

**Univerzita Karlova**

**Studijní program: Biomedicína**

**Studijní obor: lékařská biofyzika**



**1. LÉKAŘSKÁ  
FAKULTA**  
**Univerzita Karlova**

**RNDr. Marek Chmelík, PhD.**

Sledovanie metabolizmu hepatobiliárneho systému  
pomocou in vivo  $^{31}\text{P}$  magnetickej rezonančnej spektroskopie

Monitoring of Hepatobiliary System Metabolism  
by In vivo  $^{31}\text{P}$  Magnetic Resonance Spectroscopy

**Habilitačná P R Á C A**

**Praha 2022**

## **Pod'akovanie**

Ďakujem všetkým svojim terajším a bývalým kolegom, hlavne všetkým vedeckým spoluautorom za odbornú spoluprácu a rady, ktorými mi pomohli vypracovať predkladanú habilitačnú prácu. Menovite Assoc. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Wolfgangovi Bognerovi, Assoc. Prof. Priv.-Doz. Mag. Dr. Martinovi Krššákovi, Ing. Ladislavovi Valkovičovi, PhD, Mgr. Martinovi Gajdošíkovi, PhD. a Assoc. Prof. Mag. Dr. Stephanovi Gruberovi za konštruktívnu kritiku, za všetky odborné rady pri plánovaní experimentov, aktívnu pomoc počas ich realizácie a pomoc pri publikovaní manuskriptov.

V neposlednom rade ďakujem Univ.-Prof. Dr.med.univ. Siegfriedovi Trattinigovi za finančnú podporu a za možnosť využívať kapacity pracoviska MR Centre of Excellence, Medicínskej Univerzity vo Viedni.

Na záver ďakujem svojej rodine za podporu a trpezlivosť počas mojej doterajšej vedeckej kariéry.

## Abstrakt

*In vivo* magnetická rezonančná spektroskopia (MRS) je moderné neinvazívne vyšetrenie, ktoré poskytuje komplementárnu informáciu k MRI vyšetreniu. Umožňuje získavať informácie o biochémii a metabolizme ľudských tkanív počas rôznych fyziologických a patologických podmienok. Detekcia vysoko energetických fosforových ( $^{31}\text{P}$ ) metabolitov (napr. ATP, Pi, fosfokreatín), vnútrobunkového pH, a vnútrobunkovej koncentrácie voľného magnézia ( $[\text{Mg}^{2+}]$ ) sú analytickým základom tejto metódy. Zároveň aj informácia o koncentrácii fosfomonoesterov (PME; napr., fosfocholín) a fosfodiesterov (PDE; napr., glycerofosfocholín) v tkanivách bola navrhnutá ako možný diagnostický marker rakoviny a zápalových chorôb pečene.

Témou tejto habilitačnej práce je implementácia, *in vivo*  $^{31}\text{P}$  MRS ľudskej pečene na vysokom a ultra-vysokom magnetickom poli 3T a 7T. Jej využitie pri stanovovaní absolútnych koncentrácií metabolitov u zdravých dobrovoľníkov, ako aj u pacientov s metabolickým ochorením (napr. diabetes, NAFLD a NASH). Práca je rozdelená na dve časti. Prvá tvorí teoretický základ o *in vivo* MRS, hepatobiliárnom systéme a druhá časť je súborom jedenástich recenzovaných prác, ktorých autorom a spoluautorom je uchádzač. Prvá práca prezentuje metodológiu stanovovania koncentrácií metabolitov *in vivo* v pečeniach zdravých dobrovoľníkov na prístroji s magnetickým poľom 3T a druhá jej aplikáciu na stanovenie koncentrácií v pečeniach diabetikov typu 2. Tretia a štvrtá práca prezentujú metodologické riešenia jednovoxelovej a mnohovoxelovej lokalizačnej techniky na 7T. Navrhované metódy profitujú zo zvýšeného pomeru signál - šum a lepšieho spektrálneho rozlíšenie na 7T. Metódy zároveň minimalizujú problémy nehomogénneho excitačného poľa a väčšej lokalizačnej chyby rozdielného chemického posunu, ktoré sú charakteristické pre MR merania na ultra-vysokom magnetickom poli. Piata práca prezentuje novú metódu na meranie profilu RF cievok využívaných pri týchto metódach. Šiesta práca pokrýva merania  $T_1$  relaxačných časov pečňových  $^{31}\text{P}$  metabolitov na 7T, ktoré sú potrebné pre optimalizáciu meracích protokolov a korekcie potrebné pre kvantifikáciu dát. Tiež prezentuje prvé skúsenosti s lokalizačnými technikami v pečeniach zdravých dobrovoľníkov. Siedma práca prináša prvý dôkaz o výraznom signáli fosfatidylcholínu zo žlče v pečňových spektrách. Tento signál bol doteraz považovaný za signál fosfoenolpyruvátu. Ôsma práca prezentuje neinvazívnu diferenciáciu nealkoholickej tukovej pečene (non-alcoholic fatty liver - NAFL) a nealkoholickej steatohepatitídy (non-alcoholic steatohepatitis - NASH) pomocou  $^{31}\text{P}$  MRS.

Deviata práca je review článok o súčasných možnostiach využitia týchto metód v medicínskom výskume. Desiata práca prezentuje implementáciu kvantifikácie koncentrácií metabolitov v pečeni pomocou prístroja MRI s magnetickým poľom 7T a jedenásta práca pilotnú štúdiu merania koncentrácií fosfatidylcholínu v žľezách pacientov s cholangiopatiami. Súbor týchto prác môže slúžiť ako základ pre ďalšie neinvazívne štúdie metabolizmu hepatobiliárneho systému pomocou  $^{31}\text{P}$  MRS na vysokých a ultra-vysokých magnetických poliach.

# Abstract

*In vivo* magnetic resonance spectroscopy (MRS) is modern noninvasive examination, which provides complementary information to the MRI examination. It allows to acquire information about human tissue biochemistry and metabolism under various physiological and pathological conditions. Detection of high-energy phosphorus ( $^{31}\text{P}$ ) metabolites (e.g. ATP, Pi, phosphocreatine), intracellular pH, and the intracellular free magnesium concentration ( $[\text{Mg}^{2+}]$ ) are the analytical basis for this method. In addition, information about phosphomonoesters (PME; i.e., phosphocholine) and phosphodiester (PDE; i.e., glycerophosphocholine) tissue concentration have been proposed as possible diagnostic markers for cancer, inflammatory liver diseases.

The topic of this habilitation thesis is implementation of *in vivo* hepatic  $^{31}\text{P}$  MRS at high and ultrahigh magnetic field 3T and 7T. Its use for assessment of metabolite absolute concentration in healthy volunteers and patients with metabolic diseases (i.e. Diabetes, NAFLD and NASH). Thesis is divided into two parts. The first part forms theoretical background about *in vivo* MRS, hepatobiliary system and the second part is collection of eleven peer-reviewed articles with first authorships and co-authorships of candidate. The first article presents methodology for concentration assessment in the livers of healthy volunteers at 3T and the second its application to assess concentration in livers of type 2 diabetic patients. The third and fourth article present methodological implementation of single and multivoxel localization technique at 7T. Proposed methods benefit from higher signal to noise ratio and from better spectral resolution at 7T. The methods minimize problems of inhomogeneous excitation field and of higher chemical shift displacement error, which are characteristic for MR experiments at ultrahigh magnetic field. The fifth work presents new method for measuring profile of RF coils used in these methods. The sixth article covers  $T_1$  relaxation times measurements of  $^{31}\text{P}$  hepatic metabolites at 7T, which are necessary for measurement protocols optimization and for data quantification corrections. It also presents the first experience with localization techniques in livers of healthy volunteers. The seventh article shows the first evidence about a strong signal of biliary phosphatidylcholine in hepatic  $^{31}\text{P}$  MRS spectra, this signal was previously assigned to phosphoenolpyruvate. The eighth paper presents non-invasive differentiation between non-alcoholic fatty liver disease - NAFLD and non-alcoholic steatohepatitis - NASH by  $^{31}\text{P}$  MRS. The ninth work is review paper about

current possibilities of presented methods in medical research. The tenth work presents implementation of metabolite concentration quantification in liver by MRI scanner with 7T magnetic field and the eleventh paper a pilot study to measure concentration of gallbladder phosphatidylcholine in cholangiopathies.

