami, jejichž pole donastavuje homogenitu magnetického pole. Tzv. globální shim se na tomografu Vision provádí automaticky. Špatné nastavení homogenity pole se projevuje zhoršením celkové kvality spekter. Dochází k rozšíření píků, a tak k jejich překryvům, což má za následek snížení spektrálního rozlišení a poměru signál/šum.

Poté se pomocí MR obrazů nastaví velikost a poloha VOI, ze kterého se budou měřit spektra, a provede se tzv. lokální shim. Při něm se pomocí čtyř shimovacích cívek nastavuje homogenita magnetického pole přímo uvnitř VOI pro zajištění nejlepší možné homogenity ve vyšetřované oblasti. Tloušťka d CSI vrstvy je z důvodu nutnosti získání dostatečného poměru signál/šum volena 18 mm.

Aby nebyla spektra ovlivněna nežádoucím signálem z tkáně mimo vybraný VOI, je před samotnou CSI sekvencí aplikována série saturačních pulzů. Je tedy nutné nastavit tloušťku a pozici saturačních vrstev. Celkem jich bylo používáno 8.

CSI spektra byla měřena pulzní sekvencí 2D PRESS-SI. Optimalizace sekvence se prováděla nastavením frekvence, změnami napětí na transmitteru pro nastavení správné hodnoty sklápěcího úhlu pulzu a pro dosažení optimálního potlačení vody. Parametry sekvence i měřeného VOI jsou uvedeny v Tab. 10.

3.4.4 Difuzní obrazy

Difuzní obrazy obsahují transversální řezy mozkiem o tloušťce $d = 3$ a $d = 5$ mm. Jsou měřeny vždy 3x, pokaždé s jinou hodnotou gradientů b , a poté je z nich automaticky zrekonstruován obraz se stopami difuze pro každý pixel. Vzdálenost mezi jednotlivými řezy je nastavena na 0 mm, proto je nutné jednotlivé vrstvy měřit "interleaved" modem. Počet měřených vrstev byl podle potřeby volen v rozmezí 7-12. Parametry pro měření difuze jsou zapsány v Tab. 10.

3.4.5 Doba vyšetření

Doba vyšetření celého výše uvedeného protokolu se pohybuje okolo 45 minut. Naměření MR obrazů trvá u pacientů přibližně 5 min, u dobrovolníků necelé 3 min. Čas potřebný pro naměření MPRAGE obrazů závisí na počtu řezů, a tedy na velikosti hlavy pacienta či dobrovolníka. A obvykle se pohybuje v rozmezí 6-8 minut. Samotné spektroskopické měření trvá při 2 akvizicích necelých 13 min. K tomuto času je však nutné připočítat čas potřebný pro globální a lokální shimování homogenity magnetického pole, nastavení polohy a parametrů vyšetřovaného VOI, nastavení saturačních vrstev pro potlačení okolní tkáně a dobu pro optimalizaci každé sekvence (nastavení frekvence, dosažení optimálního potlačení vody,..). Proto může být celkový čas spektroskopického vyšetření až o 12 min delší. Nakonec jsou měřeny difuzní obrazy,

což trvá necelé 4 minuty. S ohledem na celkovou dobu vyšetření a na schopnosti pacienta setrvat uvnitř tomografu bez pohnutí, lze podle potřeby spektroskopické měření zopakovat s jinou polohou VOI. Obecně platí, že délka vyšetření by neměla překročit 1 hodinu.

3.5 Zpracování naměřených dat

Korelace mezi koncentrací metabolitů a stopou difuzního tenzoru je získána poloautomatickým programem KORELACE, jehož popis je uveden v sekci 4.2. MR a difuzní obrazy jsou po naměření vyexportovány do pracovního adresáře programu, kde jsou k dispozici ke zpracování tímto programem. MPRAGE obrazy a spektroskopická data je však nejprve nutno zpracovat jinými programy. V případě MPRAGE obrazů se jedná o volně dostupný program SPM2, jehož výstupem jsou tři 3D segmentované obrazy zvýrazňující oblasti bílé hmoty, šedé hmoty a mozkomíšního moku. Segmentované obrazy jsou k dispozici pro použití programem CULICH (viz sekce 2.3), který zpracovává naměřená spektroskopická data následujícím způsobem: 1. krokem je doplnění nulami z 16x16 na 32x32 voxelů. Dále je proveden posun spektroskopické sítě podle pozice měřené oblasti. Dalším krokem je filtrování k-prostoru před následnou diskrétní Fourierovou transformací. U všech zpracovávaných dat byl použit Hamming filter. Podrobnosti jsou uvedeny v sekci 2.3.2. Na konec je nutno zapsat souřadnice voxelů měřené oblasti a vybrat bázi, jakou byla spektra naměřena. Další zpracování včetně fitování a výpočtů koncentrací pomocí programu LCModel je plně automatické. Výsledné soubory s údaji o koncentracích metabolitů jsou zkopírovány do pracovního adresáře programu Korelace a je s nimi dále pracováno tak, jak je popsáno v sekci 4.2.

4 Výsledky

4.1 Opakovatelnost a reprodukovatelnost dat na 1.5T a 3T

Získané hodnoty koncentrace jednotlivých metabolitů LCModelem byly upraveny na množství CSF v měřeném VOI a statisticky zpracovány. Výsledky jsou zapsány do Tab. 12, 14 a 16.

Procentuální zastoupení bílé hmoty, šedé hmoty a mozkomíšního moku ve vybraném VOI (viz Obr. 15) u všech tří dobrovolníků získané po segmentaci jsou zapsány do Tab. 11.

Tabulka 11: Segmentace VOI pro jednotlivá měření

Tomograf	1.5T			3T		
Měření	WM [%]	GM [%]	CSF [%]	WM [%]	GM [%]	CSF [%]
D1-1	95.73	2.74	1.54	95.01	4.91	0.08
D1-2	95.91	3.74	0.35	89.61	10.15	0.24
D1-3	96.51	2.41	1.08	92.77	7.11	0.12
D2-1	29.68	58.29	12.03	24.61	65.29	10.10
D2-2	26.80	58.81	14.39	22.14	67.82	10.04
D2-3	24.95	60.96	14.09	29.67	62.65	7.68
D3-1	11.41	71.80	16.79	9.39	60.76	29.84
D3-2	10.29	69.97	19.74	9.63	60.96	29.42
D3-3	11.68	71.26	17.05	9.60	63.72	26.68

Jednotlivé hodnoty opakovatelností pro 1.5T a 3T uvedené v Tab. 12, 14 a 16 byly spočteny vždy z dané série tří měření, kdy se stolem tomografu nebylo hýbáno. Každá tabulka obsahuje 3 hodnoty opakovatelností (označené indexem se zkratkou dobrovolníka a číslem měření u značky metabolitu), protože byly provedeny celkem 3 série měření. Hodnoty koncentrace $[X]_o$ pro danou sérii jsou průměry hodnot jednotlivých měření $[X]^i$ a odchylky σ_o jsou směrodatné odchylky měření spočtené pomocí vzorce

$$\sigma_o = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_i ([X]^i - [\bar{X}])^2}, \quad (59)$$

kde $[\bar{X}]$ je nejpravděpodobnější hodnota koncentrace daného metabolitu a N je počet měření.

Pro měření s echo časem TE=135 ms na 1.5T tomografu jsou v tabulkách uvedeny všechny počítané metabolity. Při echo času TE=10 ms je počítaných sloučenin 15. Jelikož však některé z nich nejsou pro naše měření tak významná, nejsou v tabulkách uvedeny. Jedná se o scylloinozitol, alanin, glukózu, NAAG, guanin a $-\text{CH}_2$ skupinu od kreatinu.

U 3T tomografu pro echo čas TE=135ms je pro porovnání s hodnotami na 1.5T tomografu uvedeno 5 metabolitů, taurin není v této bázi fitován. Ve skutečnosti však báze obsahuje 14 metabolitů. Při vyšších magnetických polích lze již totiž rozlišit např. fosfokreatin od kreatinu, glykofosfocholin a fosfocholin od cholinu apod. Aby bylo možné porovnat výsledky z měření v poli 1.5T a 3T, jsou v tabulkách uvedeny součty těchto metabolitů. Báze pro echo čas TE=30 ms obsahuje celkem 18 metabolitů. V tabulkách nejsou uvedeny hodnoty pro alanin, aspartát, glukózu, scylloinozitol, NAAG, guanin a $-\text{CH}_2$ skupina od kreatinu.

Každá tabulka dále obsahuje spočtené relativní odchylky δ stanovení koncentrací jednotlivých metabolitů.

Ve všech bázích, se kterými bylo pracováno, jsou počítány i koncentrace a odchylky různých lipidů a makromolekul. Tyto látky však pro naše měření nejsou důležité, proto se zde o jejich výsledcích nezmiňujeme.

Hodnoty koncentrací $[X]_r$ pro reprodukovatelnost uvedené v Tab. 13, 15 a 17 byly počítány jako vážené průměry hodnot opakovatelností $[X]_o^i$ podle vzorce

$$[X]_r = \frac{\sum_i w_i [X]_o^i}{\sum_i w_i}, \quad (60)$$

kde w_i je váha jednotlivých koncentrací opakovatelností daná svými směrodatnými odchylkami. Matematicky vyjádřeno

$$w_i = \frac{1}{\sigma_{i,o}^2} \quad (61)$$

Odchylka vážených průměrů reprodukovatelností σ_r je počítána podle vzorce

$$\sigma_r = \sqrt{\frac{1}{\sum_i w_i}} \quad (62)$$

Na Obr. 17 a 18 jsou pro porovnání zobrazena spektra u dobrovolníka D3 na 1.5T a 3T tomografu. Červeně zvýrazněné spektrum vždy označuje fit dat spočtený LCModelem. V horní části je zobrazeno reziduum naměřených a fitovaných dat. V pravé části jsou uvedeny metabolity pro danou bázi a k nim spočtené hodnoty koncentrací a odchylky dané podle Cramer-Rao bound. Pro posouzení kvality spekter je také důležitá hodnota poměru signálu a šumu, uvedená ve spodní části obrázku.

Tabulka 12: Opakovatelnost měření D1

Tomograf	1.5T			3T		
Metabolit X	$[X]_o$ (mM)	σ_o (mM)	δ_o (%)	$[X]_o$ (mM)	σ_o (mM)	δ_o (%)
Cho ^{D1-1}	1.765	0.039	2.2	3.746	0.067	1.8
Cr ^{D1-1}	4.59	0.11	2.5	9.68	0.37	3.9
Ins ^{D1-1}	5.57	0.94	16.9	4.92	0.78	15.9
Lac ^{D1-1}	0.365	0.049	13.4	1.94	0.40	20.4
NAA ^{D1-1}	10.87	0.46	4.3	25.45	0.26	1.0
Tau ^{D1-1}	0.065	0.065	100.0	-	-	-
Cho ^{D1-2}	1.804	0.076	4.2	3.48	0.11	3.2
Cr ^{D1-2}	4.40	0.31	7.0	10.04	0.26	2.6
Ins ^{D1-2}	3.70	0.86	23.2	5.1	2.4	46.8
Lac ^{D1-2}	1.35	0.69	51.5	1.31	0.41	31.4
NAA ^{D1-2}	10.95	0.39	3.5	26.05	0.44	1.7
Tau ^{D1-2}	0	0	-	-	-	-
Cho ^{D1-3}	1.882	0.060	3.2	3.460	0.074	2.2
Cr ^{D1-3}	4.52	0.66	14.7	10.20	0.38	3.7
Ins ^{D1-3}	2.9	1.9	63.9	5.49	0.41	7.4
Lac ^{D1-3}	1.58	0.81	51.2	0.49	0.49	100.0
NAA ^{D1-3}	11.54	0.24	2.1	26.06	0.39	1.5
Tau ^{D1-3}	0.38	0.38	100.0	-	-	-

Tabulka 13: Reprodukovatelnost měření D1

Tomograf	1.5T			3T		
Metabolit X	$[X]_r$ (mM)	σ_r (mM)	δ_r (%)	$[X]_r$ (mM)	σ_r (mM)	δ_r (%)
Cho	1.800	0.030	1.7	3.594	0.046	1.3
Cr	4.56	0.11	2.3	9.99	0.19	1.9
Ins	4.38	0.60	13.7	5.36	0.36	6.6
Lac	0.374	0.047	13.0	1.35	0.25	18.3
NAA	11.29	0.19	1.7	25.72	0.19	0.8
Tau	0.074	0.064	87	-	-	-

Tabulka 14: Opakovatelnost měření D2

Tomograf	1.5T			3T		
Metabolit X	$[X]_o$ (mM)	σ_o (mM)	δ_o (%)	$[X]_o$ (mM)	σ_o (mM)	δ_o (%)
Cho ^{D2-1}	2.39	0.54	22.5	2.69	0.26	9.8
Cr ^{D2-1}	8.0	1.4	17.5	8.22	0.50	6.1
Ins ^{D2-1}	5.1	1.1	22.3	7.2	1.8	25.4
Lac ^{D2-1}	3.5	1.8	50.7	0.81	0.50	61.8
NAA ^{D2-1}	9.9	1.2	11.9	9.06	0.97	10.8
Tau ^{D2-1}	1.4	1.4	100.0	-	-	-
Cho ^{D2-2}	2.39	0.12	5.2	2.52	0.14	5.7
Cr ^{D2-2}	6.78	0.11	1.7	8.44	0.31	3.6
Ins ^{D2-2}	2.0	2.0	100.0	2.13	0.76	35.7
Lac ^{D2-2}	2.77	0.50	18.2	1.10	0.19	17.6
NAA ^{D2-2}	9.01	0.27	3.0	9.32	0.57	6.1
Tau ^{D2-2}	0	0	-	-	-	-
Cho ^{D2-3}	2.255	0.092	4.1	2.48	0.13	5.3
Cr ^{D2-3}	6.81	0.37	5.5	8.08	0.71	8.7
Ins ^{D2-3}	1.9	1.9	100.0	3.7	2.0	53.7
Lac ^{D2-3}	5.35	0.54	10.1	0.62	0.25	40.5
NAA ^{D2-3}	9.05	0.13	1.4	9.47	0.72	7.6
Tau ^{D2-3}	0	0	-	-	-	-

Tabulka 15: Reprodukovatelnost měření D2

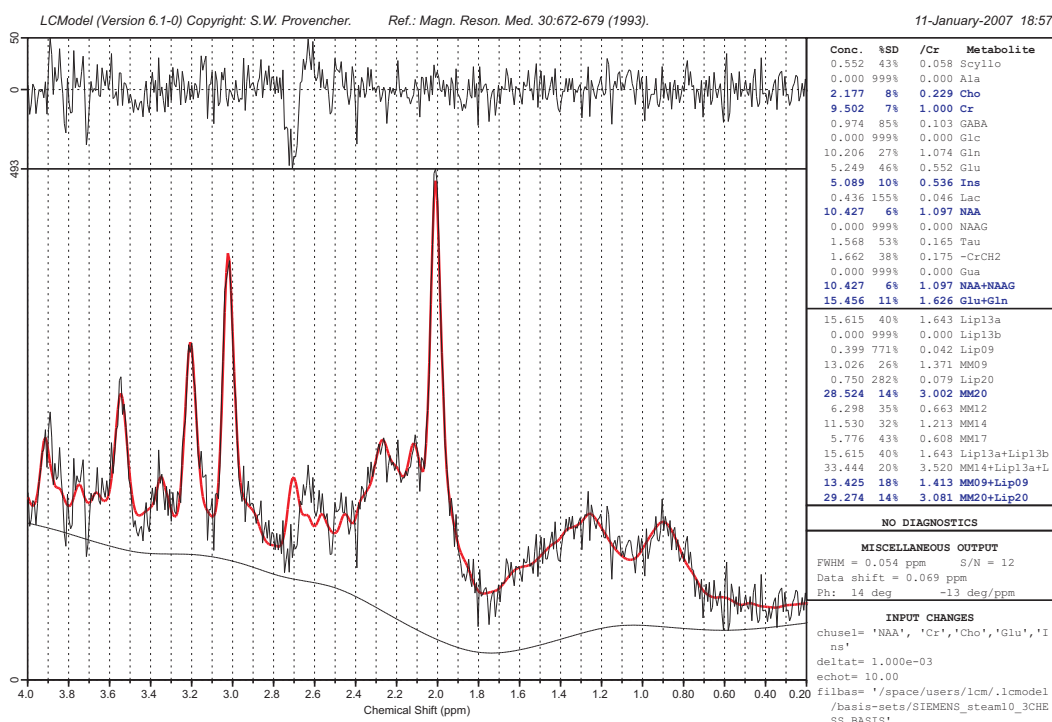
Tomograf	1.5T			3T		
Metabolit X	$[X]_r$ (mM)	σ_r (mM)	δ_r (%)	$[X]_r$ (mM)	σ_r (mM)	δ_r (%)
Cho	2.303	0.073	3.2	2.521	0.091	3.6
Cr	6.79	0.11	1.6	8.34	0.24	2.9
Ins	3.82	0.87	22.9	2.97	0.66	22.3
Lac	3.94	0.36	9.2	0.91	0.15	16.0
NAA	9.05	0.12	1.3	9.32	0.40	4.3
Tau	0.46	0.80	173	-	-	-

Tabulka 16: Opakovatelnost měření D3

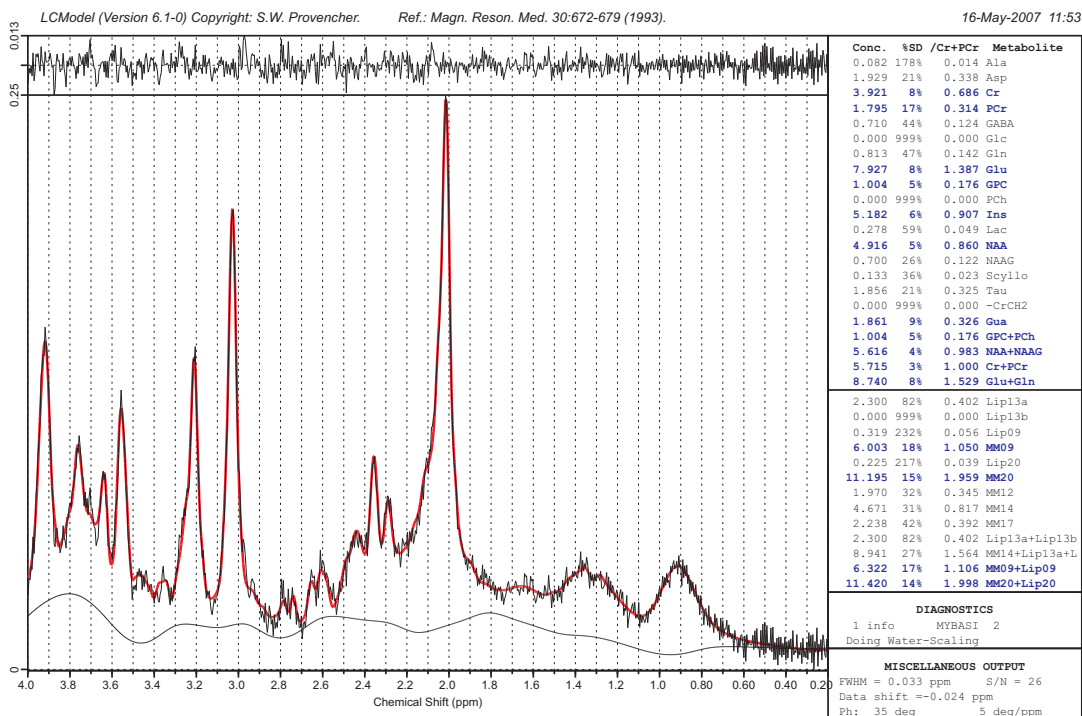
Tomograf	1.5T			3T		
Metabolit X	$[X]_o$ (mM)	σ_o (mM)	δ (%)	$[X]_o$ (mM)	σ_o (mM)	δ (%)
Cho ^{D3-1}	2.27	0.13	5.9	1.007	0.048	4.7
Cr ^{D3-1}	11.81	0.53	4.5	5.874	0.041	0.7
GABA ^{D3-1}	1.36	0.24	17.3	0.67	0.24	35.8
Ins ^{D3-1}	5.85	0.45	7.8	6.611	0.070	1.1
Lac ^{D3-1}	0.23	0.23	100.0	0.22	0.11	50.6
NAA ^{D3-1}	11.12	0.22	2.0	7.50	0.15	2.0
Tau ^{D3-1}	1.06	0.64	60.4	1.76	0.19	10.7
Glu + Gln ^{D3-1}	17.66	0.46	2.6	13.517	0.098	0.7
Cho ^{D3-2}	2.427	0.053	2.2	0.940	0.045	4.7
Cr ^{D3-2}	11.52	0.19	1.7	5.49	0.17	3.1
GABA ^{D3-2}	1.910	0.027	1.4	1.14	0.42	36.7
Ins ^{D3-2}	5.82	0.38	6.5	6.45	0.26	4.1
Lac ^{D3-2}	1.22	0.42	34.4	0.24	0.13	52.1
NAA ^{D3-2}	12.00	0.21	1.7	6.870	0.039	0.6
Tau ^{D3-2}	1.58	0.49	31.1	1.35	0.39	28.9
Glu + Gln ^{D3-2}	17.22	0.34	2.0	12.20	0.24	2.0
Cho ^{D3-3}	2.591	0.098	3.8	1.067	0.037	3.5
Cr ^{D3-3}	11.24	0.14	1.3	5.89	0.10	1.7
GABA ^{D3-3}	1.14	0.48	42.3	1.132	0.087	7.7
Ins ^{D3-3}	5.68	0.26	4.5	6.70	0.29	4.3
Lac ^{D3-3}	0.52	0.30	57.4	0.410	0.031	7.6
NAA ^{D3-3}	11.82	0.38	3.2	7.86	0.17	2.1
Tau ^{D3-3}	1.36	0.28	20.5	1.58	0.52	32.9
Glu + Gln ^{D3-3}	15.8	1.4	9.1	13.05	0.78	6.0

Tabulka 17: Reprodukovatelnost měření D3

Tomograf	1.5T			3T		
Metabolit X	$[X]_r$ (mM)	σ_r (mM)	δ_r (%)	$[X]_r$ (mM)	σ_r (mM)	δ_r (%)
Cho	2.443	0.044	1.8	1.013	0.025	2.4
Cr	11.36	0.11	1.0	5.858	0.037	0.6
GABA	1.901	0.027	1.4	1.081	0.081	7.5
Ins	5.75	0.19	3.3	6.605	0.066	1.0
Lac	0.48	0.17	34.8	0.389	0.029	7.5
NAA	11.63	0.14	1.2	6.957	0.037	0.5
Tau	1.37	0.23	16.6	1.67	0.16	9.7
Glu + Gln	17.32	0.27	1.6	13.323	0.090	0.7



Obrázek 17: Výstup spektra z LCModelu u dobrovolníka D3 na 1.5T tomografu z oblasti GM frontální



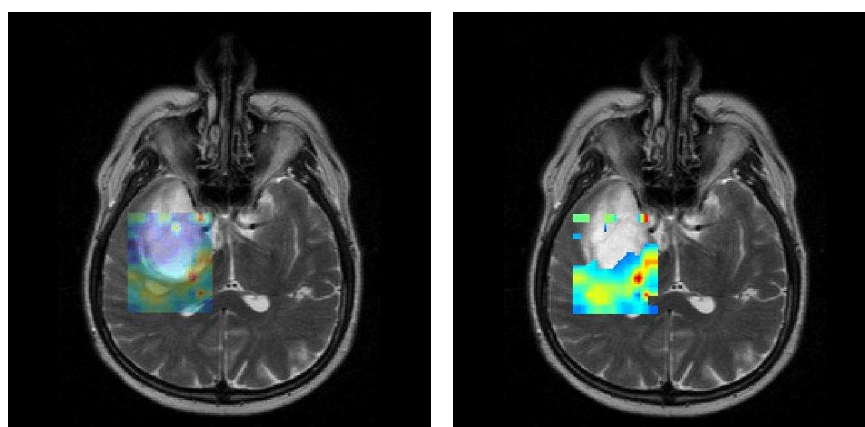
Obrázek 18: Výstup spektra z LCModelu u dobrovolníka D3 na 3T tomografu z oblasti GM frontální

4.2 Program KORELACE

Aby bylo možné zpracovávat data metodou "pixel po pixelu", bylo nutné vyvinout nový program, který by to umožňoval. Všechna dosavadní korelační měření mezi koncentrací cholinových sloučenin a ADC byla totiž prováděna na základě dat získaných metodou SVS v několika homogenních oblastech tumoru u různých pacientů s různým stupněm onemocnění. Program KORELACE byl vyvinut v programovacím prostředí MATLAB [52].

Program pracuje s MR obrazem, metabolickým a difuzním obrazem daného pacienta. Po zobrazení MR obrazu se automaticky načtou informace o měření CSI. Báze, kterou bylo CSI měřeno, rozhoduje o metabolitech, jejichž mapy můžeme zobrazit. Jelikož cílem této práce je především zjištění závislosti koncentrace cholinu na ADC, standardně vybíráme cholinovou mapu (viz Obr. 20). Načtený metabolický obraz je zobrazen na MR obraz. Jelikož však oba obrazy mají různé rozlišení a různé FoV, je nutné správné umístění CSI map na MR obraze přepočítávat přes osy magnetu. Polohy jednotlivých obrazů vzhledem k těmto osám, informace o FoV, rozlišení obrazů, velikosti sítě u CSI, apod. jsou standardně softwarem tomografu uloženy do hlavičky jednotlivých měření. Jak již bylo popsáno v sekci 2.3.5, pozice metabolických obrazů je z důvodu chemického posunu závislá na zvoleném metabolitu. Při přepočítávání souřadnic pro správné umístění CSI map na MR obraz je ještě nutné započítávat korekce na příslušný chemický posun.

Program umožňuje podle potřeby měnit rozlišení metabolických map. Původní rozlišení těchto obrazů po zpracování programem CULICH je 32x32 voxelů. Před zobrazením CSI jsou však data automaticky interpolována a konečná hodnota je tak 128x128. Pokud je třeba, lze toto rozlišení změnit i na 64x64 nebo 256x256 voxelů.



(a) Zprůhlednění CSI obrazu

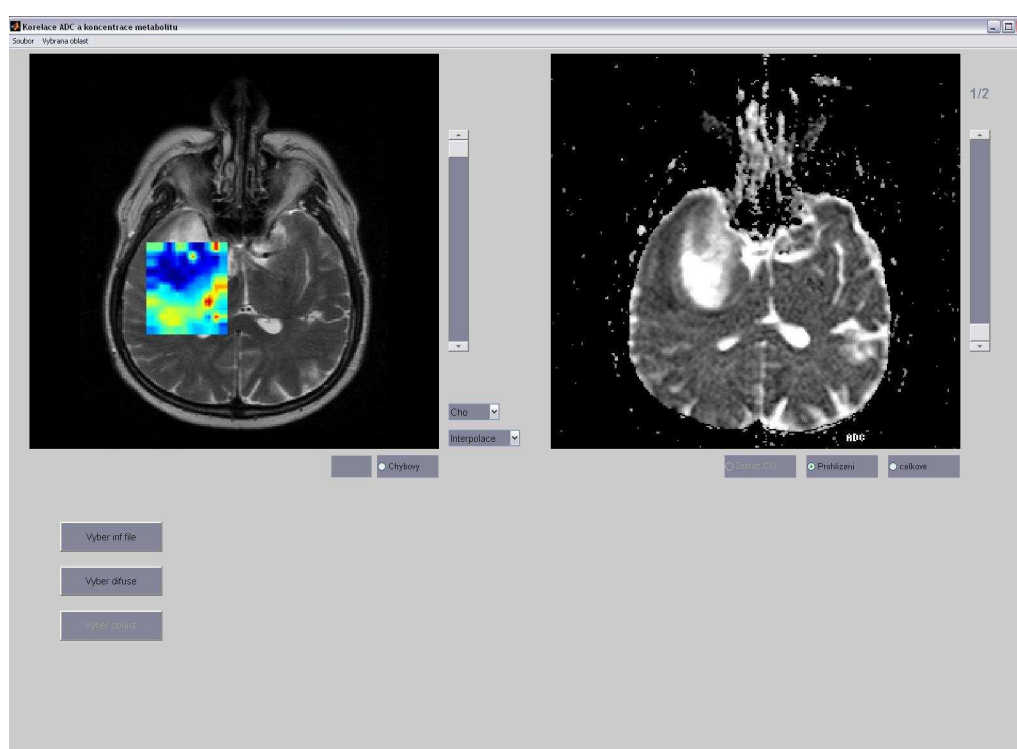
(b) Filtrace chyb na CSI obraze

Obrázek 19: Úpravy metabolického obrazu

Jelikož by však takto zobrazený metabolický obraz překryl i část MR obrazu a byla by tak vizuálně ztracena informace z tohoto obrazu, program umožňuje

i zprůhlednění metabolického obrazu (viz Obr. 19(a)). Podle potřeby se zvolí nejvhodnější intenzita průhlednosti, tj. zda je viditelněji zobrazen MR obraz nebo CSI obraz. Standardně je nastavena nulová průhlednost pro metabolický obraz, tedy že CSI zcela MRI zakrývá.

Program dále umožňuje zobrazit metabolický obraz s přihlédnutím k chybovému obrazu počítaného programem CULICH. Pokud je chyba určení koncentrace pro daný voxel větší než zadaná maximální chyba, není tento voxel na CSI zobrazen. V místě toho voxelu je tedy zobrazen pouze MR obraz (viz Obr. 19(b)). Voxely, které nesplňují zadanou chybovou podmínku, nepřispívají ani do následně počítané korelace.



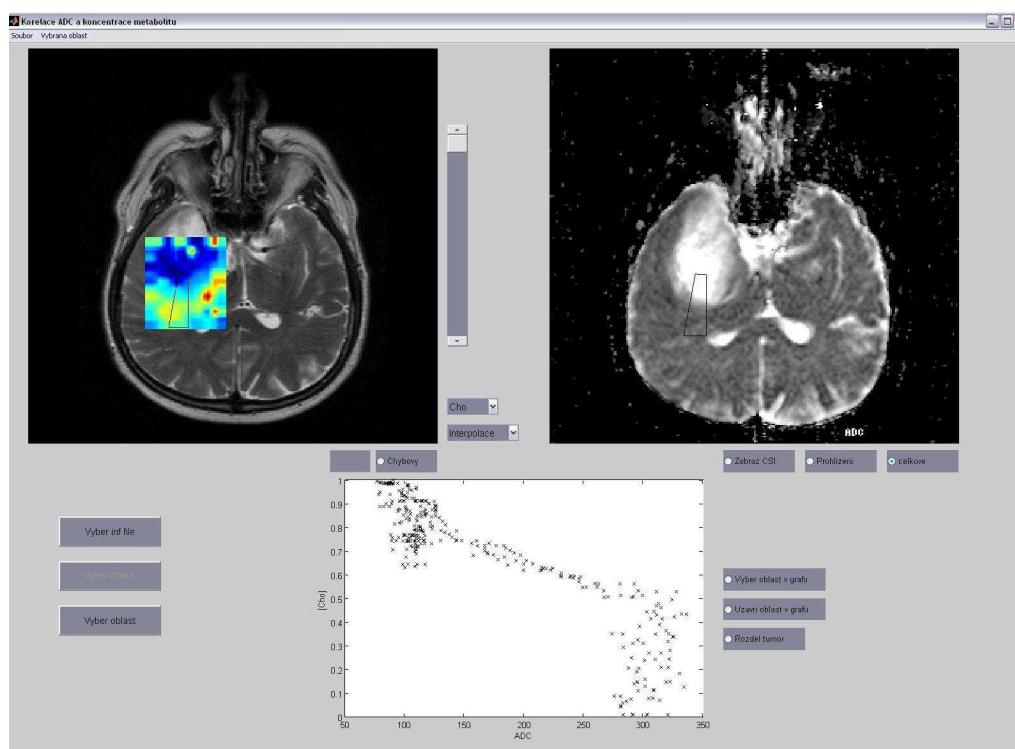
Obrázek 20: Zobrazený MR obraz, CSI obraz a jeden z vybraných difuzních obrazů

Z důvodu různých tloušťek metabolického a difuzního obrazu je nutné pracovat s celou sadou naměřených difuzních vrstev. Tloušťka CSI vrstvy na tomografu s magnetickým polem 1,5 T se standardně volí minimálně 15 mm a to převážně kvůli dostatečnému signálu z měřené vrstvy. Difuzní obrazy jsou měřeny zcela jiným způsobem než spektroskopické obrazy, a proto se zde standardní tloušťka pohybuje v rozmezí 3-6 mm. Aby tedy CSI a DWI data byla měřena ze shodné oblasti, je nutné vybrat difuzní vrstvy, které odpovídají CSI vrstvě. Tento výběr je prováděn automaticky. Algoritmus je nastaven tak, že pokud si vrstvy zcela neodpovídají, difuzní obraz je zařazen do výpočtu pouze tehdy, pokud je překryv s CSI vrstvou větší než polovina tloušťky difuzní vrstvy. Difuzní obrazy odpovídající CSI vrstvě jsou načteny, zobrazeny a lze mezi nimi listovat (viz Obr.20). Před zjišťováním korelace

mezi koncentrací Cho a ADC jsou vybrané difuzní obrazy zprůměrovány. Tímto způsobem je tedy zajištěno, že si data z CSI a DWI přibližně odpovídají.