Collection of these articles may serve as basis for further noninvasive studies of hepatobiliary metabolism by  $^{31}\text{P}$  MRS at high and ultrahigh magnetic fields.

# Obsah

<b>ZOZNAM SKRATIEK A ZNAČIEK .....</b>	<b>9</b>
<b>ÚVOD.....</b>	<b>11</b>
<b>1 ZÁKLADY NMR .....</b>	<b>13</b>
1.1 HISTÓRIA MR.....	13
1.2 JADRO .....	14
1.3 JAV JADROVEJ MAGNETICKEJ REZONANCIE .....	16
1.3.1 Interakcia s magnetickým poľom: Kvantový model .....	16
1.3.2 Interakcia s magnetickým poľom: Klasický Model .....	17
1.3.3 Vektor magnetizácie .....	20
1.3.4 Rádiofrekvenčné (RF) pulzy .....	21
1.3.5 Detekcia signálu FID.....	24
1.3.6 Relaxácia .....	25
1.3.7 Fourierova transformácia, spektrum.....	26
1.4 IN VIVO SPEKTROSKOPIA.....	28
1.4.1 Chemický posun .....	28
1.4.2 Citlivosť in vivo spektroskopie .....	30
1.4.3 Lokalizácia signálu .....	30
1.4.4 Princípy in vivo lokalizácie signálu .....	32
1.4.5 Lokalizačné techniky .....	34
<b>2 HEPATOBILIÁRNY SYSTÉM .....</b>	<b>39</b>
2.1 PEČEŇ.....	39
2.2 ŽLČOVÉ CESTY .....	40
2.3 ŽLČNÍK .....	41
2.4 ZOBRAZOVANIE HEPATOBILIÁRNEHO SYSTÉMU POMOCOU MRI .....	42
2.4.1 MRI pečene .....	42
2.4.2 MR Cholangiopankreatografia (MRCP).....	42
2.4.3 MR Elastografia (MRE).....	43
2.5 OCHORENIA PEČENE Z POHĽADU MR ZOBRAZOVANIA .....	45
2.5.1 Fokálne pečňové lézie v MR obraze.....	45
2.5.2 Difúzne ochorenia pečene v MR obraze .....	50
2.6 OCHORENIA BILIÁRNEHO TRAKTU V MR OBRAZE.....	57
2.6.1 Ochorenia žlčovýchodov v MR obraze .....	57
2.6.2 Ochorenia žlčníka v MR obraze .....	62
<b>3 HEPATOBILIÁRNA IN VIVO MR SPEKTROSKOPIA .....</b>	<b>66</b>
3.1 HEPATOBILIÁRNA IN VIVO <sup>1</sup> H-MRS.....	66
3.1.1 Detekovateľné metabolity <sup>1</sup> H-MRS .....	66
3.1.2 Sledovanie tukov v pečeni pomocou <sup>1</sup> H-MRS .....	66
3.1.3 Sledovanie profilu tukov v pečeni pomocou <sup>1</sup> H-MRS.....	68
3.1.4 Cholín obsahujúce metabolity a glykogén.....	69
3.2 HEPATOBILIÁRNA IN VIVO <sup>31</sup> P-MRS.....	70
3.2.1 <sup>31</sup> P in vivo spektrum .....	70
3.2.2 Výhody in vivo <sup>31</sup> P MRS spektroskopie na 7T.....	73
3.2.3 Informácie získané z <sup>31</sup> P MR spektra pečene.....	75
3.2.4 <sup>31</sup> P-MRS pečene v pokoji.....	77
3.2.5 Dynamická <sup>31</sup> P-MRS metabolizmu pečene .....	78
3.3 HEPATÁRNA IN VIVO <sup>13</sup> C-MRS.....	81
<b>4 ORIGINÁLNE PEER-REVIEWED PRÁCE AUTORA.....</b>	<b>82</b>
4.1 PRÁCA Č. 1: TROJROZMERNÉ VYSOKO ROZLIŠENÉ SPEKTROSKOPICKÉ ZOBRAZOVANIE PRE ABSOLÚTNU KVANTIFIKÁCIU <sup>31</sup> P	

METABOLITOV V ĽUDSKEJ PEČENI .....	83
4.2 PRÁCA Č. 2: ABNORMÁLNA HEPATÁLNA ENERGETICKÁ HOMEOSTÁZA U DIABETU TYPU 2.....	85
4.3 PRÁCA Č. 3: IN VIVO <sup>31</sup> P SPEKTROSKOPIA POMOCOU PLNE ADIABATICKEJ ROZŠÍRENEJ OBRAZOM SELEKTOVANEJ IN VIVO SPEKTROSKOPIE: POROVNANIE MEDZI 3T A 7T.....	87
4.4 PRÁCA Č. 4: PLNE ADIABATICKÉ <sup>31</sup> P 2D-CSI ZOBRAZOVANIE S REDUKOVANOU LOKALIZAČNOU CHYBOU CHEMICKÉHO POSUNU NA 7T — GOIA-1D-ISIS/2D-CSI .....	89
4.5 PRÁCA Č. 5: MAPOVANIE SKLÁPACIEHO UHLA <sup>31</sup> P RF CIEVOK POMOCOU USTÁLENÉHO MR SPEKTROSKPICKÉHO ZOBRAZOVANIA. ....	91
4.6 PRÁCA Č. 6: IN VIVO <sup>31</sup> P MAGNETICKÁ REZONANČNÁ SPEKTROSKOPIA ĽUDSKEJ PEČENE NA 7T: ÚVODNÉ SKÚSENOSTI. 93	
4.7 PRÁCA Č. 7: FOSFATIDYLCHOLÍN PRISPÍEVA K IN VIVO <sup>31</sup> P MRS SIGNÁLU Z ĽUDSKEJ PEČENE. ....	95
4.8 PRÁCA Č. 8: APLIKÁCIA LOKALIZOVANÉHO SATURAČNÉHO TRANSFERU NA 7T PRE MERANIE ATP METABOLIZMU V PEČENI. REPRODUCIBILITA A POČIATOČNÁ KLINICKÁ APLIKÁCIA U PACIENTOV S NEALKOHOLICKOU TUKOVOU PEČEŇOU. ....	97
4.9 PRÁCA Č. 9: IN-VIVO <sup>31</sup> P MRS KOSTROVÉHO SVALSTVA A PEČENE: CESTA K NEINVAZÍVNEMU HODNOTENIU ICH METABOLIZMU. ....	99
4.10 PRÁCA Č. 10: ABSOLÚTNA KVANTIFIKÁCIA FOSFOR OBSAHUJÚCICH METABOLITOV V PEČENI S POUŽITÍM <sup>31</sup> P MRSI A KOREKCIA NA OBJEM HEPATÁLNEHO TUKU NA 7T NENAZNAČUJE ZÁVISLOSŤ OD BMI A VEKU. ....	101
4.11 PRÁCA Č. 11: KONCENTRÁCIA FOSFATIDYLCHOLÍNU V ŽLČNÍKU PRI CHOLANGIOPATIÁCH: <sup>31</sup> P MRS PILOTNÁ ŠTÚDIA. 103	
<b>5 ZÁVER.....</b>	<b>105</b>
<b>6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY.....</b>	<b>106</b>
<b>7 ZOZNAM PRILOŽENÝCH ORIGINÁLNYCH VEDECKÝCH PRÁC .....</b>	<b>116</b>



## Zoznam skratiek a značiek

<b><sup>1</sup>H-MRS</b>	protónová magnetická rezonančná spektroskopia / proton magnetic resonance spectroscopy
<b><sup>31</sup>P-MRS</b>	fosforová magnetická rezonančná spektroskopia / phosphorus magnetic resonance spectroscopy
<b><sup>31</sup>P-MRSI</b>	fosforové MR spektroskopické zobrazovanie / phosphorus magnetic resonance spectroscopic imaging
<b>ADP</b>	adenozín difosfát / adenosine-diphosphate
<b>AFLD</b>	alkoholové stukovatenie pečene / alcoholic fatty liver disease
<b>AMARES</b>	pokročilá metóda pre presné, robustné a efektívne spektrálne fitovanie / advanced method for accurate, robust, and efficient spectral fitting
<b>ATP</b>	adenozín trifosfát / adenosine-triphosphate
<b>B<sub>0</sub></b>	hlavné statické magnetické pole / main static magnetic field
<b>B<sub>1</sub></b>	rádiofrekvenčné magnetické pole / radiofrequency magnetic field
<b>CCC</b>	metabolity obsahujúce cholín / choline containing compounds
<b>CK</b>	kreatín kináza / creatine-kinase
<b>Cr</b>	kreatín / creatine
<b>CSDE</b>	artefakt chemického posunu / chemical shift displacement error
<b>CSI/MRSI</b>	MR spektroskopické zobrazovanie / MR spectroscopic imaging / chemical shift imaging
<b>CT</b>	počítačová tomografia / computed tomography
<b>DRESS</b>	povrchovou cievkou hĺbkovo rozlíšená MRS / depth-resolved surface coil MRS
<b>DWI</b>	difúzne vážené zobrazovanie / diffusion weighted imaging
<b>EBD</b>	extrahepatálny žlčovod / extrahepatic bile duct
<b>ERCP</b>	endoskopická retrográdna cholangiopankreatikografia / endoscopic retrograde cholangiopancreatography
<b>FA</b>	sklápací uhol / flip angle
<b>FHN</b>	fokálna nodulárna hyperplázia / focal nodular hyperplasia
<b>FID</b>	meraný (indukovaný v cievke) MR signal / free induction decay
<b>FT</b>	Fourierová transformácia / Fourier transform
<b>G6P</b>	glukóza-6-fosfát / glucose-6-phosphate
<b>GPC</b>	glycerolfosfocholín / glycerol-phosphocholine
<b>GPE</b>	glycerolfosfoetanolamín / glycerol-phosphoethanolamine
<b>GRE</b>	gradientové echo / gradient echo
<b>HCC</b>	hepatocelulárny karcinóm / hepatocellular carcinoma
<b>HCA</b>	hepatocelulárny adenóm / hepatocellular adenoma
<b>HCL</b>	hepatocelulárne tuky / hepatocellular lipids
<b>HCV</b>	vírus hepatitídy typu C / hepatitis C virus
<b>HBV</b>	vírus hepatitídy typu B / hepatitis B virus
<b>HU</b>	Hounsfieldová jednotka / Hounsfield unit
<b>IR</b>	návrat po inverzii / inversion recovery
<b>ISIS</b>	obrazovo selektovaná in vivo spektroskopia / image-selected in vivo spectroscopy
<b>MRCP</b>	magnetická rezonančná cholangiopankreatikografia / magnetic resonance cholangiopancreatography
<b>MRE</b>	magnetická rezonančná elastografia / magnetic resonance elastography
<b>MRI</b>	magnetické rezonančné zobrazovanie / magnetic resonance imaging
<b>MRS</b>	magnetická rezonančná spektroskopia / magnetic resonance spectroscopy
<b>MT</b>	magnetizačný transfer / magnetization transfer
<b>MUFA</b>	mononenasýtené mastné kyseliny / mono unsaturated fatty acids

<b>NAD</b>	(NAD <sup>+</sup> , NADH) nikotínamidadenín dinukleotid (jeho oxidovaná a redukovaná forma) / nicotinamide adenine dinucleotide (its oxidized and reduced form, respectively)
<b>NAFLD</b>	nealkoholové stukovatenie pečene / non-alcoholic fatty liver disease
<b>NASH</b>	nealkoholová steatohepatitída / non-alcoholic steatohepatitis
<b>NOE</b>	jadrový Overhauserov efekt / nuclear Overhauser effect
<b>NMR</b>	nukleárna magnetická rezonancia / nuclear magnetic resonance
<b>OVS</b>	saturácia vonkajšieho objemu / outer-volume saturation
<b>PBC</b>	primárna biliárna cholangitída / primary biliary cholangitis
<b>PC</b>	fosfocholín / phosphocholine
<b>PCr</b>	fosfokreatín / phosphocreatine
<b>PDE</b>	fosfodiester / phosphodiester
<b>PE</b>	fosfoetanolamín / phosphoethanolamine
<b>Pi</b>	neorganický fosfát / inorganic phosphate
<b>PME</b>	fosfomonoestery / phosphomonoesters
<b>PPM</b>	dielov (častíc) na milión / parts-per-million
<b>PRESS</b>	Point RESolved Spectroscopy
<b>PSC</b>	primárna sklerotizujúca cholangitída / primary sclerosing cholangitis
<b>PtdC</b>	fosfatydlcholín / phosphatidylcholine
<b>PUFA</b>	polynenasýtené mastné kyseliny / polyunsaturated fatty acids
<b>RF</b>	rádiofrekvenčný / radio-frequency
<b>SAR</b>	špecifická miera absorpcie / specific absorption rate
<b>semi-LASER</b>	vrstvovo-selektívna excitácia s lokalizáciou pomocou adiabatycznej selektívnej refokusácie / slice-selective excitation with localization by adiabatic selective refocusing
<b>SFA</b>	našytené masné kyseliny / saturated fatty acids
<b>SNR</b>	pomer signál/šum / signal-to-noise ratio
<b>ST</b>	saturačný transfer / saturation transfer
<b>STEAM</b>	SVS technika módu snímania stimulovaného echa / stimulated echo acquisition mode
<b>SVS</b>	jednovoxlová spektroskopia / single-voxel spectroscopy
<b>tCr</b>	celkový kreatín / total creatine
<b>T<sub>1</sub></b>	pozdĺžna relaxácia alebo spin-mriežková relaxácia / longitudinal relaxation or spin-lattice relaxation
<b>T<sub>2</sub></b>	spin-spinová relaxácia alebo priečna relaxácia / spin-spin relaxation or transverse relaxation
<b>T2DM</b>	diabetes melitus typu 2 / type 2 diabetes mellitus
<b>TAG</b>	triacylglycerol / triacylglycerol
<b>TE</b>	čas echa / echo time
<b>TMS</b>	(Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ) tetrametylsilán / tetramethylsilane
<b>TR</b>	repetičný čas / repetition time
<b>UDPG</b>	uridín difosfát glukóza / uridine diphosphate glucose
<b>UI</b>	index nenasýtenia väzieb tukov / unsaturated index
<b>USG</b>	ultrazvuk / ultrasound
<b>VOI</b>	objem záujmu volume of interest

# Úvod

Prístroje magnetickej rezonancie (MR) predstavujú úžasnú kombináciu modernej vedy a techniky. Využívajú viaceré fyzikálne javy vrátane javu supravodivosti, kryogeniky, kvantovej fyziky, ktoré sú kombinované s digitálnou počítačovou technológiou - a to všetko v rámci rádiologických oddelení nemocníc na získavanie informácií v prospech pacientov. MR zobrazovanie sa vyvinulo z neperspektívnych začiatkov v 70. rokoch v zobrazovaciu metódu prvej voľby pre veľkú časť rádiologických vyšetrení a „v korunný klenot“ lekárskej zobrazovacej technológie.