Pokud je potřeba, je možno zobrazit metabolický obraz i na difuzní. Správné umístění obrazu se zajišťuje, stejně jako v případě CSI map na MR obraz, přepočítáváním souřadnic přes osy magnetu podle rozlišení a FoV daných obrazů.

Výběr oblasti, ze které se počítá korelace, se provádí v metabolickém obraze. Lze vybrat jakýkoliv tvar a jakékoliv umístění. Pokud je nějaká část vybraného útvaru mimo CSI nebo mimo zobrazenou oblast (v případě použití chybového metabolického obrazu), nejsou dané voxely do korelace zahrnuty. Daný tvar, velikost a umístění vybrané oblasti na CSI se přepočítává na tvar, velikost a umístění tomu odpovídající na difuzním obraze. Jedná se o úpravy různých rozlišení, FoV a pozic obou obrazů vůči osám magnetu.



Obrázek 21: MRI, CSI, průměrný DWI a korelace mezi koncentrací cholinových sloučenin [Cho] a hodnotou stopy difuze Tr_{ADC}

Jak již bylo uvedeno výše, standardní rozlišení metabolického obrazu po interpolaci je 128x128 pixelů. Pokud není provedena další interpolace až na 256x256 pixelů, je rozlišení CSI obrazu menší než difuzního obrazu. Kdyby se pro výpočet korelace použila pouze hodnota stopy difuze (Tr_{ADC}) pro pixel odpovídající pixelu z CSI, některé hodnoty difuzí by vůbec nebyly započteny. Algoritmus pro výpočet hodnot difuzí byl proto nastaven tak, že se k hodnotě difuze Tr_{ADC} v daném místě započítávají i hodnoty difuze Tr_{ADC} okolních pixelů v poměru, jakým

přispívají do pomyslného voxelu na difuzním obraze vytvořeného kolem přesné pozice přepočítané z pozice na metabolickém obraze.

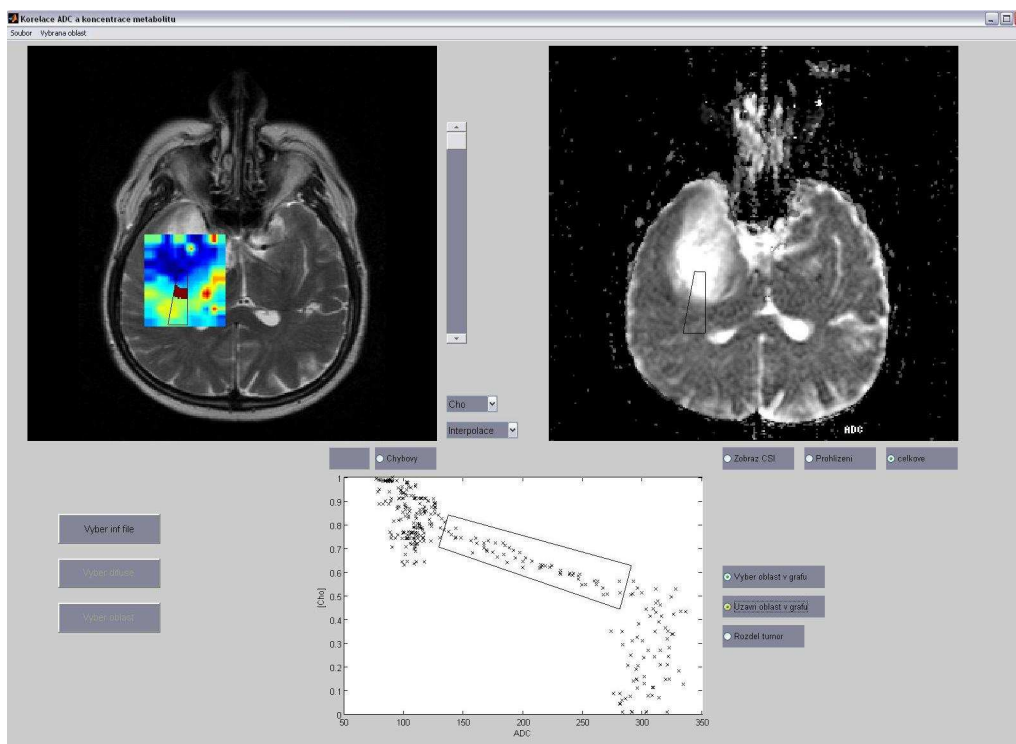
Matematicky vyjádřeno:

$$I_{celk} = \frac{\sum_n I_n \frac{S_n}{S}}{\sum_n \frac{S_n}{S}}, \quad (63)$$

kde I_{celk} je výsledná intenzita pro počítaný pixel, suma je počítaná přes všechny pixely n , do kterých zasahuje pomyslný pixel přenesený z CSI, I_n je stopa difuze v jednotlivých pixelech obklopující počítaný pixel, S_n je plocha, kterou v daném pixelu zaujímá nově vytvořený imaginární pixel a S je plocha imaginárního pixelu přeneseného z CSI.

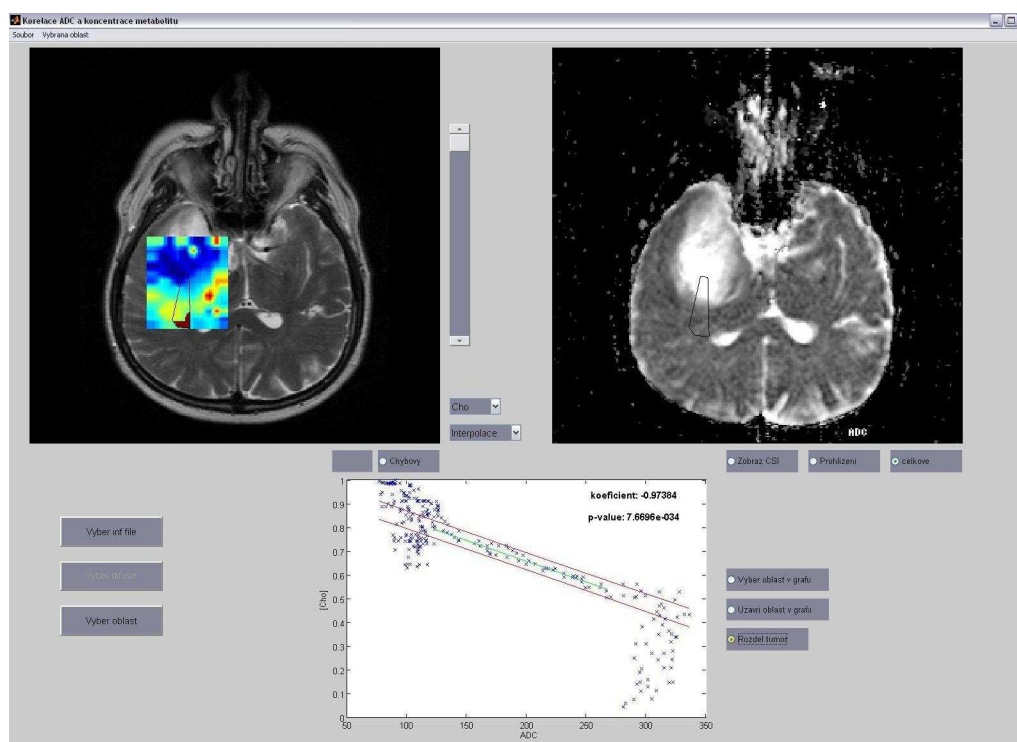
Z hodnot pixelů ve vybrané oblasti na metabolickém obraze a z hodnot pixelů odpovídající této oblasti na difuzním obraze je vytvořena závislost a zobrazena do grafu, jehož x-ová osa odpovídá hodnotám stopy difuze Tr_{ADC} a y-ová osa odpovídá hodnotám koncentrací cholinu $[Cho]$ (viz Obr.21).

Pro zjištění, jaký bod v grafu odpovídá jakému místu na CSI obraze, je provedena zpětná transformace dat. V grafu se vybere oblast obsahující studované body a ta je přepočítána zpět na pozice v CSI. Vybraná oblast je zvýrazněna blikajícími pixely na metabolickém obraze (viz Obr.22).



Obrázek 22: Zvýraznění pixelů (tmavě červeně) na metabolickém obraze odpovídající vybraným bodům v grafu

Program dále umožňuje zjištění směrnice a hodnoty intervalu spolehlivosti pro nejlepší regresi pro oblast grafu, která má lineární průběh. Předtím jsou podle zadaných parametrů odděleny nelineární části. Spočtená závislost v dané oblasti je následně prodloužena na celou oblast grafu. Body, které nepodléhají zjištěné statistice a zároveň jejichž hodnota difuze je menší než experimentálně zjištěná hodnota, jsou zpětnou transformací přepočteny na pozice na metabolickém obraze a tam opět formou blikajících pixelů zvýrazněny. Tyto body by měly odpovídat zdravé tkáni (viz Obr.23).



Obrázek 23: Korelace s intervalem spolehlivosti pro nejlepší fit a zvýraznění pixelů na metabolickém obraze značící oblast zdravé tkáně

4.3 Zdraví dobrovolníci

4.3.1 Korelace mezi koncentrací cholinu a stopy difuze

Aby bylo možné s jistotou říci, že případná korelace mezi koncentrací cholinu a stopy difuzního tenzoru je dána pouze výsledkem změn metabolismu v tumorózní tkáni, bylo nutné naměřit kontrolní skupinu zdravých dobrovolníků. Snahou bylo, aby oblast vybíraná pro korelační měření u dobrovolníků vždy obsahovala jak bílou hmotu, tak šedou hmotu a zároveň se ale nacházela mimo oblast komor vyplněných mozkomíšním mokem. Důvodem byla skutečnost, že v případě tumoru není možné od sebe přesně odlišit oblasti bílé a šedé hmoty. Komory jsou však většinou i v tumoru dobře viditelné a je tedy možné je do korelace nezahrnout. Přesné rozdíly

koncentrací metabolitů a hodnot difuzních koeficientů mezi bílou a šedou hmotou a mozkomíšním mokem jsou zpracovány v sekci 4.3.2. Z technických důvodů však 2 měření dobrovolníků nebyla do výsledků zahrnuta. U dobrovolníka D4 byla spektra značně rozšířena špatným nastavením homogenity magnetického pole. U dobrovolníka D6 byla dosažena příliš nízká hodnota poměru signál/šum. V obou případech mají tedy spektra malou vypovídací hodnotu. V Tab. 18 a 19 jsou uvedena rozmezí hodnot koncentrací cholinu a stop difuzního tenzoru ve zdravé tkáni levé a pravé hemisféry mozku, tj. bez mozkomíšního moku, přičemž není rozlišováno mezi bílou a šedou hmotou. Hodnoty koncentrace cholinu nejsou upraveny na relaxační čas daného metabolitu. V tabulce je dále uvedena chyba σ_{cho}^{max} odpovídající maximální chybě koncentrace cholinu v oblasti, kde byl proveden výpočet korelace. Hladina statistické významnosti korelace ve vybrané oblasti je vyjádřena *p-hodnotou*.

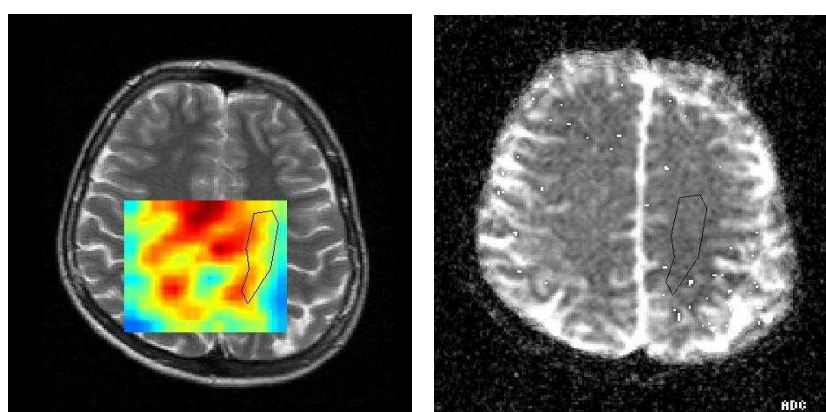
Tabulka 18: Hodnoty $[Cho]$ a Tr_{ADC} ve zdravé tkáni levé hemisféry

Dobrovolník	Věk	$[Cho]$ (mM)	σ_{cho}^{max} (%)	Tr_{ADC} (mm ² /s)	<i>p</i> – hodnota
D5	21	0.35–0.63	15	47–110	0.21
D7	25	0.37–0.63	15	65–120	0.55
D8	24	0.40–0.63	25	55–105	0.86
D9	26	0.43–0.64	14	70–108	0.14
D10	20	0.35–0.65	20	71–118	0.16

Tabulka 19: Hodnoty $[Cho]$ a Tr_{ADC} ve zdravé tkáni pravé hemisféry

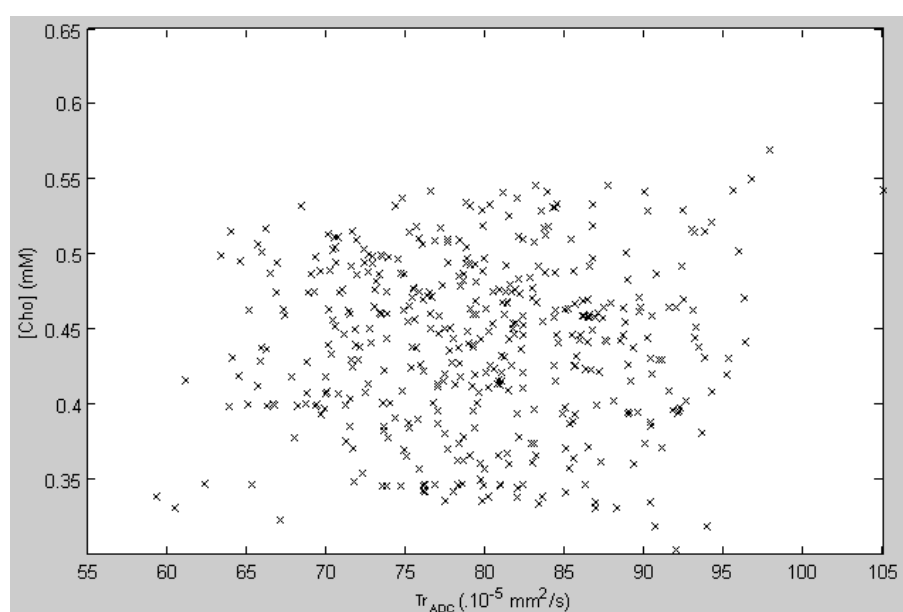
Dobrovolník	Věk	$[Cho]$ (mM)	σ_{cho}^{max} (%)	Tr_{ADC} (mm ² /s)	<i>p</i> – hodnota
D5	21	0.43–0.66	17	56–118	0.44
D7	25	0.30–0.58	18	59–105	0.42
D8	24	0.31–0.80	24	54–103	0.25
D9	26	0.36–0.64	17	52–118	0.24
D10	20	0.33–0.61	18	65–107	0.50

Jak vyplývá z ukázkového příkladu korelací na Obr. 24 a z Tab. 18 a 19, jakákoliv závislost mezi koncentrací cholinových sloučenin a stopou difuzního tenzoru metodou pixel po pixelu ve zdravé tkáni byla vyloučena jak opticky, tak i určením hladiny statistické významnosti.