Je to predovšetkým zobrazovacia metóda citlivá na prítomnosť a vlastnosti vody, ktorá tvorí 70 % až 90 % väčšiny tkanív. Vlastnosti a množstvo vody v tkanive sa môžu dramaticky meniť počas chorôb a úrazov, vďaka ktorým je MR veľmi dobrou citlivou diagnostickou technikou. MR deteguje jemné zmeny magnetizmu jadra, drobnej entity, ktorá leží v centre atómu. V najpokročilejšej podobe je použitie MR vyžívané nielen na zobrazenie anatómie a patológie, ale aj na vyšetovanie orgánových funkcií, na skúmanie in vivo metabolizmu a dokonca aj na vizualizáciu myslenia mozgu.

Vývoj, využitie a bezpečnosť MR metód je od počiatku predmetom modernej lekárskej fyziky. Za jej vývojom a uvedením do klinickej praxe stáli fyzici, chemici a inžinieri, z ktorých viacerí boli ovcenčení Nobelovými cenami za fyziku, chémiu a medicínu. Metóda sa spočiatku volala NMR zobrazovanie (NMR je skratka pre nukleárnu magnetickú rezonanciu). Cynicky možno povedať, že technika sa naozaj klinicky naštartovala, keď zmizlo písmeno „N“ z jej názvu. Bolo to rozumné, keďže pojem „jadrový“, hoci je vedecky presný, znamenal spojenie s jadrovou energiou a v posledných rokoch studenej vojny rezonoval v mysli verejnosti s príznakom jadrových zbraní [1].

MR techniky sa rozvinuli v rozmanité oblasti od klinických diagnostických zobrazovacích metód po pokročilé techniky metabolického a funkčného zobrazovania, ktoré nachádzajú uplatnenie v medicínskom predklinickom a klinickom výskume.

In vivo MR spektroskopia (MRS) je kombináciou zobrazovacích a spektroskopických metód, kedy je možné pomocou gradientov selektívne snímať malý objem tkaniva, a potom neinvazívne zaznamenať signál chemických metabolitov z vybraného objemu.

V chemickej polievke ľudského tela je veľký počet vodných a tukových protónov, ktorých signál tvorí základ MRI zobrazovania. Zároveň menší počet protónov sa nachádza

v iných molekulách (napr. neurotransmiteroch), ktoré vieme pomocou MRS detekovať. Navyše ľudské telo obsahuje veľké množstvo molekúl obsahujúcich atómy (fosfor  $^{31}\text{P}$ , uhlík  $^{13}\text{C}$ ), ktoré vykazujú jav magnetickej rezonancie.

Fosforová spektroskopia ( $^{31}\text{P}$  MRS) je in vivo spektroskopická metóda, ktorá sa používa hlavne na pozorovanie metabolizmu svalov, pečene, mozgu a srdca. In vivo  $^{31}\text{P}$  MRS umožňuje pozorovať bioenergetiku tkanív počas rôznych fyziologických a patologických podmienok. Detekcia vysoko energetických  $^{31}\text{P}$  metabolitov (adenozíntrifosfát – ATP, fosfokreatín – PCr, a anorganický fosfát - Pi), vnútrobunkového pH, a vnútrobunkovej koncentrácie voľného magnézia ( $[\text{Mg}^{2+}]$ ) sú analytickým základom tejto metódy [2–4]. Zároveň aj informácia o koncentrácii fosfomonoesterov (PME; napr., fosfocholínu) a fosfodiesterov (PDE; napr, glycerofosfocholínu) v tkanivách bola navrhnutá ako možný diagnostický marker onkologických ochorení [5–7], zápalovej choroby pečene [8], a neurodegeneratívnych chorôb [9].

Základom tejto techniky je jav chemického posunu, kedy podobne ako pri vode a tukoch dochádza k rozdielnej rezonančnej frekvencii jadier fosforu vplyvom rozdielneho molekulového prostredia v rámci rôznych molekúl (vplyv elektrónového oblaku susedných atómov).

Vyprodukované spektrá poskytujú informáciu o metabolizme daného tkaniva, a to bez akejkoľvek invazívnej intervencie. Niekoľko rokov táto technika bola technicky náročná a výsledky boli nevýrazné, ale v poslednej dobe sa zavedením vysokopoločných magnetov 3T a 7T do klinickej praxe stáva technika spoľahlivou.

Predmetom tejto habilitačnej práce je demonštrácia rozvoja a využitia techník, ktoré slúžia na neinvazívne in vivo sledovanie metabolizmu hepatobiliárneho systému pomocou  $^{31}\text{P}$  magnetickej rezonančnej spektroskopie ( $^{31}\text{P}$  MRS).

# 1 Základy NMR

## 1.1 História MR

Jav jadrovej magnetickej rezonancie (NMR) objavili dňa 15. decembra 1945 Purcell, Torrey a Pound na Standfordskej univerzite. Celkom nezávisle o 6 týždňov neskôršie objav zopakoval Bloch, Hansen a Packard na univerzite v Harvarde. Nobelovou cenou za fyziku boli Edward Mills Purcell a Felix Bloch ocenení v roku 1952. Ich objavu však predchádzalo mnoho objavov o magnetizme prakticky už od antických dôb. Objav jadrovej magnetickej rezonancie položil základ jednej z najdôležitejších analytických techník vo fyzike, chémii, biochémií a medicíne.

Zavedenie fourierovej transformácie do NMR spektroskopie bol ďalším významným medzníkom. Bol to najvýznamnejší prínos Richarda R. Ernsta z Zürichu, ktorý dostal v roku 1991 Nobelovu cenu za chémiu. Rozhodujúci krok od NMR spektroskopie k MR zobrazovaniu urobil v roku 1973 Paul C. Lauterbur [10]. Jeho myšlienka použiť lineárne (gradientové) magnetické pole na priestorovú lokalizáciu signálu sa potom rýchlo vyvíjala. Prvý obraz ľudského tela in vivo (prst) publikovali Mansfield a Maudsley v roku 1976 [11]. Paul C. Lauterbur a Peter Mansfield dostali za svoje objavy v roku 2003 Nobelovu cenu za medicínu. Damadian so spolupracovníkmi skonštruovali prvý celotelový MR tomograf a v roku 1977 publikovali obraz hrudníka. Úspechy univerzitných pracovísk v druhej polovici 70-tych rokov podnietili priemyselné spoločnosti k rozsiahlym investíciám do technického vývoja, ktorý v roku 1980 vyústil do prvých klinických skúšok prototypov celotelových tomografov. Výroba na masovom základe sa rozbehla v rokoch 1983-85 [12].

V súčasnosti sa na svete vykoná viac ako 100 miliónov procedúr ročne, čiže MR zobrazovanie sa radí k hlavným zobrazovacím technikám v medicíne.

Na doplnenie Nobelových cien za NMR, cenu za chémiu v roku 2002 získal Kurt Wütrich za svoj objav využitia NMR spektroskopie na určovanie trojrozmerných štruktúr biologických makromolekúl v roztokoch.

## 1.2 Jadro

Za interakciu niektorých jadier s magnetickým poľom môže ich spin. Kvantová mechanika ukazuje, že niektoré jadrá rotujú okolo svojich osí a interagujú s magnetickými poľami. Spin jadier  $\vec{I}$  môže nadobúdať celočíselné alebo poločíselné hodnoty v závislosti od množstva protónov a neutrónov v jadre. K interakcii nedochádza, ak  $\vec{I}$  je rovné nule. Nasledujúci popis platí pre jadrá s  $\vec{I} = 1/2$ , ako je protón jadro vodíka  $^1\text{H}$ , ale napr. aj jadro fosforu  $^{31}\text{P}$ .

Spin jadier spôsobuje vznik uhlového momentu, ktorý je definovaný ako

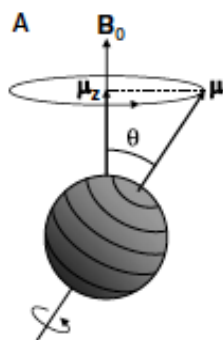
$$\vec{p} = \hbar \vec{I} \quad (1)$$

kde  $\vec{I}$  je spin a  $\hbar = \frac{h}{2\pi}$  je Planckova konštanta.

Keďže jadro má aj náboj, rotáciou tohto jadra vzniká prúdová slučka, s ktorou súvisí vznik magnetického dipólového momentu  $\vec{\mu}$  (Obrázok 1). Ten je daný vzťahom

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{p} \quad (2)$$

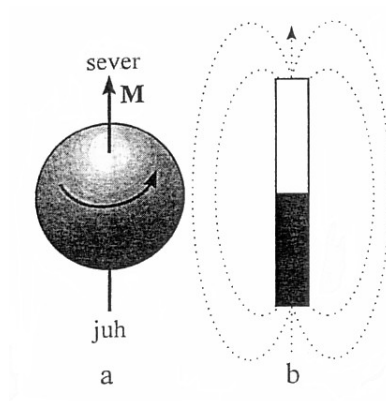
kde  $\gamma$  je konštanta charakterizujúca daný typ jadra a volá sa gyromagnetický pomer.



Obrázok 1 Jadrový magnetický moment [13]

Magnetický moment je fyzikálna vektorová veličina charakterizujúca veľkosť a smer magnetického poľa, ktoré spin elektricky nabitých častíc vytvára.

Názornou predstavou magnetického momentu je permanentný magnet pozdĺžneho tvaru (Obrázok 2).



Obrázok 2 Názorná predstava magnetického momentu.

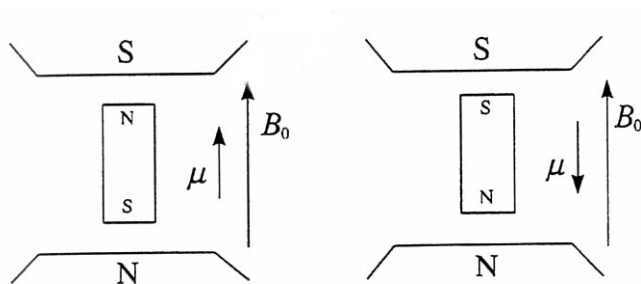
Prečo len niektoré jadrá majú magnetický moment, vysvetľuje nasledujúca úvaha. Protóny a neutróny, ktoré sa spoločne nazývajú nukleóny, majú spin a magnetický moment. Protóny sú nositeľom kladného náboja s pomerne veľkým magnetickým momentom. Neutróny, hoci navonok elektricky neutrálne, majú magnetický moment, ktorý dosahuje približne  $2/3$  magnetického momentu protónu. Príčinou magnetického momentu nukleónov sú subjadrové, elektricky nabité častice – kvarky. Vznik magnetického momentu nukleónov možno chápať ako dôsledok pohybu kvarkov po orbitáloch analogických elektrónovým. V neutróne sa kladne nabité kvarky pohybujú zväčša po vnútorných orbitáloch, záporne nabité na vonkajších. Výsledkom je nenulový magnetický moment. V atómovom jadre sa magnetické momenty nukleónov usporadúvajú antiparalelne. Tento jav sa nazýva párovanie a v prírode je uprednostňovaný, pretože vedie k stabilnejšiemu – nižšiemu energetickému stavu. Výsledkom párovania je to, že len jadrá s nepárnym počtom protónov a neutrónov majú magnetický moment [12].

## 1.3 Jav jadrovej magnetickej rezonancie

Keďže popísať jav jadrovej magnetickej rezonancie je zložité, v tejto kapitole sú uvedené dva najznámejšie modely popisu. Magnetické vlastnosti atómových jadier nadobúdajú na význame, ak sa nachádzajú v magnetickom poli a dochádza k interakcii magnetických momentov s týmto poľom.

### 1.3.1 Interakcia s magnetickým poľom: Kvantový model

V statickom magnetickom poli sa magnetické momenty atómových jadier – spiny – usporadúvajú paralelne (stav s nižšou energiou) alebo antiparalelne (stav s vyššou energiou) vzhľadom na smer vonkajšieho magnetického poľa  $\vec{B}_0$  (Obrázok 3).



Obrázok 3 Orientácia magnetických momentov v statickom magnetickom poli, energeticky výhodnejší stav (vľavo) a nevýhodnejší stav (vpravo)

Energetický rozdiel týchto dvoch stavov je proporcionálny k veľkosti  $\vec{B}_0$  statického magnetického poľa a je daný rovnicou

$$\Delta E = \frac{|\vec{\mu}| |\vec{B}_0|}{|\vec{I}|} \quad (3)$$

alebo

$$\Delta E = \gamma \hbar |\vec{B}_0| \quad (4)$$

Prechod medzi týmito dvoma stavmi môže byť vyvolaný pôsobením na vzorku elektromagnetickou energiou o frekvencii



$$|\bar{\omega}_L| = \frac{\Delta E}{\hbar} = \gamma |\bar{B}_0| \quad (5)$$

Toto je rezonančná podmienka. Len žiarenie správnej frekvencie bude spôsobovať otočenie jadra. Rovnica (5) tiež hovorí, že rezonančná frekvencia je úmerná veľkosti magnetického poľa  $\bar{B}_0$ .

Excitácia má rovnakú šancu spôsobiť prechod oboma smermi. Hoci nižší energetický stav je v prírode preferovaný, teplotný pohyb spôsobuje prechody, takže v rovnovážnom stave je len veľmi malý nadbytok stavov s nižšou energiou.

Ak  $N_N$  a  $N_V$  sú počty spinov v nižšom a vyššom energetickom stave, potom populácie v rovnovážnom stave sú dané Boltzmanovým rozdelením

$$\frac{N_N}{N_V} = e^{\left(\frac{\hbar|\bar{\omega}_L|}{kT}\right)} \approx 1 + \frac{\hbar|\bar{\omega}_L|}{kT} \quad (6)$$

kde  $k$  je Boltzmanova konštanta a  $T$  je absolútna teplota. Nadbytok stavu je daný

$$\frac{N_N - N_V}{N_V} \approx \frac{\hbar|\bar{\omega}_L|}{kT} = \frac{\hbar\gamma|\bar{B}_0|}{kT} \quad (7)$$

Toto sú spiny, ktoré môžu byť pozorované NMR experimentom. Pre protóny pri izbovej teplote a  $B_0 = 1$  T je nadbytok stavu len  $7 \times 10^{-6}$ , čo znamená, že len 7 z 1 000 000 jadier je možné pozorovať. Čiže NMR je veľmi nesenzitívna technika. Na zvýšenie citlivosti je možné buď znížiť teplotu, čo je prakticky nemožné pri in vivo meraniach, alebo zvýšiť  $B_0$ , čo má tiež svoje limitácie. Ďalšia možnosť je zvýšiť počet meraní a potom ich priemerovať.