(a) Vybraná oblast na MRI

(b) Vybraná oblast na DWI

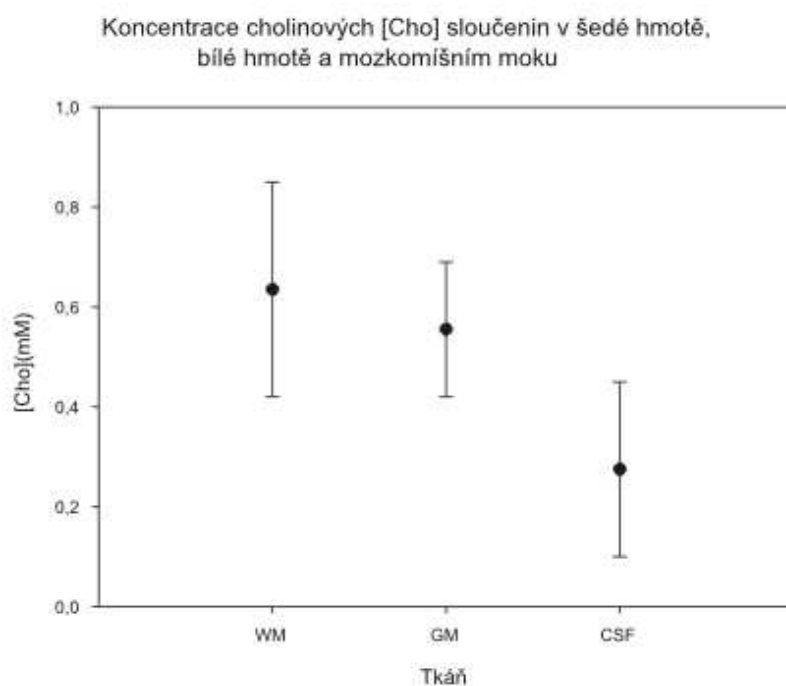


(c) Korelace

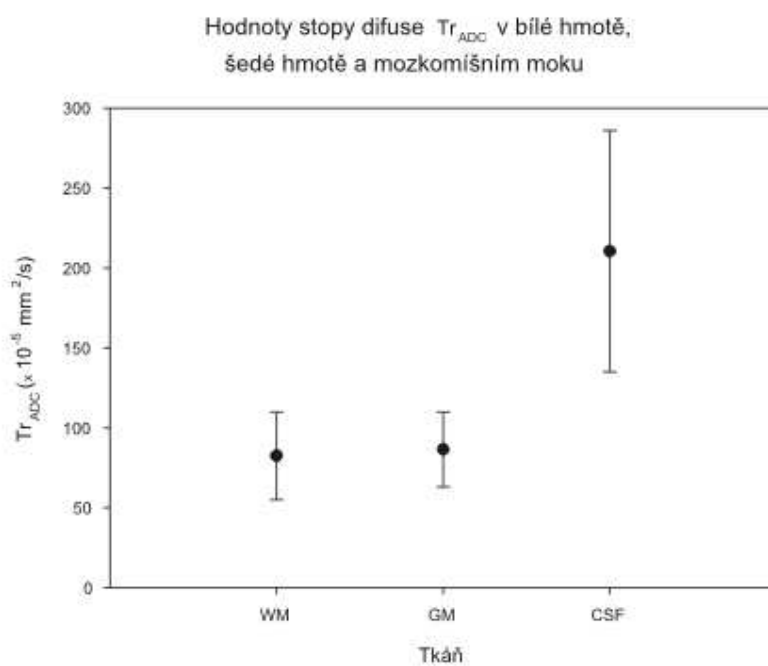
Obrázek 24: Příklad závislosti koncentrace cholinu [Cho] na stopě difuzního tenzoru Tr_{ADC} ve vybrané části zdravé tkáně

4.3.2 Hodnoty [Cho] a Tr_{ADC} v bílé a šedé hmotě a mozkomíšním moku u dobrovolníků

Aby bylo rozhodnutí o stavu zkoumané tkáně u pacientů co nejpřesnější, byly dále zjištěny hodnoty koncentrace cholinu a stopy difuzního tenzoru pro šedou hmotu, bílou hmotu a mozkomíšní mok zvlášť. Výsledné koncentrace cholinu pro jednotlivé tkáně jsou uvedeny v Tab. 20 a výsledné hodnoty stopy difuze v Tab. 21 a zobrazeny v grafu na Obr. 25. U dobrovolníků, jejichž CSI vrstva neprocházela komorami (lokalizace 1), nebyly hodnoty koncentrace ani difuze v mozkomíšním moku zjišťovány.



(a) Koncentrace cholinových sloučenin ve WM, GM a CSF



(b) Hodnoty stopy difuze ve WM, GM a CSF

Obrázek 25: Koncentrace cholinu [Cho] a hodnoty stopy difuze Tr_{ADC} v bílé hmotě, šedé hmotě a mozkomíšním moku

Tabulka 20: Hodnoty $[Cho]$ v šedé a bílé hmotě a mozkomíšním moku

Dobrovolník	Věk	$[Cho]^{WM}$ [mM]	$[Cho]^{GM}$ [mM]	$[Cho]^{CSF}$ [mM]
D5	21	0.42–0.63	0.44–0.53	0.38–0.41
D7	25	0.42–0.55	0.42–0.63	-
D8	24	0.47–0.85	0.47–0.59	0.10–0.43
D9	26	0.43–0.58	0.50–0.58	-
D10	20	0.48–0.70	0.50–0.69	0.30–0.45

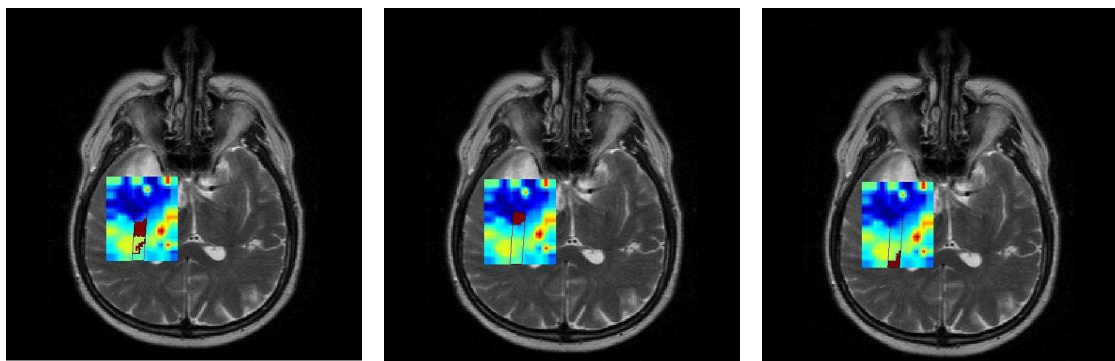
Tabulka 21: Hodnoty Tr_{ADC} v šedé a bílé hmotě a mozkomíšním moku

Dobrovolník	Věk	Tr_{ADC}^{WM} [mm^2/s]	Tr_{ADC}^{GM} [mm^2/s]	Tr_{ADC}^{CSF} [mm^2/s]
D5	21	55–110	63–107	164–228
D7	25	70–97	65–110	-
D8	24	67–100	64–97	148–286
D9	26	65–90	76–107	-
D10	20	73–104	63–109	135–250

4.4 Pacienti s tumorem

Jelikož se dosud publikované studie tumorů zabývaly pouze závislostí koncentrace cholinu na stopě difuzního tenzoru měřené metodou SVS v glioblastomech, je pro porovnání i tato práce zaměřena na pacienty s touto diagnózou. Ze studované skupiny pacientů byla histologickým vyšetřením diagnóza glioblastomu stanovena u 4 pacientů. U všech těchto pacientů byly pozorovány stejné tendence závislosti. Z nich byly vybrány 2 ukázky - viz Obr. 26 a 27.

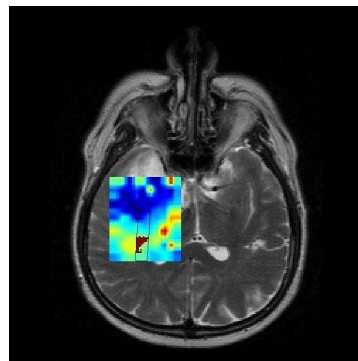
Jak je vidět na Obr. 26, u pacienta P11 byly nalezeny 4 oblasti, které se liší výrazně svými vlastnostmi. Statisticky významná záporná korelace, viditelná v oblasti 1 (viz Obr. 26(a)), se shoduje s výsledky dosud publikovaných korelací měřených metodou SVS. V této oblasti tumoru tedy dochází k pozvolným změnám vlastností tkáně. Zpracování výsledků metodou pixel po pixelu však ukázalo existenci dalších oblastí. Oblast 2, která se vyznačuje velmi vysokou hodnotou difuze a velmi malou hodnotou koncentrace cholinu, odpovídá nekrotické tkáni - viz Obr. 26(b). Oblast 3 (viz Obr. 26(c)) odpovídá zdravé tkáni, jelikož se svými hodnotami koncentrace cholinu i difuze blíží hodnotám naměřeným ve tkáni zdravých dobrovolníků. Oblast 4 (viz Obr. 26(d)) je zajímavá tím, že vykazuje sice zvýšené hodnoty koncentrace cholinu, ale hodnoty difuze zůstávají stejné jako u dobrovolníků. Z tohoto důvodu tedy zvýšená koncentrace cholinových sloučenin nemůže být způsobena rozpadem membrán buněk, ale pouze se zvyšuje metabolická aktivita buněk, tj. zvyšuje se syntéza membrán. Všechny 4 oblasti na grafu byly zvýrazněny tmavě červeně na metabolickém obraze a jsou zobrazeny v Obr. 26. Tomu odpovídající oblast na difuzním obraze je zobrazena na Obr. 26(e).



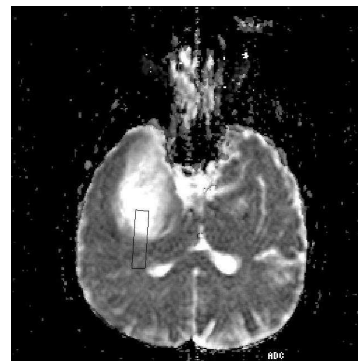
(a) Oblast 1

(b) Oblast 2

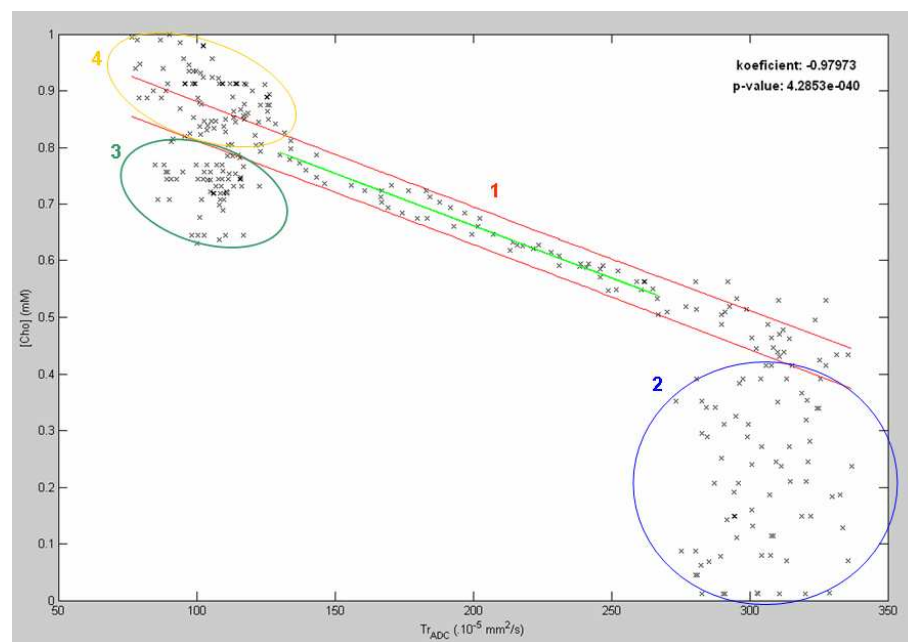
(c) Oblast 3



(d) Oblast 4

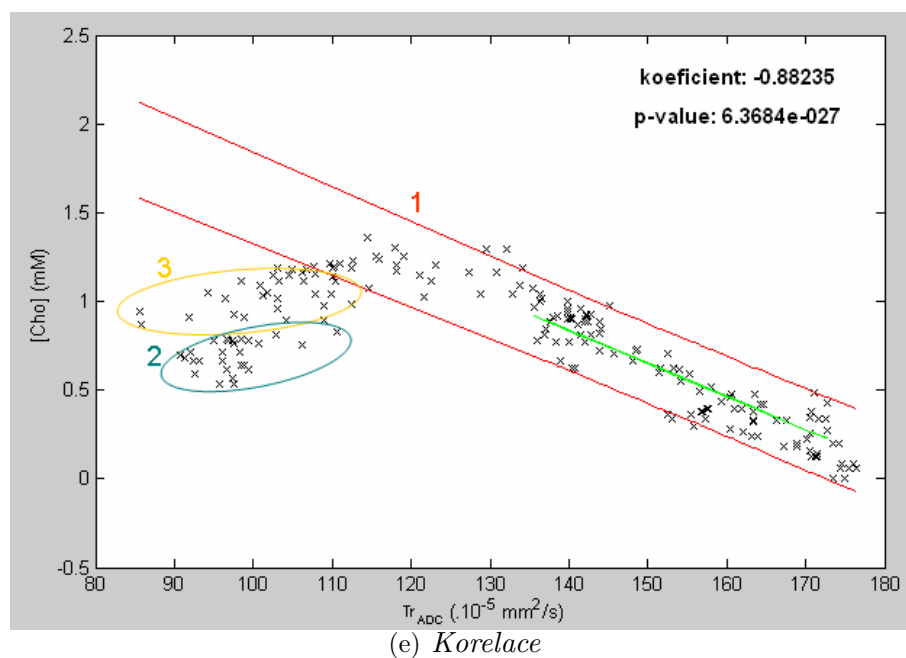
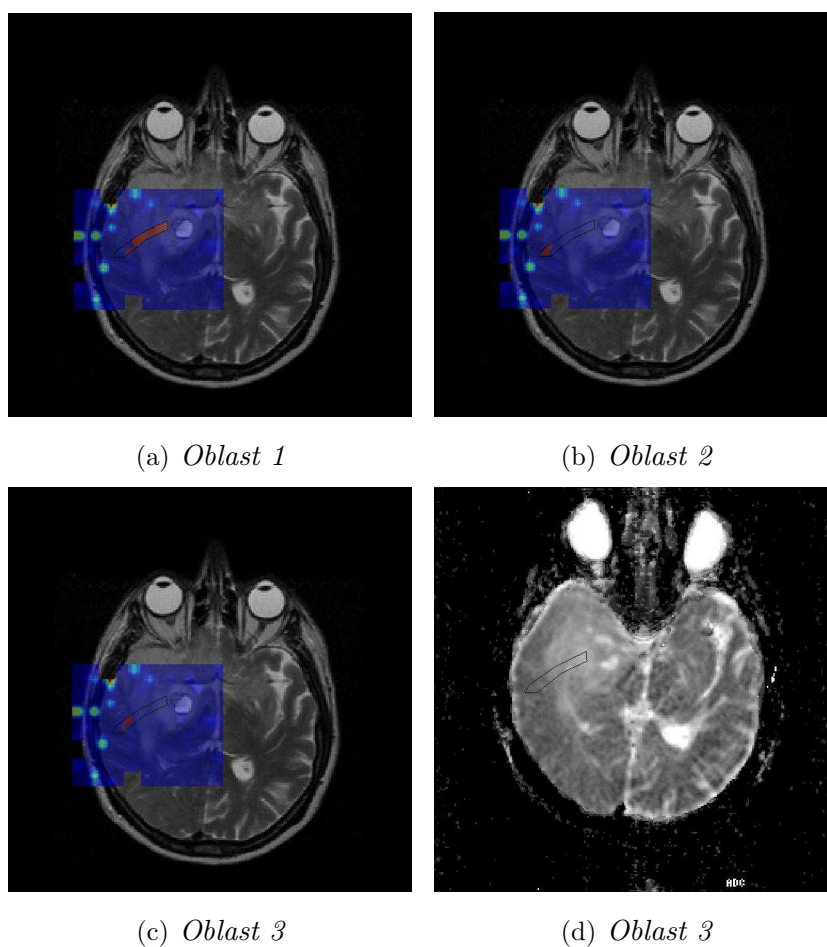


(e) Difuzní obraz



(f) Korelace

Obrázek 26: U glioblastomu P11 lze v grafu závislosti koncentrace cholinových sloučenin na hodnotě stopy difuzního tenzoru nalézt několik různých oblastí. Jim odpovídající oblasti tkáně jsou zvýrazněny tmavě červeně na metabolických obrazech a celá zkoumaná oblast je zobrazena na difuzním obraze. V grafu je také zobrazena hodnota statistické významnosti korelace a směrnice zkoumané závislosti.



Obrázek 27: U glioblastomu P3 lze v grafu závislosti koncentrace cholinových sloučenin na hodnotě stopy difuzního tenzoru nalézt několik různých oblastí. Jim odpovídající oblasti tkáně jsou zvýrazněny tmavě červeně na metabolických obrazech a celá zkoumaná oblast je zobrazena na difuzním obraze. V grafu je také zobrazena hodnota statistické významnosti korelace a směrnice zkoumané závislosti.