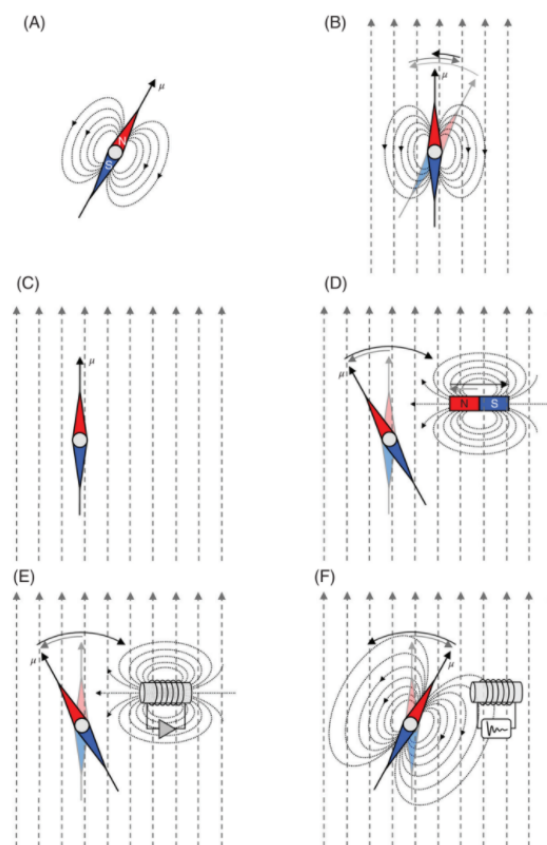
### 1.3.2 Interakcia s magnetickým poľom: Klasický Model

Striktne povedané, kvantovým modelom by sa dali popísať všetky NMR fenomény. Popis klasickým modelom však poskytuje jednoduchší popis experimentov.

Základom pre pochopenie experimentom magnetickej rezonancie je jednoduchý pokus so strelkou kompasu a jej interakciou s tyčovým magnetom (Obrázok 4).

V klasickom modeli sú povolené všetky smery spinov v magnetickom poli. Pre  $\vec{l} = 1/2$  všetky predpoklady klasického modelu súhlasia s kvantovým modelom

pre makroskopický systém.



Obrázok 4 Oscilácie strelky kompasu v magnetickom poli. (A) Strelka kompasu so severným a južným pólom má dipolárnu distribúciu poľa, ktorého amplitúda a smer sú charakterizované magnetickým momentom  $\mu$ . (B) Keď sa vloží do magnetického poľa, osciluje niekoľkokrát pred tým, ako sa ustáli paralelne s magnetickým poľom (C). Strelka kompasu smeruje v magnetickom poli smerom k južnému magnetickému pólu, ktorý je blízko geografickému severnému pólu. (D) Strelka môže byť vychýlená tyčovým magnetom. Najväčšie vychýlenie je dosiahnute, keď pohyb magnetu je totožný s prirodzenou frekvenciou strelky. (E) Tyčový magnet môže byť nahradený cievkou so striedavým prúdom. (F) Tá istá cievka môže byť použitá na detekciu oscilujúceho magnetického momentu strelky pomocou elektromagnetickej indukcie. Prevzaté z [14].

V klasickom modeli interakcia magnetického momentu  $\vec{\mu}$  a poľa  $\vec{B}_0$  spôsobuje vyrovnávanie ich smeru. Preto magnetický moment cíti torznú alebo točiacu silu  $\vec{L}$ , ktorá je daná

$$\vec{L} = \vec{\mu} \times \vec{B}_0 \quad (8)$$

keďže jadro má aj uhlový moment  $\vec{p}$ , torzná sila spôsobuje precesný pohyb jadra okolo  $\vec{B}_0$  skoro ako gyroskop v gravitačnom poli.

Miera zmeny uhlového momentu je daná

$$\frac{d\vec{p}}{dt} = \vec{L} = \vec{\mu} \times \vec{B}_0 \quad (9)$$

z rovnice (2) vyplýva

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \vec{\mu} \times \gamma \vec{B}_0$$

(10)

alebo  $\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \vec{\omega}_L \times \vec{\mu}$

(11)

kde  $\vec{\omega}_L = -\gamma \cdot \vec{B}_0$  (12)

Rovnice (11) a (12) ukazujú, že jadrá precesujú okolo smeru  $\vec{B}_0$  poľa rýchlosťou  $\omega_L$  radiánov za sekundu a znamienko mínus udáva smer rotácie. Frekvencia precesie je rovná rezonančnej frekvencii z rovnice (5) a volá sa Larmorova frekvencia.

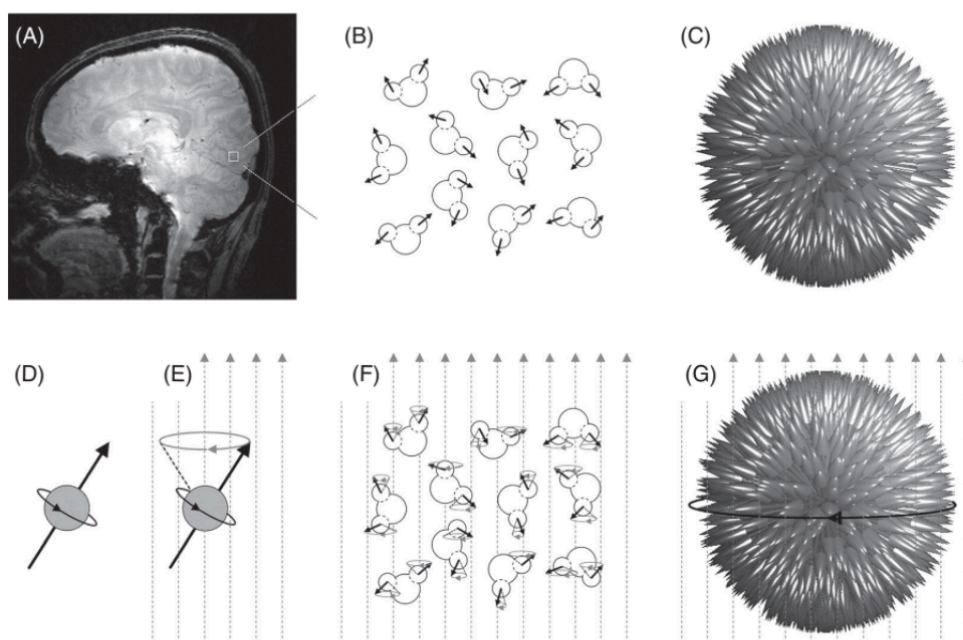
Gyromagnetický pomer, spinové kvantové číslo, prirodzený výskyt izotopu, priemerná koncentrácia v biologickom tkanive a relatívna citlivosť signálu NMR niektorých z biomedicínskeho hľadiska významnejších atómov sú uvedené v tab.1. Z tabuľky vyplýva, že najvhodnejšie jadro pre MR experimenty je jadro vodíka – protón. Nízka koncentrácia a nízka relatívna citlivosť ostatných atómov komplikuje ich využitie v MR spektroskopii [12].

Tabuľka 1 Spinové číslo, gyromagnetický pomer, prirodzený výskyt izotopu, priemerná koncentrácia v biologickom tkanive a relatívna a absolútna citlivosť signálu NMR niektorých, z biomedicínskeho hľadiska významnejších atómov

Izotop	Spinové kvantové číslo	Gyromagnetický pomer[s <sup>-1</sup> T <sup>-1</sup> ]	Prirodzený výskyt	Koncentrácia v biol. tkanive in vivo [mM]	Relatívna citlivosť	Absolútna citlivosť
<sup>1</sup> H	1/2	2,6752.10 <sup>8</sup>	0,99985	100 000	1	1
<sup>13</sup> C	1/2	6,7266.10 <sup>7</sup>	0,01108	10	0,0159	1,76.10 <sup>-4</sup>
<sup>14</sup> N	1	1,9325.10 <sup>7</sup>	0,9963	10	0,001	0
<sup>15</sup> N	1/2	-2,7108.10 <sup>7</sup>	0,00365	10	0,001	3,8.10 <sup>-6</sup>
<sup>17</sup> O	5/2	-3,6267.10 <sup>7</sup>	0,00037	50	0,0291	1,2.10 <sup>-5</sup>
<sup>23</sup> Na	3/2	7,0762.10 <sup>7</sup>	1,0	80	0,0925	0,0925
<sup>31</sup> P	1/2	1,0829.10 <sup>8</sup>	1,0	10	0,0663	0,0663

### 1.3.3 Vektor magnetizácie

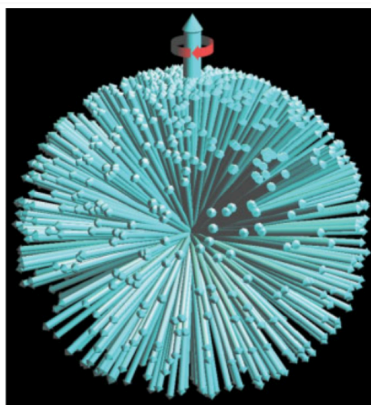
„Neistú“ pôdu subjadrového mikrosveta a s tým spojené nepresné názorné predstavy opustíme, ak sa namiesto magnetického momentu atómového jadra  $\vec{\mu}$  bude uvažovať o výslednom magnetickom momente „veľkého“ počtu atómov daných rovnicou (13) (Obrázok 5).



Obrázok 5 Orientácia protónov v ľudskom tele, bez prítomnosti silného magnetického poľa. (A,B) – 1  $\mu\text{l}$  objemu mozgu obsahuje okolo  $6 \times 10^{19}$  protónov nachádzajúcich sa hlavne v molekulách vody. (B,C) – v neprítomnosti magnetického poľa nemajú protóny preferovaný smer, čo vedie k náhodne orientovanej sfére magnetických momentov. (D) na rozdiel od strelky kompasu, jadrové magnetické momenty majú vnútorný uhlový moment alebo spin, ktorý vedie k precesnému pohybu (E) v magnetickom poli. (F) Všetky spiny vykonávajú Larmorovu precesiu, ale zostávajú náhodne orientované v prvom priblížení. (G) Aj náhodne orientovaná sféra vykonáva Larmorovu precesiu. Prevzaté z [14].

Magnetický moment makroskopickej jednotky objemu, ktorý obsahuje „veľký“ počet magnetických momentov, sa nazýva vektor magnetizácie  $\vec{M}$  alebo skrátene magnetizácia.

$$\vec{M} = \sum \vec{\mu} \quad (13)$$



Obrázok 6 Vektor magnetizácie – niektoré spiny sa orientujú v smere magnetického poľa, suma všetkých spinov už nie je nulová, ale vzniká vektor magnetizácie [15]

Tento predpoklad môžeme považovať za správny, pretože v NMR experimentoch sa merajú zmeny vektora magnetizácie a nie jednotlivých magnetických momentov.

V rovnovážnom stave má magnetizácia len pozdĺžnu zložku (v smere  $\vec{B}_0$ , Obrázok 6). Hoci individuálne magnetické momenty precesujú okolo  $\vec{B}_0$  uhlovou rýchlosťou  $\omega_L$ , nemajú žiadnu fázovú koherenciu, a teda v rovnovážnom stave nie je žiadna transverzálna (kolmá na pozdĺžnu) zložka magnetizácie. Magnetizácia sa správa ako veľký magnetický dipólový moment, takže analogicky k rovnici (11) je pohyb magnetizácie popísaný

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{\omega}_L \times \vec{\mu} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0 \quad (14)$$

Od momentu, keď sa začína opisovať správanie vektora magnetizácie  $\vec{M}$ , nachádzame sa na „pevnej“ pôde klasickej fyziky a názorné predstavy, ktoré sa na tomto základe používajú, možno považovať za dostatočne presné [12].

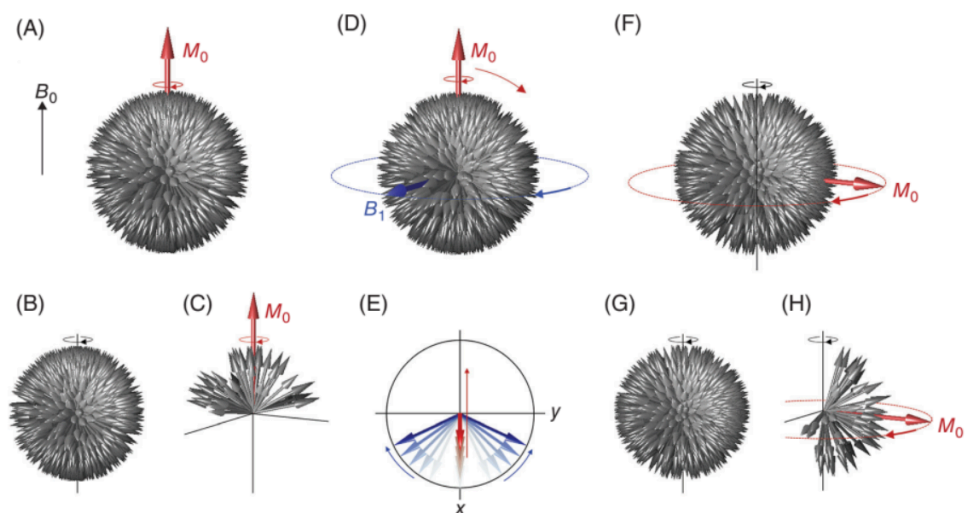
Predtým, ako je možné snímať NMR signál, magnetizácia  $\vec{M}$  musí byť vyvedená z rovnovážneho stavu tak, že bude precesovať okolo smeru  $\vec{B}_0$  uhlovou rýchlosťou  $\vec{\omega}_L$ .

### 1.3.4 Rádiofrekvenčné (RF) pulzy

Vychýlenie z rovnovážneho stavu sa dosahuje aplikáciou druhého magnetického poľa  $\vec{B}_1$ , ktoré je kolmé na  $\vec{B}_0$  a rotuje vo fáze s precesujúcimi jadrovými momentmi uhlovou rýchlosťou  $\vec{\omega}_L$ .

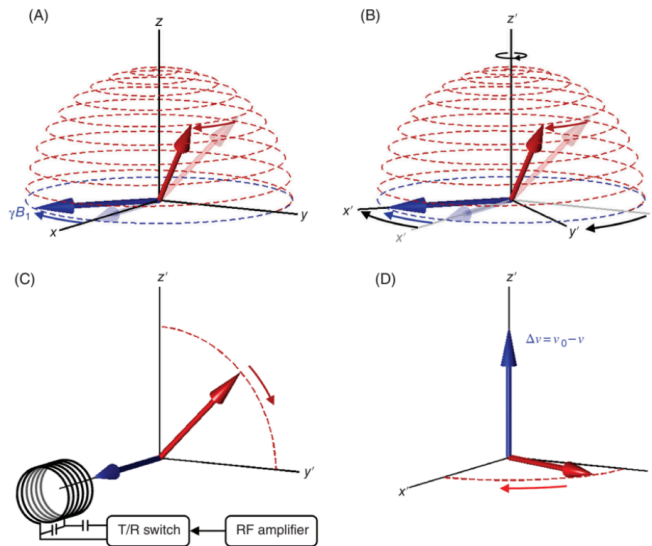
Používa sa konvencia, že  $\vec{B}_0$  je rovnobežné s osou  $z$  karteziánskej súradnej sústavy. Takže v rovnovážnom stave vektor magnetizácie leží rovnobežne s osou  $z+$ . V praxi je oveľa jednoduchšie použiť lineárne oscilujúce pole. Ak takéto pole má smer  $x$  a amplitúdu  $B_T$ , potom

$$B_x(t) = B_T \cos \omega t \quad (15)$$



Obrázok 7 Excitácia jadrových spinov (A) makroskopická magnetizácia (červená šípka) vzniká paralelne k magnetickému poľu v sústave jadrových spinov. (B) orientácia spinov je náhodná, len malá časť (C) prispieva k makroskopickej magnetizácii. (D) druhé magnetické pole  $B_1$  kolmé na  $B_0$  a oscilujúce Larmorovou frekvenciou má konštantnú fázu voči magnetickým momentom. Výsledkom je konštantný krútiaci moment, ktorý sklápa celú sféru. (E)  $B_1$  pole zobrazené v (D) je typicky dosiahnuté cosinusoidálnym premenlivým poľom (červená šípka), ktoré je sumou vektorov, ktoré rotujú v smere a proti smeru hodinových ručičiek (modré šípky). Zatiaľ čo pole v smere hodinových ručičiek vytvára sklopenie, pole proti smeru ručičiek môže byť zanedbané. (F-H) Pokiaľ dĺžka a amplitúda  $B_1$  poľa je nastavená aby dosiahlo  $90^\circ$  sklopenie, RF pulz dosiahol excitáciu jadrových spinov. Všimnite si že celá sféra spinov bola otočená o  $90^\circ$  stupňov (G) a že náhodná orientácia spinov zostala zachovaná (H). Malá časť orientovaných spinov vytvára teraz makroskopickú magnetizáciu v transverzálnej rovine. Prevzaté z [14].