U další ukázky korelace je situace obdobná. V grafu pacienta P3 lze ale tentokrát nalézt pouze tři oblasti. Oblast nekrózy u tohoto pacienta nebyla ve vybrané oblasti potvrzena. Byla jen zkoumána omezená část mozku, protože je na MR obraze patrné místo kalcifikace či staršího krvácení. V tomto místě je tedy vlivem susceptibilitních efektů snižena kvalita spekter, a proto tato oblast nemohla být do zkoumané závislosti zařazena. V oblasti 1 (Obr. 27(a)) byla opět potvrzena statisticky významná záporná korelace mezi koncentrací cholinových sloučenin a stopy difuze. Oblast 2 (Obr. 27(b)) svými hodnotami odpovídá hodnotám zdravé tkáně dobrovolníků. Stejně jako u pacienta JS se i zde nachází oblast bez změněné hodnoty difuze (Oblast 3), pouze se zvyšuje množství cholinových sloučenin. V této oblasti tedy dochází k intenzivnější syntéze membrán, nikoliv k jejich rozpadu. Oblast 3 je zobrazena na Obr. 27(c). Červeně zvýrazněné oblasti na Obr. 27 odpovídají zmiňovaným oblastem.

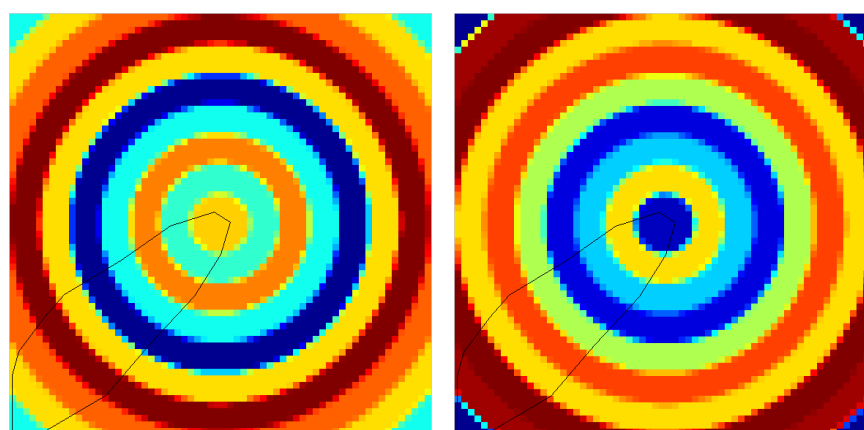
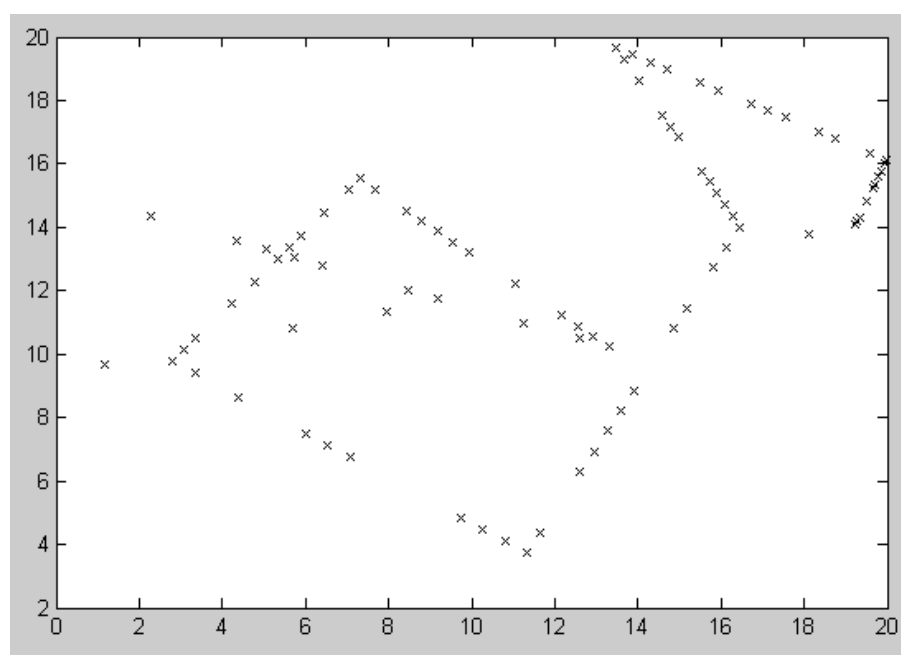
4.5 Simulace

Aby bylo možné posoudit vliv partial volume efektu na výsledky korelace, tj. zda je pozorovaná závislost koncentrace cholinových sloučenin na stopě difuzního tenzoru u pacientů dána vlastnostmi tumoru, a nebo zda vzniká jako důsledek partial volume efektu, byl program KORELACE upraven tak, aby se podle zadaného algoritmu generovaly dva obrazy simulující metabolický a difuzní obraz. Bylo provedeno několik pokusů s různými parametry generovaných obrazů (rozlišení, uspořádání a velikost hodnot pixelů,...). Cílem těchto simulací by mělo být zjištění, jak tyto parametry ovlivňují výslednou závislost hodnot jednoho obrazu na druhém.

4.5.1 Simulace 1

Nejjednodušší model simulace vygeneroval vždy 2 obrazy skládající se z několika soustředných kruhů. Hodnoty pro každý voxel v jednom kruhu byly stejné a hodnoty mezi jednotlivými kruhy se lišily podle náhodně vygenerovaných hodnot v řádu jednotek až desítek. Počáteční rozměr matice byl vždy 256x256. Snižování rozlišení bylo prováděno až na 16x16. Algoritmus pro snížení rozlišení spočívá v zprůměrování čtyř sousedních hodnot z původní matice. Takto je dosaženo polovičního rozlišení vzhledem k původní matici. Oba obrázky, ze kterých se počítá korelace, byly generovány stejným náhodným způsobem. Oba obrazy měly vždy stejné rozlišení. Simulace byly prováděny při počtu kruhů: 5, 10, 20, 30.

Body grafu byly rozloženy tak, že vždy určitou jejich částí šla proložit přímkou (viz Obr. 28). Vznikl tak různý počet přímek daný počtem kruhů. Body odpovídající jedné přímce leží vždy na rozhraní mezi kruhy. To ukazuje na fakt, že korelace zjištěná v tumorech by mohla být způsobena partial volume efektem. Dále z toho vyplývá, že různými přechody mezi kruhy vznikají přímky s různými směrnici.

(a) *Obraz 1*(b) *Obraz 2*(c) *Korelace mezi obrazem 1 a obrazem 2*

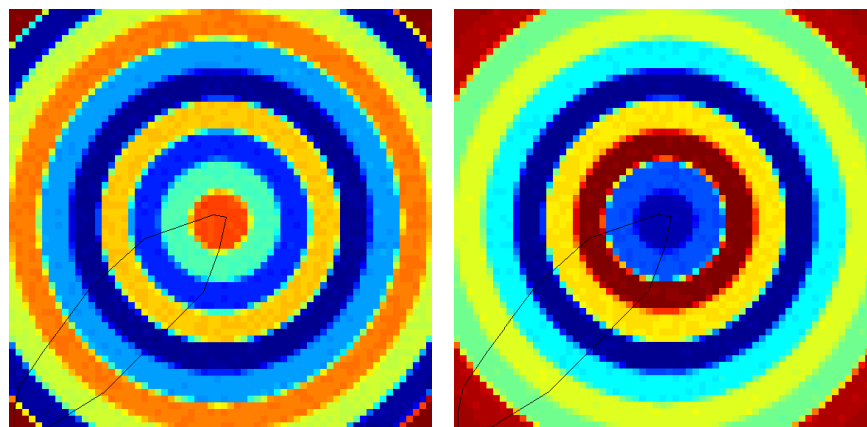
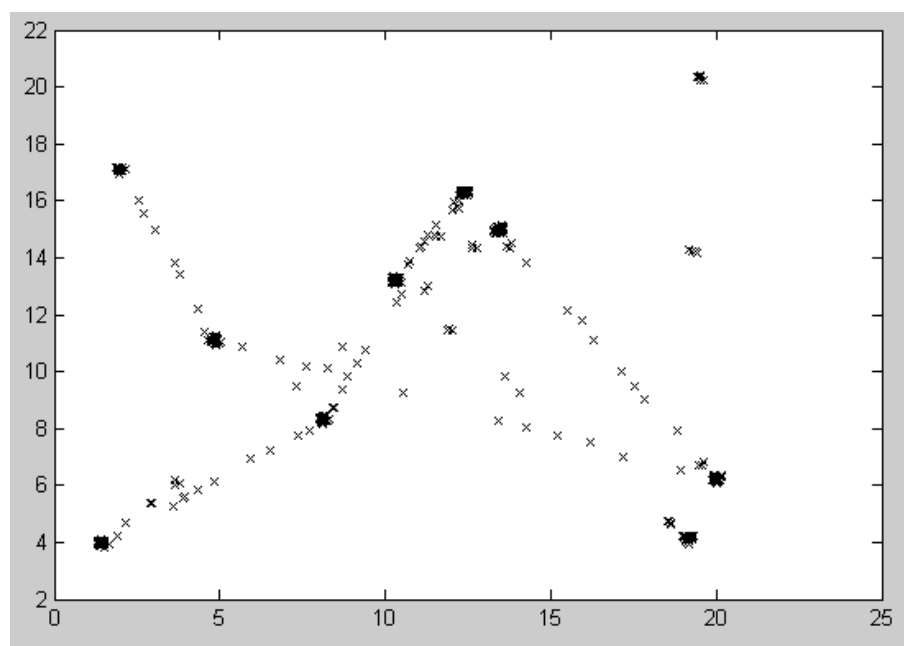
Obrázek 28: *Obrazy vygenerované při Simulaci 1 a jejich vzájemná korelace. Obrazy mají stejné rozlišení 64x64 pixelů a jsou oba vygenerovány stejným algoritmem. Hodnoty v obou obrazech jsou zcela náhodné.*

4.5.2 Simulace 2

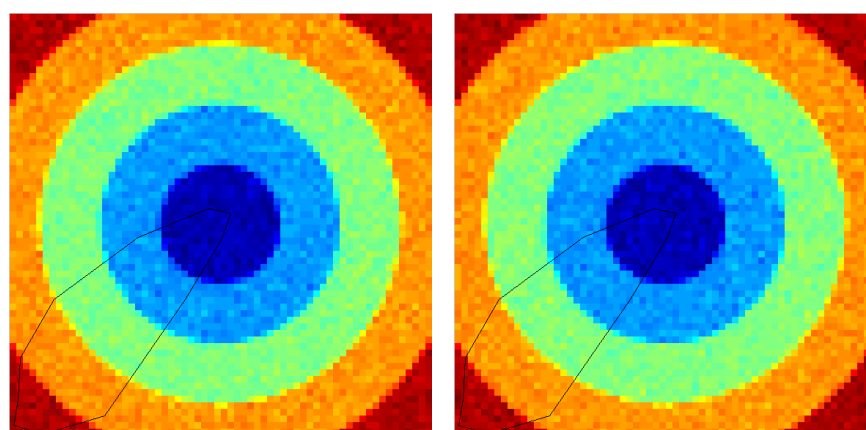
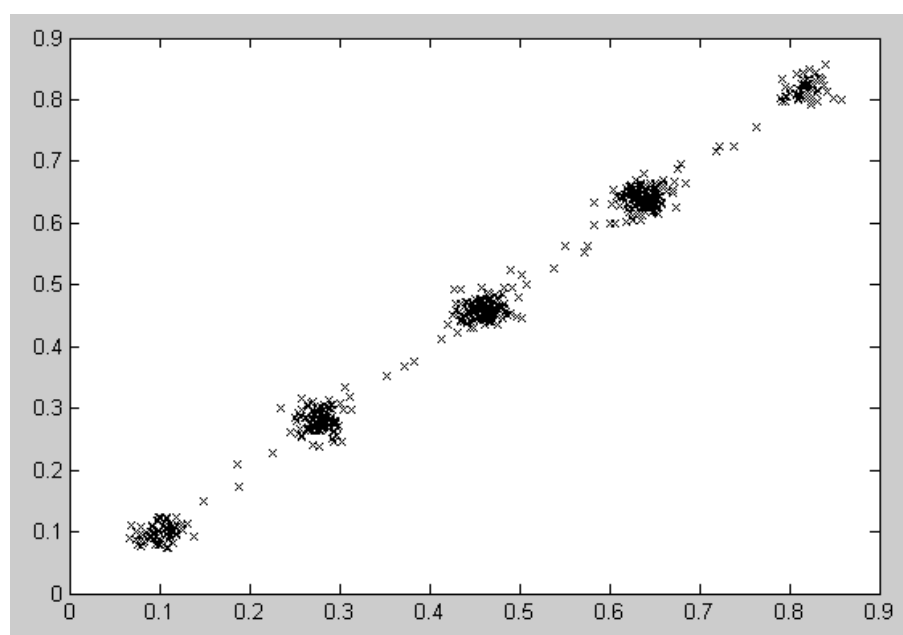
První modifikací Simulace 1 bylo změnit hodnoty uvnitř jednotlivých kruhů. Základem každého kruhu bylo náhodné číslo v rozmezí 0-1 násobené dvojnásobkem počtu kruhů. Tyto základní hodnoty byly dále pro každý voxel změněny o náhodnou hodnotu v rozmezí 0-1. Rozměry matic se dají měnit stejně a stejným algoritmem jako v Simulaci 1. I zde jsou oba obrázky vygenerovány stejným způsobem a mají stejné rozlišení. Simulace byly prováděny při počtu kruhů: 5, 10, 20.

Body grafu i zde jasně tvoří přímky s různými směrnici (viz Obr. 29). Lze

však pozorovat vždy zhuštění bodů, což značí voxely neovlivněné průměrováním okolních voxelů. Pokud by tedy existovalo zhuštění bodů i v grafech určených z dat naměřených v tumorech, mohlo by to pomoci oddělit voxely neovlivněné partial volume efektem. Rozmístění bodů v grafu získaného při nejnižším rozlišení obrazů a počtu kruhů 20 je zcela náhodné. Pozorovaná závislost v tumorech tedy nebude značit zcela náhodné množení buněk, ale jistý postupný vývoj vlastností tumoru od okraje k jeho středu.

(a) *Obraz 1*(b) *Obraz 2*(c) *Korelace mezi obrazem 1 a obrazem 2*

Obrázek 29: *Obrazy vygenerované při Simulaci 2 a jejich vzájemná korelace. Obrazy mají stejné rozlišení 64x64 pixelů a jsou oba vygenerovány stejným algoritmem. Hodnoty v obou obrazech jsou zcela náhodné.*

(a) *Obraz 1*(b) *Obraz 2*(c) *Korelace mezi obrazem 1 a obrazem 2*

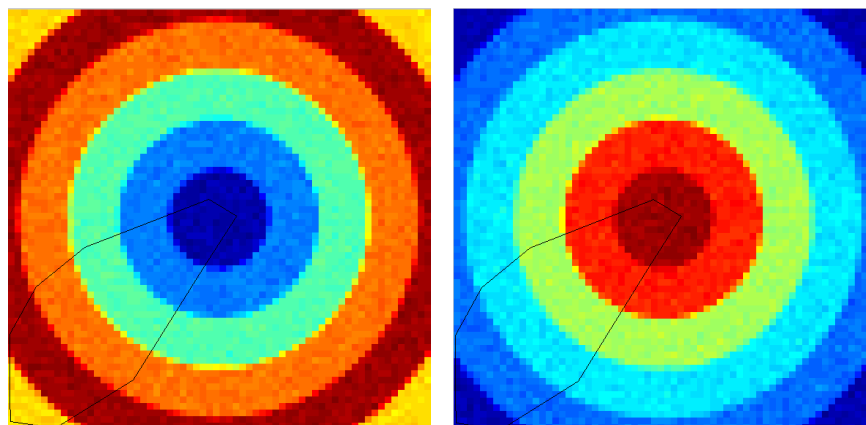
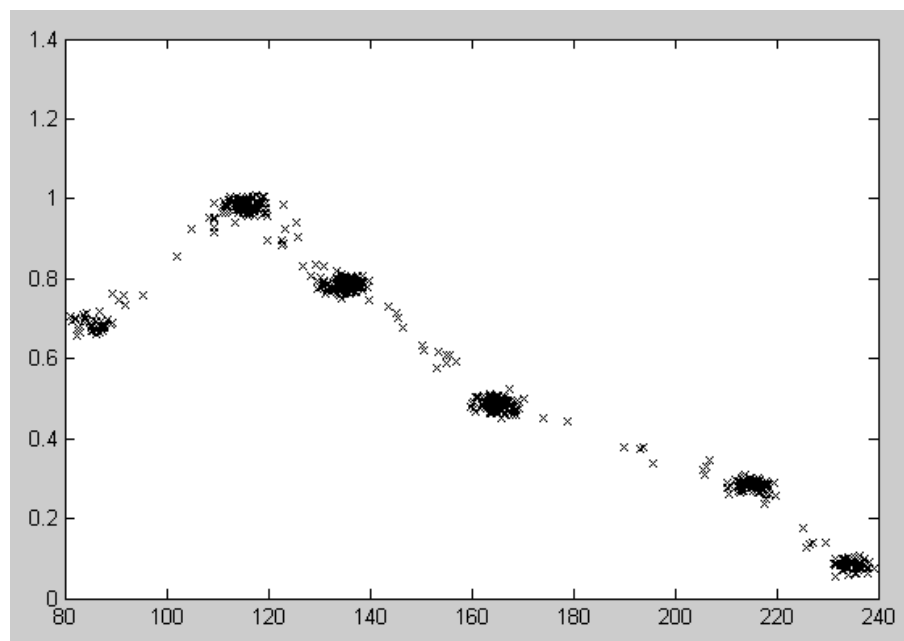
Obrázek 30: *Obrazy vygenerované při Simulaci 3 a jejich vzájemná korelace. Obrazy mají stejné rozlišení 64x64 pixelů a jsou oba vygenerovány stejným algoritmem. Hodnoty v obou obrazech jsou určeny vnitřními parametry daného algoritmu.*

4.5.3 Simulace 3

Další úpravou bylo ponechat různé hodnoty uvnitř jednotlivých kruhů, ale základní hodnoty kruhů změnit tak, aby rovnoměrně rostly od hodnoty 0 ve středním kruhu až k hodnotě 1 ve vnějším kruhu. Toto by mělo simulovat jednoduchý model chování cholinových koncentrací v tumoru. Rozměry matic se dají opět měnit stejně a stejným algoritmem jako v Simulaci 1. Oba obrázky jsou vytvořeny stejným způsobem a mají stejná rozlišení. Simulace byly prováděny při počtu kruhů: 3 a 5.

Zde byl pozorován větší rozptyl bodů v grafu, než u předchozích dvou simulací. Trend lineární závislosti je zachován, ale pouze s jedinou směrnici. I v tomto

případě vznikají oblasti s větší hustotou bodů odpovídající voxelům zcela uvnitř kruhů a oblasti s menší hustotou bodů od voxelů ležících na rozhraní dvou kruhů (viz Obr. 30). Tato jednoduchá simulace dokládá, že trend vývoje vlastností tumoru v části, kde existuje korelace, je postupný. Dále z toho vyplývá, že se do korelace partial volume efekt bez pochyby promítá, jelikož je ale u tumorových dat pozorována pouze jedna směřnice, tento efekt pouze způsobí rozdělení bodů podél této směřnice. Původní data jistě podléhala lineární závislosti pouze s jedinou směřnicí. Kdyby totiž neexistovala daná korelace i pro homogenní oblasti, pak by směrnic pro danou vybranou oblast existovalo více.

(a) *Obraz 1*(b) *Obraz 2*(c) *Korelace mezi obrazem 1 a obrazem 2*

Obrázek 31: Obrazy vygenerované při Simulaci 4 a jejich vzájemná korelace. Obrazy mají stejné rozlišení 64×64 pixelů a jsou oba vygenerovány stejným algoritmem. Hodnoty jednotlivých obrazů jsou určeny vnitřními parametry daných algoritmů.

4.5.4 Simulace 4

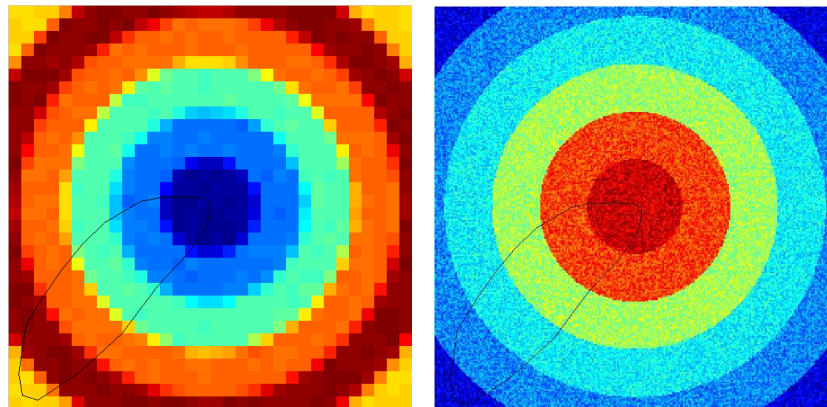
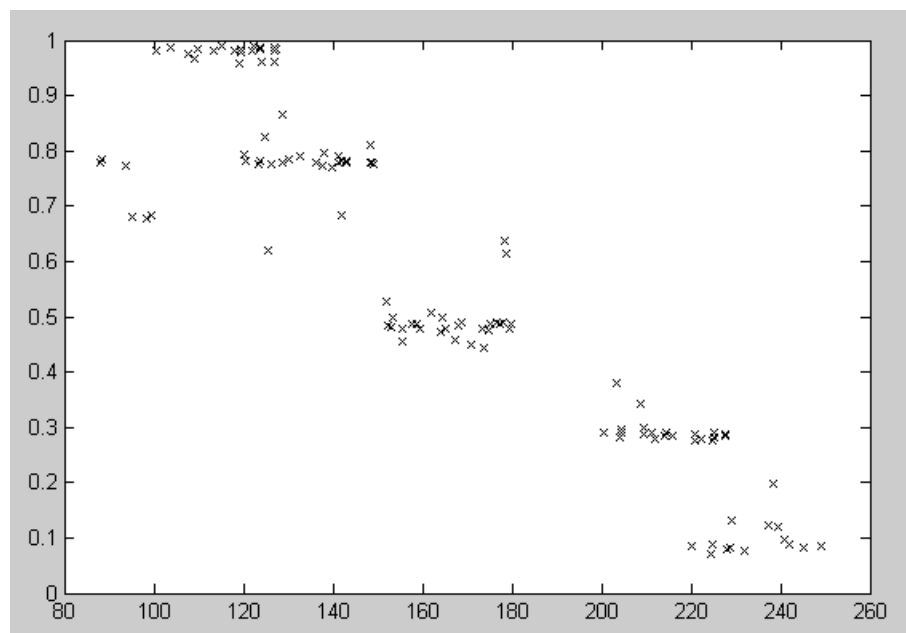
Další krok k přiblížení se reálné situaci byl v případě 1. obrázku nerovnoměrný růst základních hodnot jednotlivých kruhů směrem od středu až k předposlednímu kruhu. Hodnota posledního kruhu byla zvolena nižší. U 2. obrázku, simulujícího difuze, klesaly základní hodnoty kruhů směrem od středu obrazu k jeho okraji. U obou obrazů byly opět základní hodnoty uvnitř jednotlivých kruhů náhodně jemně upraveny. Rozlišení obou obrazů přitom bylo navzájem stejné. Rozměry matic se dají opět měnit stejně a stejným algoritmem, jak bylo popsáno v Simulaci 1.

Podle rozlišení zde bylo pozorováno větší či menší zhuštění bodů v grafu rozložených podél několika přímk s různými směrnici (viz Obr. 31). To odpovídá volbě nerovnoměrného rozdělení hodnot u obrázku 1. Tato simulace potvrzuje dřívější zjištění, že vlastnosti tumoru se mění skoro rovnoměrně, protože je pozorována pouze záporná korelace s jedinou směrnicí.

4.5.5 Simulace 5

Úkolem poslední simulace byl test vlivu změn rozlišení obrazů vůči sobě na korelaci. Oba obrazy byly vygenerovány stejně jako v Simulaci 4, pokažké však s různým rozlišením. To je prováděno z toho důvodu, že ve skutečnosti je vždy rozlišení difuzních obrazů vyšší (256x256 pixelů) než metabolických (32x32 pixelů). Po naměření dat se spektroskopická data uměle upravují tak, aby se zvýšilo rozlišení metabolické mapy (až na 128x128 pixelů). A právě tato skutečnost může mít na pozorovanou korelaci výrazný vliv.

Bylo pozorováno náhodnější rozložení bodů v grafu v případě velkého rozdílu v rozlišení obou obrazů. Tendence lineární záporné korelace byla zachována, nebyly zde však pozorovány žádné oblasti z větší či menší hustotou bodů. Body byly rovnoměrně rozprostřeny podél přímk s jedinou směrnicí a to i přesto, že rozdíly hodnot mezi kruhy v 1. obraze jsou různé. To znamená, že touto metodou nelze odlišit jemné rozdíly ve vývoji vlastností tkáně v tumoru, protože různá rozlišení CSI a DWI obrazů tuto informaci zkreslují. Při snižování rozdílu rozlišení mezi oběma obrazy se objevují opět různé směrnice přímk, podél nichž jsou body rozloženy, a vznikají i místa s větší a s menší hustotou bodů (viz Obr.32).

(a) *Obraz 1*(b) *Obraz 2*(c) *Korelace mezi obrazem 1 a obrazem 2*

Obrázek 32: Obrazy vygenerované při Simulaci 5 a jejich vzájemná korelace. Jednotlivé obrazy jsou vygenerovány různými algoritmy tak, aby odrážely předpokládané vlastnosti tumorů. Obraz simulující metabolický obraz má rozlišení 32×32 pixelů a obraz představující difuzní obraz má rozlišení 256×256 pixelů.

5 Diskuse

5.1 Opakovatelnost a reprodukovatelnost dat v magnetickém poli 1.5T a 3T

Opakovatelnost a reprodukovatelnost spektroskopických dat byla zjišťována ve třech oblastech mozku, které jsou důležité pro sledování patologických změn metabolismu u pacientů. Jedná se o bílou hmotu v oblasti parieto-occipitální, oblast hippokampů a šedou hmotu v předním laloku.

Měření ve všech oblastech ukázala, že opakovatelnost i reprodukovatelnost spektroskopických dat se pro různé metabolity velmi liší. Jelikož data z měření dobrovolníků slouží jako kontrolní data pro porovnávání s hodnotami pacientů, je právě při stanovování diagnózy nutné přihlížet k přesnosti stanovování koncentrací jednotlivých metabolitů.

Na hodnoty koncentrací jednotlivých metabolitů má také výrazný vliv množství mozkomíšního moku v měřeném voxelu. V CSF je totiž koncentrace metabolitů zanedbatelná a velké procentuální zastoupení CSF v měřeném voxelu výrazně podhodnocuje výsledky měření. K získání přesnější hodnoty koncentrace metabolitů může přispět segmentace tkáně v měřeném voxelu. Jak vyplývá z Tab. 11, umístění voxelu bylo nejlépe provedeno v bílé hmotě, kde se množství mozkomíšního moku v daném voxelu pohybovalo kolem 1%. V oblasti hippokampů a především v oblasti šedé hmoty v předním laloku se provedení segmentace ukázalo jako velmi důležité. Zde se totiž procentuální zastoupení mozkomíšního moku pohybovalo až v desítkách procent.

5.1.1 Bílá hmota v oblasti parieto-occipitální

Jak je patrné z Tab. 12, opakovaná měření v bílé hmotě v oblasti parieto-occipitální na 1.5T tomografu při použití sekvence s $TE=135ms$ dávají velmi dobré výsledky u koncentrací cholinu a N-acetyl aspartátu. Chyby ze všech tří měření se pohybují v řádu několika procent (max. 5%). Chyba stanovení koncentrace kreatinu dosáhla u jednoho z měření až 14.7%. Chyby ostatních měření se však pohybovaly v řádu několika procent. Opakovatelnost pro koncentrace inositolu a laktátu se při jednotlivých měřeních výrazně lišila. Obecně však dosahovala řádu desítek procent. Koncentrace taurinu v této oblasti je natolik nízká, že ho nelze detekovat vůbec, a nebo chyba dosahuje až 100%. Hodnoty poměru signál/šum se pohybují v rozmezí 6/1 až 8/1. Výsledky reprodukovatelností (viz Tab. 13) ukazují, že pokud pacient přijde na měření opakovaně, lze s dobrou přesností umístit měřený voxel na stejné místo jako v předchozích měřeních. Hodnoty reprodukovatelností cholinu, N-acetyl aspartátu i kreatinu se pohybují v řádu několika procent (max. 3%). Reprodukovatelnost koncentrací inositolu, laktátu i taurinu je nižší, dosahuje až několik desítek procent.

Z těchto měření tedy vyplývá, že stanovení hodnot koncentrací cholinu a NAA v této oblasti je velmi přesné, a proto lze tyto metabolity bez problému používat jako kontrolní data pro porovnávání hodnot pacientů. Stanovení koncentrace Cr sice není tolik přesné jako u Cho a NAA, ale lze tyto hodnoty do kontrolních dat s dobrou přesností zahrnout. V patogenních oblastech totiž obvykle dochází k velmi výrazným změnám metabolismu a odchylky se pak pohybují v řádech desítek procent. Z výše uvedených skutečností také vyplývá, že hodnoty koncentrace inositolu, laktátu a taurinu lze považovat pouze za orientační.

Tab. 12 dále ukazuje, že opakovaná měření v bílé hmotě v oblasti parieto-occipitální v magnetickém poli 3T vykazují velmi nízké odchylky stanovení koncentrace (max. 4%) jak pro cholin a N-acetyl aspartát, tak i pro kreatin. I zde je opakovatelnost koncentrací inositolu i laktátu nízká a dosahuje několik desítek procent. Taurin v poli 3T není vůbec fitován. Poměr signál/šum se pohybuje v rozmezí 8/1 až 10/1. Maximální odchylky reprodukovatelnosti dat pro cholin, NAA a kreatin dosahují 2%, jak ukazuje Tab. 13. Tato měření jsou tedy velmi přesná. I odchylka stanovení koncentrace inositolu pro různá měření se pohybuje v řádu několika procent. Reprodukovatelnost laktátu je opět velice nízká.

Z měření prováděných na 3T tomografu vyplývá, že stanovení koncentrace cholinu, N-acetyl aspartátu i kreatinu jsou dostatečně přesná a lze je proto bez problému použít jako kontrolní data pro porovnávání hodnot pacientů. I zde je nutné považovat hodnoty inositolu a laktátu spíše jako orientační.

Porovnáme-li výsledky měření na obou tomografech, zjistíme, že přesnost stanovení koncentrace Cho, NAA a Cr je při všech měřeních vyšší v magnetickém poli 3T než 1.5T. V případě cholinu a N-acetyl aspartátu si ale odchylky na obou tomografech řádově odpovídají. Výrazně vyšší přesnosti bylo dosaženo v získání koncentrací kreatinu. U inositolu byla zjištěna až dvojnásobně lepší reprodukovatelnost dat na 3T tomografu než na 1.5T. Stanovení koncentrace laktátu je řádově srovnatelné v obou magnetických polích. Lepší přesnost měření na 3T tomografu je způsobena lepším rozlišením píků ve spektru vlivem vyššího magnetického pole a také použitím citlivějších cívek, které zlepšují kvalitu spekter.

Pro získání přesnějších hodnot koncentrací jednotlivých metabolitů by bylo nutné provést větší počet měření. Vzhledem k omezeným schopnostem dobrovolníka setrvat v tomografu bez pohybu a pro minimalizaci doby vystavení subjektu magnetickému poli však větší počet měření není uskutečnitelný.

5.1.2 Oblast hippokampů

Jak je patrné z Tab. 14, opakovatelnosti v oblasti pravého hippokampu se v magnetickém poli 1.5T při použití sekvence s $TE=135ms$ velmi liší i pro jednotlivá měření daných metabolitů. Opakovatelnosti v 1. sérii měření dosahovaly pro všechny metabolity desítek procent. Poměr signál/šum zde nepřekročil hodnotu 3/1. U 2. a 3. série byla kvalita spekter lepší (poměr signál/šum byl 5/1) a odchylky stanovení

koncentrace cholinu, N-acetyl aspartátu a kreatinu se pohybovaly v řádu několika procent. Opakovatelnost pro inositol a laktát dosahovala i v této oblasti desítek procent. Taurin nebyl vůbec detekován, a nebo chyba dosahovala 100%. Reprodukovatelnost spektroskopických dat na 1.5T tomografu v oblasti hippokampů je velmi dobrá (viz Tab. 15). Pro Cho, NAA, Cr a Lac se odchylky pohybují v řádu jednotek procent. Odchylky stanovení koncentrace inositolu a taurinu jsou mnohem vyšší (desítky procent).

Z těchto měření tedy vyplývá, že opakovatelnost měření v oblasti hippokampů v poli 1.5T je velmi závislá na homogenitě magnetického pole, a tak na kvalitě měřených spekter. Obecně lze však říci, že hodnoty koncentrací cholinu, N-acetyl aspartátu a kreatinu v oblasti hippokampů lze použít jako kontrolní data pro porovnávání hodnot pacientů. Hodnoty koncentrací inositolu a laktátu je nutné brát pouze jako orientační.

Tab. 14 a 15 dále ukazují, že v oblasti hippokampů v magnetickém poli 3T se odchylky koncentrací Cho, NAA a Cr pohybují řádu několika procent. I zde je opakovatelnost i reprodukovatelnost koncentrací inositolu a laktátu nižší. Odchylky dosahují několika desítek procent. Taurin zde není vůbec fitován. Hodnoty poměru signál/šum se pohybují pouze v rozmezí 2/1 až 3/1.

Hodnoty opakovatelností a reprodukovatelností v oblasti hippokampů v magnetickém poli 3T jsou zatíženy vyšší chybou než v magnetickém poli 1.5T, i když řádově si odpovídají. Je to způsobeno velmi špatnou homogenitou magnetického pole v této oblasti. Kvalita spekter je zde proto velmi nízká, spektra jsou značně rozšířena a hodnota poměru signál/šum dosahuje maximálně hodnoty 3/1.

5.1.3 Šedá hmota v oblasti předního laloku

Tab. 16 ukazuje velmi dobrou opakovatelnost koncentrací cholinu, kreatinu, inositolu, N-acetyl aspartátu a součtu koncentrací kyseliny glutamové a glutaminu v šedé hmotě v oblasti předního laloku na 1.5T tomografu při použití sekvence s TE=10ms. Odchylky všech hodnot se pohybují v řádu několika procent. Opakovatelnost hodnot koncentrací kyseliny γ -aminomáselné se pro jednotlivá měření velmi liší. Odchylka koncentrace ve 2. sérii dosáhla velmi nízké hodnoty 1.4%, ve 3. sérii naopak až 42.3%. Velmi nízká opakovatelnost byla zjištěna pro laktát a taurin. Poměr signál/šum u těchto měření se pohyboval v rozmezí 8/1 až 12/1. Jak je vidět z Tab. 17, hodnoty koncentrací Cho, Cr, GABA, Ins, NAA a Glu+Gln se ukázaly také velmi dobře reprodukovatelné, odchylky dosáhly pouze několika procent. Chyby stanovení koncentrací laktátu a taurinu se pohybovaly v řádu desítek procent.

Z těchto měření vyplývá, že hodnoty koncentrací Cho, Cr, Ins, NAA a Glu+Gln mohou být s velkou přesností použity jako kontrolní data pro skupinu pacientů. Koncentrace kyseliny γ -aminomáselné, laktátu a taurinu je nutné považovat pouze za orientační.

V magnetickém poli 3T bylo dosaženo podobných výsledků jako v magnetickém poli 1.5T. Stanovení koncentrací cholinu, kreatinu, inositolu, N-acetyl aspartátu a součtu kyseliny glutamové a glutaminu je velmi přesné a pohybuje se v řádu několika procent. Tyto sloučeniny jsou tedy vhodné jako kontrolní hodnoty pro porovnávání s pacienty. Výsledky pro GABA, Lac a Tau se velmi liší, ale obecně dosahují až několik desítek procent. U všech uvedených sloučenin na 3T tomografu byla zjištěna vysoká reprodukovatelnost hodnot koncentrací. Chyby nepřekročily hodnotu deseti procent. Hodnoty poměru signál/šum se pohybovaly v rozmezí 20/1 až 26/1.

Porovnáme-li výsledky měření na obou tomografech, zjistíme, že chyby stanovení koncentrací metabolitů si řádově odpovídají. Lepší opakovatelnosti i reprodukovatelnosti pro všechna měření NAA, Ins a Glu+Gln bylo dosaženo v magnetickém poli 3T. U ostatních metabolitů se hodnoty mezi jednotlivými vyšetřeními lišily. Na 3T tomografu bylo dosaženo více jak dvojnásobného zlepšení poměru signál/šum, což je důsledek použití vyššího statického magnetického pole a citlivějších cívek.

5.2 Korelace mezi koncentrací cholinu a stopou difuzního tenzoru

Aby bylo možné správně interpretovat výsledky korelace u pacientů postižených mozkovým nádorem, bylo nutné nejprve naměřit a analyzovat skupinu zdravých dobrovolníků. Tato nová metoda na zpracování cholinových a difuzních map u pacientů s tumorem je totiž založena na předpokladu, že neexistuje statisticky významná korelace mezi koncentrací cholinových sloučenin a stopou difuzního tenzoru ve zdravé tkáni dobrovolníků.

5.2.1 Zdraví dobrovolníci

Předpoklad, že u dobrovolníků neexistuje korelace, vycházel ze skutečnosti, že se lidský mozek skládá z několika oblastí, které se liší svojí funkcí (přední mozek, mozeček, hippokampy, ...). Dále pak, že tyto oblasti mohou být tvořeny dvěma druhy tkáně, bílou hmotou a šedou hmotou, které se od sebe liší strukturou i funkcí. Z toho vyplývá, že metabolismus buněk s odlišnou funkcí a i struktura různé skupiny buněk jsou odlišné. Jak je známo ze stavby mozku, neexistují postupné přechody mezi různými strukturami, ale tyto oblasti jsou dobře oddělené. V grafu závislosti koncentrace daného metabolitu na stopě difuzního tenzoru by tedy měly existovat

- buď oddělené oblasti bodů odpovídající různým strukturám, pokud by rozdíly mezi metabolismem a strukturou buněk byly velké,
- a nebo jedna oblast bodů, pokud by se oblasti bodů patřící různým strukturám překrývaly.

Vezmeme-li však v úvahu také fakt, že v rámci jedné mozkové struktury se buňky nacházejí v různé fázi buněčného cyklu a že jsou i různě staré, pak by se také měl lišit jejich metabolismus a kompaktnost tkáně, kterou tyto buňky tvoří.

Z výše uvedených skutečností tedy vyplývá, že body pocházející z různých oblastí mozku by se v grafu měly prolínat a tvořit celek.

Jak je uvedeno v sekci 4.3.1, u pěti dobrovolníků nebyla statisticky významná korelace mezi koncentrací cholinových sloučenin a stopou difuzního tenzoru ve zdravé tkáni opravdu nalezena, což zcela potvrzuje výše uvedenou hypotézu.

Skupina zdravých dobrovolníků však původně čítala sedm subjektů. Výsledky dvou dobrovolníků se od ostatních viditelně lišily. Jak se po následné analýze ukázalo, důvodem byla velice špatná kvalita naměřených dat. Výsledná spektra a hodnoty koncentrací získaných LCModelem pak neodpovídala skutečnosti a významně zkreslovala získanou závislost.

Z dat dobrovolníků vyplývá, že je tato metoda velice citlivá na kvalitu spekter. Proto je před získáním korelace pomocí programu KORELACE nutné zkontrolovat podobu jednotlivých spekter ve spektroskopické síti pomocí programu CULICH.

Z grafů korelací mezi $[Cho]$ a Tr_{ADC} u jednotlivých dobrovolníků byly také zjišťovány hodnoty koncentrace cholinu a stopy difuzního tenzoru pro jednotlivé typy tkáně, tj. pro bílou hmotu, šedou hmotu a také pro mozkomíšní mok. Tyto hodnoty jsou pak společně s intervalem spolehlivosti použity v programu KORELACE pro oddělení patogenních oblastí od zdravých.

Porovnáme-li hodnoty koncentrace cholinu získané z těchto měření s hodnotami uvedenými v literatuře [24] (viz Tab. 22), zjistíme, že se výrazně liší. Námi získané hodnoty nejsou upravovány na odpovídající relaxační čas cholinu, a proto jsou mnohem nižší. Používáme-li totiž k určení absolutních koncentrací metabolitů metodu založenou na linearitě mezi signálem a koncentrací za použití externího standardu, jsou získané výsledky především závislé na velikosti echo času použité sekvence [10]. Během konečného času mezi excitací a příjmem signálu totiž transverzální relaxace způsobuje útlum měřeného signálu. Dále pak opakování sekvence (pro účely zlepšení poměru signál/šum) může způsobit saturaci longitudinální magnetizace. Oba tyto efekty způsobí, že měřený signál není přímo úměrný rovnovážné magnetizaci, a je proto nutné spočítat teoretickou hodnotu signálu bez relaxačních efektů. Oba tyto efekty lze potlačit použitím sekvence s krátkým echo časem a dlouhým relaxačním časem. Při našich měřeních však byla použita sekvence s $TE=135$ ms, a to především z důvodu zrelaxování lipidů a makromolekul, což usnadňuje fitovací proces v LCModelu. Pokud bychom tedy chtěli provést kvantifikaci koncentrace cholinu, je při použití této sekvence korekce na relaxační čas cholinu nutná. Avšak i bez této korekce z našich měření vyplývá, že koncentrace cholinových sloučenin v bílé hmotě je vyšší než v šedé hmotě, což souhlasí s literaturou. Mozkomíšní mok slouží k výživě buněk a chrání mozek před nárazy, proto je v něm koncentrace metabolitů oproti tkáni zanedbatelná. Přestože naše měření ukázala hodnoty

koncentrací cholinu v CSF více jak dvojnásobně nižší než ve tkáni, jsou tyto hodnoty mnohem vyšší než je známo z *in vitro* měření nebo než uvádí literatura [53], kde byla hodnota koncentrace cholinu v CSF tak nízká, že ho nebylo možno detekovat (ND: not detectable).

Tabulka 22: Porovnání naměřených hodnot $[Cho]$ s literaturou [24] a [53]

$[Cho]$ (mM)	Dobrovolníci	Literatura
Bílá hmota	0.64 ± 0.22	1.2 ± 0.2
Šedá hmota	0.53 ± 0.14	1.1 ± 0.3
Mozkomíšní mok	0.28 ± 0.18	ND

K získání přesnějších hodnot koncentrací metabolitů v bílé hmotě, šedé hmotě a mozkomíšním moku by kromě úpravy na relaxační čas také výrazně přispěla segmentace tkáně provedená pomocí MPRAGE obrazů. Tato korekce může pomoci přesněji identifikovat zdravou tkáň u pacientů postižených tumorem. To bude předmětem dalšího zkoumání.

Dalším faktorem, který ovlivňuje hodnoty koncentrace metabolitů v dané oblasti, je tvar PSF. Ten způsobuje, že k hodnotám koncentrací metabolitů v daném voxelu přispívají i okolní voxely. Tento efekt nejvýrazněji pozměňuje hodnoty koncentrací metabolitů v CSF. Např. nachází-li se měřený voxel celý v mozkomíšním moku, ale zároveň v blízkosti šedé nebo bílé hmoty, vždy obsahuje určitou hodnotu koncentrace metabolitů.

Tabulka 23: Porovnání naměřených hodnot Tr_{ADC} s literaturou [29]

Tr_{ADC} ($\cdot 10^{-5}$ mm ² /s)	Dobrovolníci	Literatura
Bílá hmota	83 ± 28	71 ± 4
Šedá hmota	87 ± 24	83 ± 5
Mozkomíšní mok	211 ± 76	319 ± 10

Jak je patrné z Tab. 23, námi naměřené hodnoty stopy difuzního tenzoru ve tkáni se v rámci svých chyb shodují s hodnotami uvedenými v literatuře [29]. Hodnoty v mozkomíšním moku jsou ale výrazně nižší. To může být způsobeno tím, že do zkoumané oblasti zasahovala i tkáň. Jak již bylo poznamenáno výše, důležitým krokem ke zpřesnění získaných hodnot jednotlivých struktur mozku je provedení segmentace tkáně.

Hodnoty difuze Tr_{ADC} jsou v bílé hmotě nižší než v šedé hmotě, což souvisí se strukturou dané tkáně. Bílá hmota se totiž skládá z axonů neuronů obalených myelinovými pochvami, čímž se snižuje extracelulární prostor a snižuje se i difuze vody v této tkáni. Šedá hmota obsahuje těla neuronů, extracelulární prostor je tedy větší a i difuze vody je vyšší. V mozkomíšním moku je však difuzivita nejvyšší.

Je to dáno tím, že mozkomíšní mok je tekutina a nejsou v ní tedy struktury omezující pohyb molekul vody.

5.2.2 Pacienti s tumorem

Jak vyplývá z výsledků uvedených v sekci 4.4, u pacientů s histologicky potvrzenou diagnózou glioblastomu existuje statisticky významná záporná korelace mezi koncentrací cholinových sloučenin a stopou difuzního koeficientu založená na zpracování cholinových a difuzních map metodou pixel po pixelu. Toto potvrzuje již dříve publikované studie o záporné korelaci mezi těmito dvěma veličinami [37, 40, 44, 45], jejichž data však byla měřena metodou SVS v různých oblastech tumoru a u různých pacientů. Kromě oblasti této inverzní korelace však tato studie odhalila i další oblasti odpovídající různé struktuře tkáně s různým metabolismem buněk.

Výsledky této studie dokazují, že analýza nalezené inverzní korelace mezi koncentrací cholinu a stopou difuzního tenzoru metodou bod po bodu umožňuje identifikaci oblastí s patologickým stavem tkáně. Hlavním přínosem navrhované metody je automatická identifikace bodů odpovídajících zdravé tkáni prostřednictvím přesného určení směrnice závislosti $[Cho]$ na Tr_{ADC} a tomu odpovídajícího intervalu spolehlivosti pro nejlepší fit. Tato závislost a interval spolehlivosti slouží také k identifikaci a oddělení souvislých oblastí bodů v grafu odpovídajících různým oblastem tkáně. Tato navrhovaná korelační analýza tak přináší dodatečnou informaci ve srovnání se samotným vyhodnocováním cholinových map nebo difuzních obrazů.

Nezodpovězenou otázkou však zůstává typ závislosti $[Cho]$ na Tr_{ADC} , což bude předmětem dalších analýz. Ve všech publikovaných studiích byla navrhovaná závislost lineární, ale pro tuto hypotézu nejsou důkazy. Jak je patrné z výsledků pacientů v sekci 4.4 a z korelací na Obr. 26 a 27, i tato práce používala ke zpracování předpoklad lineární závislosti, z čehož vyplynula existence čtyř, resp. tří různých oblastí stavu tkáně u pacienta P11, resp. P3. Pokud bychom provedli hlubší analýzu dat, tato inverzní korelace by mohla být teoreticky i exponenciální. Pak by se oblast vykazující intenzivnější metabolismus a nezměněnou strukturu tkáně (ve srovnání se zdravou tkání) stala součástí zmiňované inverzní korelace.

Jak již bylo zmíněno výše, pro správné vyhodnocení stavu tkáně u pacienta postiženého tumorem je před zpracováním metabolických a difuzních obrazů pomocí programu KORELACE také nutná kontrola kvality naměřených spekter. Nekvalitní data zkreslují výsledek LCModelu a hodnoty koncentrací metabolitů pak neodpovídají skutečnosti. Pokud nízkou kvalitu spekter vykazují jen některé voxely, je možné použít filtraci oblastí podle chyby stanovení koncentrace. Korelace je poté spočtena pouze z voxelů, jejichž chyba je nižší než zadaná chyba.

Pro zpřesnění získaných difuzních map by bylo také nutné provádět korekce na nehomogenity magnetického pole a do vyšetřovacího algoritmu by se muselo

zařadit mapování těchto nehomogenit. Tento efekt totiž způsobuje distorzi měřeného difuzního obrazu, což může následně zkreslit zkoumanou závislost $[Cho]$ na Tr_{ADC} .

5.2.3 Simulace

Pro účely zjištění míry vlivu partial volume efektu (viz 2.3.5) na zkoumanou korelaci u pacientů byla provedena série simulací. Aby bylo možno provést detailní analýzu získaných výsledků, spočívaly simulace v několika krocích.

Již první fáze simulací, kdy byly obrazy generovány stejným způsobem a obsahovaly několik kruhů s náhodnými hodnotami, ukázala, jak interpolace hodnot výrazně ovlivňuje umístění bodů v grafu. Určitým počtem bodů v grafu šla vždy proložit přímka, jejíž krajní body samozřejmě odpovídaly původně vygenerovaným hodnotám kruhů. Vnitřní body pak vyjadřovaly fiktivní hodnoty vzniklé danou interpolací. To ukazuje na fakt, že partial volume efekt bude přispívat do korelace mezi koncentrací cholinu a stopy difuzního tenzoru i u pacientů s tumorem.

V druhé fázi, která spočívala ve vygenerování obrazů s náhodnými hodnotami kruhů mírně posměněných o další náhodnou hodnotu, již body neležely přímo na přímkách, ale byly kolem nich mírně rozptýleny. Z toho tedy vyplývá, že míra vlivu partial volume efektu závisí na způsobu změny vlastností tkáně v tumoru. Jelikož u této simulace existovalo několik přímek s různými směrnici (samozřejmě závislých na počtu generovaných kruhů), což se u korelací pacientů nepozoruje, musejí být jak hodnoty koncentrací cholinových sloučenin, tak i stop difuzních tenzorů v tumorech dány postupným vývojem vlastností tkáně.

Třetí fáze již simulovala jednoduchý model cholinových koncentrací v tumoru, a to tak, že jejich hodnoty rovnoměrně od středu k okraji rostly. I přesto, že byl pozorován větší rozptyl bodů v grafu se snižujícím se rozlišením obrazů, trend lineární závislosti byl zachován. Byla však také pozorována závislost pouze s jedinou směrnici, což se pozoruje i u pacientů s tumorem. Z toho tedy vyplývá, že trend vývoje vlastností tumoru v části, kde existuje korelace, je postupný, a že partial volume efekt pouze způsobí rozdělení bodů podél dané směrnice. Nemění tedy celkový charakter závislosti.

Simulované metabolické i difuzní obrazy ve čtvrté fázi simulací obsahovaly nerovnoměrné změny hodnot jednotlivých kruhů směrem od středu k okraji obrazu. Pozorované větší množství přímek ukazuje na fakt, že by změny v tumoru měly být sice postupné, ale ne rovnoměrné. Inverzní závislost u pacientů s tumorem totiž obsahuje pouze jedinou směrnici. Rovnoměrné změny hodnot koncentrací cholinu i difuzí v tumoru se však zdály nepravděpodobné, proto bylo nutné provést ještě další simulaci.

Poslední simulace již modelovala skutečnou povahu metabolických i difuzních obrazů, včetně předpokládaného nerovnoměrného rozdělení hodnot a také jejich různého rozlišení. Z těchto simulací vyplývá, že partial volume efekt působí výrazněji, než když jsou rozlišení obou obrazů identická. Trend inverzní závislosti je

zachován, ale dochází k většímu rozptylu bodů v grafu než v předchozích případech, a tak ke smazání menších rozdílů ve směrnících přímk. To znamená, že vlivem partial volume efektu touto metodou nelze odlišit jemné rozdíly ve vývoji vlastností tkáně v tumoru, protože různá rozlišení metabolických a difuzních obrazů tuto informaci zkreslují.

6 Závěr

Tato práce byla vypracována na pracovišti magnetické rezonance v IKEM a zabývá se dvěma tématy:

- opakovatelností a reprodukovatelností spektroskopických dat měřených na celotělovém tomografu Magnetom-Vision 1.5 T firmy Siemens a na celotělovém tomografu Trio 3T firmy Siemens,
- vývojem a testováním nové metody, která by u pacientů postižených tumorem mozku byla schopna oddělit patologickou tkáň od zdravé pomocí kombinace informací z klasického MR zobrazování, difuzního zobrazování a spektroskopického zobrazování.

Hlavní výsledky této práce lze shrnout do následujících bodů:

1. Bylo provedeno vyhodnocení opakovatelností a reprodukovatelností spektroskopických dat měřených na 1.5T a 3T tomografu v bílé hmotě v oblasti parieto-occipitální, v oblasti hippokampů a v šedé hmotě v oblasti předního laloku. U důležitých metabolitů jako N-acetyl aspartátu, cholinu, kreatinu, kyseliny glutamové a glutaminu byla zjištěna vysoká přesnost stanovení jejich koncentrací v měřených oblastech na obou typech tomografů, a proto mohou být použity jako kontrolní data pro porovnávání hodnot u pacientů. Opakovatelnost i reprodukovatelnost zjištěných koncentrací u ostatních zkoumaných metabolitů (laktátu, inositolu, taurinu, kyseliny γ -aminomáselné) byly velmi nízké, a proto lze tyto hodnoty považovat pouze za orientační. Tato měření neukázala významné rozdíly v přesnosti měření mezi oběma typy tomografů, ale bylo prokázáno významné zvýšení poměru signál/šum na 3T tomografu.
2. Byl vyvinut nový program KORELACE zpracovávající data ze spektroskopických a difuzních map metodou "pixel po pixelu" u jednotlivých dobrovolníků či pacientů.
3. Bylo provedeno testování existence korelace mezi koncentrací cholinu a stopou difuzního tenzoru u zdravých dobrovolníků. Existence statisticky významné korelace nebyla prokázána.
4. Byly stanoveny hodnoty koncentrace cholinu a stopy difuzního tenzoru v bílé hmotě, šedé hmotě a mozkomíšním moku u zdravých dobrovolníků a bylo provedeno jejich porovnání s hodnotami uvedenými v literatuře.
5. Bylo provedeno testování existence korelace mezi koncentrací cholinu a stopou difuzního tenzoru v glioblastomech. Byla nalezena statisticky významná inverzní korelace mezi těmito dvěma veličinami.
6. Bylo potvrzeno, že existenci inverzní korelace mezi koncentrací cholinu a stopou difuzního tenzoru lze využít pro zjištění okrajů tumoru u jednotlivých pacientů, a lze tak automaticky identifikovat oblasti zdravé tkáně.
7. Tato metoda analýzy tumoru pomocí korelace mezi koncentrací cholinu a stopou difuzního tenzoru je schopna přinést novou informaci o stavu zkoumané tkáně

ve srovnání se samotným vyhodnocováním spektroskopických nebo difuzních obrazů.

8. Bylo provedeno několik simulací testujících vliv partial volume efektu na zjištěnou inverzní korelaci. Tyto simulace potvrdily vliv Partial Volume efektu na zkoumanou korelaci, ale dokázaly, že samotná inverzní korelace je podmíněna pouze vlastnostmi tumoru.

Literatura

- [1] Prosser V. a kol.: Experimentální metody biofyziky. Academia, Praha, 1989
- [2] Levitt M.H.: Spin dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance. John Wiley & Sons, Chichester, 2001
- [3] Klose U., Jiru F.: Principles of MR Spectroscopy and Chemical Shift Imaging. In: Advanced Image Processing in Magnetic Resonance Imaging. Edited by Luigi Landini. CRC Press, 2005
- [4] Hahn E.L.: Spin Echoes. Phys Rev 1950; 80(1):580-594
- [5] Cady E.B.: Clinical Magnetic Resonance Spectroscopy. Plenum Press, New York, 1990
- [6] Porod V.: Diplomová práce. MFF UK, Praha, 2002
- [7] Salibi N., Brown M.A.: Clinical MR spectroscopy. First principles. Wiley-Liss, New York, 1998
- [8] Diel et al.: In-vivo magnetic resonance spectroscopy II: Localization and spectral editing. NMR Basic Principles and Progress 1992; 27.
- [9] Jíru F.: Diplomová práce. MFF UK, Praha, 2000
- [10] Jíru F.: Dizertační práce. 1.LF UK, Praha, 2006
- [11] Posse S., Schuknecht B., Smith M.E., van Zijl P.C., Herschkowitz N. and Moonen C.T.: Short echo time proton MR spectroscopic imaging. J. Comput. Assist. Tomogr. 1993; 17:1-14
- [12] Duyn J.H., Gillen J., Sobering G., van Zijl P.C., Moonen C.T.: Multisection Proton MR Spectroscopy Imaging of the Brain. Radiology 1993; 188:277-282
- [13] de Graaf R.A.: In vivo NMR spectroscopy: Principles and techniques. John Wiley & Sons, Chichester, 1998
- [14] Jiru F., Burian M., Skoch A., Hajek M.: LCModel for spectroscopic imaging. In: Proceedings of the Annual Science Meeting ESMRMB, MAGMA Suppl 1, Cannes, 2002; p368
- [15] Bracewill R.: The Fourier Transform and its Applications. McGraw-Hill, New York, 1978
- [16] Ernst R.R., Bodenhausen G. and Wokaun A.: Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. Clarendon Press Oxford, England, 1987
- [17] Prowencher S.W.: Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. Magn Reson Med 1993; 30(6):672-679
- [18] Kreis R.: Quantitative localized ^1H MR spectroscopy for clinical use. Prog. NMR Spectroscopy 1997; 31:155-195
- [19] Hajek M.: Quantitative NMR spectroscopy. Comments on methodology of in vivo MR spectroscopy in medicine. Quart. Magn. Res. Biol. Med 1995; 3:165-193

- [20] Weber-Fahr W., Ende G., Braus D.F., Bachert P., Soher B.J., Henn F.A., Buchel C.: A Fully Automated Method for Tissue Segmentation and CSF-Correction of Proton MRSI Metabolites Corroborates Abnormal Hippocampal NAA in Schizophrenia. *NeuroImage* 2002; 16:49-60
- [21] Haase A., Matthaei D., Bartkowski R., Duhmke E., Leibfritz D.: Inversion recovery snapshot FLASH MR imaging. *J Comput Assist Tomogr* 1989; 13:1036-1040
- [22] Mugler J.P., Brookeman J.R.: Three-dimensional magnetization-prepared rapid gradient-echo imaging (3G MPRAGE) *Magn Reson Med* 1990; 15:152-157
- [23] Nitz W.R.: MR imaging: acronyms and clinical application. *Eur Radiol* 1999; 9:979-997
- [24] McLean M.A., Woermann F.G., Barker G.J., Duncan J.S.: Quantitative Analysis of Short Echo Time ^1H -MRSI of Cerebral Gray and White Matter. *Magn Reson Med* 2000; 44:401-411
- [25] Le Bihan D., Breton E.: Imagerie de diffusion in vivo par résonance magnétique nucléaire. *CR Acad Sci Paris* 1985; 301:1109-1112
- [26] Merboldt K.D., Hanicke W., Frahm J.: Self-diffusion NMR imaging using stimulated echoes. *J Magn Reson* 1985; 64:479-486
- [27] Taylor D.G., Bushell M.C.: The spacial mapping of translational diffusion coefficients by the NMR imaging technique. *Phys Med Biol* 1985; 30:345-349
- [28] Stejskal E.O., Tanner J.E.: Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J Chem Phys* 1965; 42:288-292
- [29] Le Bihan D., Mangin J.F., Poupon C., Clark Ch.A., Pappata S., Molko N., Chabriat H.: Diffusion Tensor Imaging: Concepts and Applications. *J Magn Reson* 2001; 13:534-546.
- [30] Le Bihan D.: Molecular diffusion nuclear magnetic resonance imaging. *Magn Reson Q* 1991; 7:1-30
- [31] Heid O., Weber J.: Diffusion Tensor Trace Pulse Sequence, SMRM, 1995
- [32] Mansfield P.: Multi-planar image formation using NMR spin-echoes. *JPhys* 1977; C10:L55-L58
- [33] Wong W.C., Cox R.W., Song A.W.: Optimized Isotropic Diffusion Weighting. *Magn Reson Med* 1995; 34:139-143
- [34] Basser P.J., Mattiello J., Le Bihan D.: Anisotropic Diffusion: MR Diffusion Tensor Imaging. *DOPSAT Z CEHO TO JE-JARDA*
- [35] Melhem E.R., Mori S., Mukundan G., Kraut M.A., Pomper M.G., van Zijl P.C.M.: Diffusion Tensor MR Imaging of the Brain and White Matter Tractography. *AJR* 2002; 178:3-16
- [36] Kaba S.E., Kyritsis A.P.: Recognition and management of gliomas. *Drugs* 1997; 53:235-244

- [37] Yang D., Korogi Y., Sugahara T., Kitajima M., Shigematsu Y., Liang L., Ushio Y., Takahashi M.: Cerebral gliomas: prospective comparison of multi-voxel 2D chemical-shift imaging proton MR spectroscopy, echoplanar perfusion and diffusion-weighted MRI. *Neuroradiology* 2002; 44: 656-666
- [38] Pierpaoli C., Jezzard P., Basser P. et al: Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* 1996; 201:637-648
- [39] Cousins J.P.: Clinical MR spectroscopy: fundamentals, current applications, and future potential. *Am J Roentgenol* 1995; 164:1337-1347
- [40] Gupta R.K., Sinha U., Cloughesy T.F., Alger J.R.: Inverse Correlation Between Choline Magnetic Resonance Spectroscopy Signal Intensity and the Apparent Diffusion Coefficient in Human Glioma. *Magn Reson Med* 1999; 41:2-7
- [41] Gill S.S., Thomas D.G., Van Bruggen N., Gadian D.G., Peden C.J., Bell J.D., Cox I.J., Menon D.K., Iles R.A., Bryant D.J.: Proton MR spectroscopy of intracranial tumours: in vivo and in vitro studies. *J Comput Assist Tomogr* 1990; 14:497-504
- [42] Krabbe K., Gideon P., Wagn P., Hansen U., Thomsen C., Madsen F.: MR diffusion imaging of human intracranial tumors. *Neuroradiology* 1997; 39:483-489
- [43] Gupta R.K., Cloughesy T.F., Sinha U., Garakian J., Lazareff J., Rubino G., Rubino L., Becker D.P., Vinters J.R., Alger J.R.: Relationships between choline magnetic resonance spectroscopy , apparent diffusion coefficient and quantitative histopathology in human glioma. *J Neuro-Oncology* 2000; 50:215-226
- [44] Irwan R., Sijens P.E., Potze J.H., Oudkerk M.: Correlation of proton MR spectroscopy and diffusion tensor imaging. *Magn Reson Imaging* 2005; 23:851-858
- [45] Catalaa I., Henry R., Dillon W.P., Graves E.E., McKnight T.R., Lu Y., Vigneron D.B., Nelson S.J.: Perfusion, diffusion and spectroscopy values in newly diagnosed cerebral gliomas. *NMR Biomed.* 2006; 19:463-475
- [46] Di Costanzo A., Scarabino T., Trojsi F., Giannatempo G.M., Popolizio T., Catapano D., Bonavita S., Maggioletti N., Tosetti M., Salvolini U., d'Angelo V.A., Tedeschi G.: Multiparametric 3T MR approach to the assessment of cerebral gliomas: tumor extent and malignancy. *Neuroradiology* 2006; 48(9):622-631
- [47] Chiang I.Ch., Kuo Y.T., Lu Ch.Y., Yeung K.W., Lin W.Ch., Sheu F.O., Liu G.Ch.: Distinction between high-grade gliomas and solitary metastases using peritumoral 3-T magnetic resonance spectroscopy, diffusion, and perfusion imagings. *Neuroradiology* 2004; 46:619-627
- [48] Bulakbasi N., Kocaoglu M., Ors F., Tayfun C., Ucoz T.: Combination of Single-Voxel Proton MR Spectroscopy and Apparent Diffusion Coefficient Calculation in the Evaluation of Common Brain Tumors. *Am J Neuroradiol* 2003; 23:225-233

-
- [49] Matsumura A., Isobe T., Anno I., Takano S., Kawamura H.: Correlation between choline and MIB-1 index in human gliomas. A quantitative in proton MR spectroscopy study. *J Clinical Neuroscience* 2005; 12(4):416-420
- [50] Fulham M.J., Bizzi A., Dietz M.J., Shih H.H.L., Raman R., Sobering G.S., Frank J.A., Dwyer A.J., Alger J.R., Di Chiro G.: Mapping of Brain Tumor Metabolites with Proton MR Spectroscopic Imaging: Clinical Relevance. *Radiology* 1992; 185:675-686
- [51] Alger J.R., Frank J.A., Bizzi A., Fulham M.J., DeSouza B.X., Duhaney M.O., Inscoc S.W., Black J.L., van Zijl P.C.M., Moonen Ch.T.W., Di Chiro G.: Metabolism of Human Gliomas: Assessment with H-1 MR Spectroscopy and F-18 Fluorodeoxyglucose PET. *Radiology* 1990; 177:633-641
- [52] MATLAB. The MathWorks Inc., Natick, 1996
- [53] Pal K., Sharma U., Gupta D.K., Pratap A., Jagannathan N.R.: Metabolite profile of cerebrospinal fluid in patients with spina bifida: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Spine* 2005; 30:E68-E72