$B_x$  môže byť rozložené na dve zložky rotujúce v opačnom smere okolo osi  $z$  a každá má veľkosť  $B_T/2$ . Jedna z nich je potrebné  $\vec{B}_1$  pole, ktoré je vo fáze s precesujúcou magnetizáciou a má amplitúdu  $B_T/2$ , zatiaľ čo druhá rotuje rýchlosťou  $2\omega$  relatívne k magnetizácii a môže byť obyčajne ignorovaná (Obrázok 7 E). Ak sa na systém pozeráme v laboratórnej vzťažnej sústave,  $B_1$  pole spôsobuje vychýlenie magnetizácie zo smeru  $\vec{B}_0$  a vykonáva pohyb po špirále (Obrázok 8 A).



Obrázok 8 (A) Trajektória magnetizácie v laboratórnej vzťažnej sústave  $xyz$ . Magnetizácia precesuje pod vplyvom  $B_0$  okolo osi  $z$  a oscilujúceho poľa  $B_1$  v rovine  $xy$ . Relatívne oscilácie nie sú na obrázku nakreslené v správnej škále. Zatiaľ čo vektor je sklopený o cca  $45^\circ$ , magnetizácia vykoná milióny obehov okolo smeru  $B_0$ . (B) V rotujúcej vzťažnej sústave  $x', y', z'$  ktorá rotuje Larmorovou frekvenciou, je  $B_1$  vždy v smere  $x'$  osi. (C) Pokiaľ pozorovateľ rotuje v rotujúcej vzťažnej sústave, rotácie okolo  $B_0$  prestanú byť viditeľné. (D) Spiny ktoré sú v rezonancii, zostávajú v smere  $y'$ . Spiny mimo rezonancie precesujú okolo  $z'$  frekvenciou rovnajúcou sa rozdielu centrálnej frekvencie a ich aktuálnej frekvencie. Prevzaté z [14].

Po vypnutí poľa  $\vec{B}_1$ , magnetizácia pokračuje v precesii okolo  $\vec{B}_0$  a vykresľuje kužeľ. Uhol  $\alpha$  sa volá sklápací uhol a je daný rovnicou

$$\alpha = \gamma |\vec{B}_1| t_p = \frac{\gamma |\vec{B}_T| t_p}{2} \quad (16)$$

kde  $t_p$  je doba pôsobenia  $\vec{B}_1$  pulzu.

Ak má pulz správnu dĺžku, magnetizácia sa sklopí o  $90^\circ$ , čo sa volá  $90^\circ$  alebo  $\pi/2$  pulz. Podobne, ak sa magnetizácia prevráti do  $-\vec{B}_0$  smeru, hovoríme o  $180^\circ$ ,  $\pi$  alebo inverznom pulze.

$\vec{B}_1$  pole sa často nazýva rádiovfrekvenčné (RF) pole, pretože jeho frekvencia  $f_L = \frac{|\vec{\omega}_L|}{2\pi}$  sa bežne nachádza v rozmedzí 1MHz až 500MHz, teda má podobnú frekvenciu ako rádiové vlny.  $\vec{B}_1$  pole je generované aplikovaním oscilujúceho napätia s frekvenciou  $f_L$  do obvodu obklopujúceho vzorku.

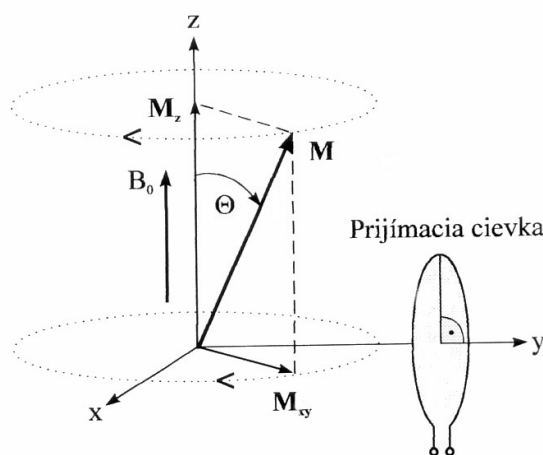
NMR experimenty zahŕňajú aplikácie sekvencií viacerých RF pulzov. Je veľmi zložitý zobrazit' výsledný komplexný pohyb magnetizácie, ak sa naň pozeráme v laboratórnej sústave, špeciálne ak sekvencia obsahuje viac ako dva RF pulzy. Pre zjednodušenie sa

pohyb magnetizácie zobrazuje v rotačnej vzťažnej sústave (Obrázok 8 B).

### 1.3.5 Detekcia signálu FID

Excitačný impulz  $B_1$  ( $|\Theta| > 0^\circ$ ) vychýli vektor magnetizácie  $\vec{M}$  z rovnovážnej polohy. Pretože len transversálna zložka vektora magnetizácie  $\vec{M}_{xy}$  je detekovateľná, prijímacia cievka je umiestnená tak, aby rovina závitov cievky bola podľa možnosti čo najviac rovnobežná so smerom magnetického poľa  $\vec{B}_0$  (Obrázok 8 C).

Z fyzikálneho hľadiska umiestnenie prijímacej cievky vyplýva z javu elektromagnetickej indukcie (Biot-Savartov a Lenzov indukčný zákon). V prijímacej cievke (Obrázok 9) sa indukuje elektrický prúd, ktorý reprezentuje signál FID (Free Induction Decay).

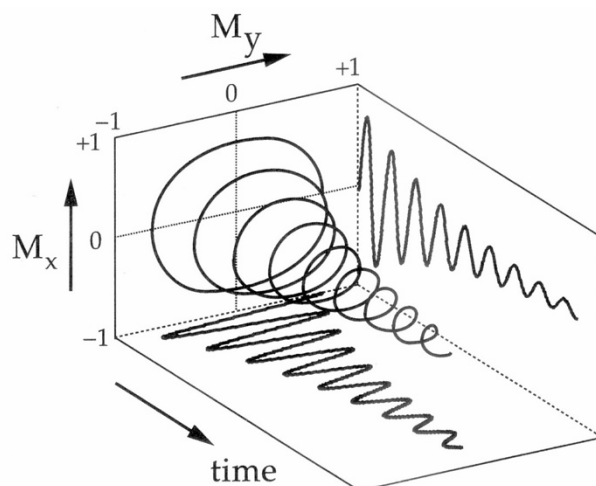


Obrázok 9 Poloha prijímacej cievky

FID má nasledujúce vlastnosti (Obrázok 10):

1. osciluje s Larmorovou frekvenciou
2. počiatková amplitúda je priamo úmerná hustote pozorovaných atómových jadier
3. amplitúda exponenciálne klesá s časovou konštantou  $T_2^*$





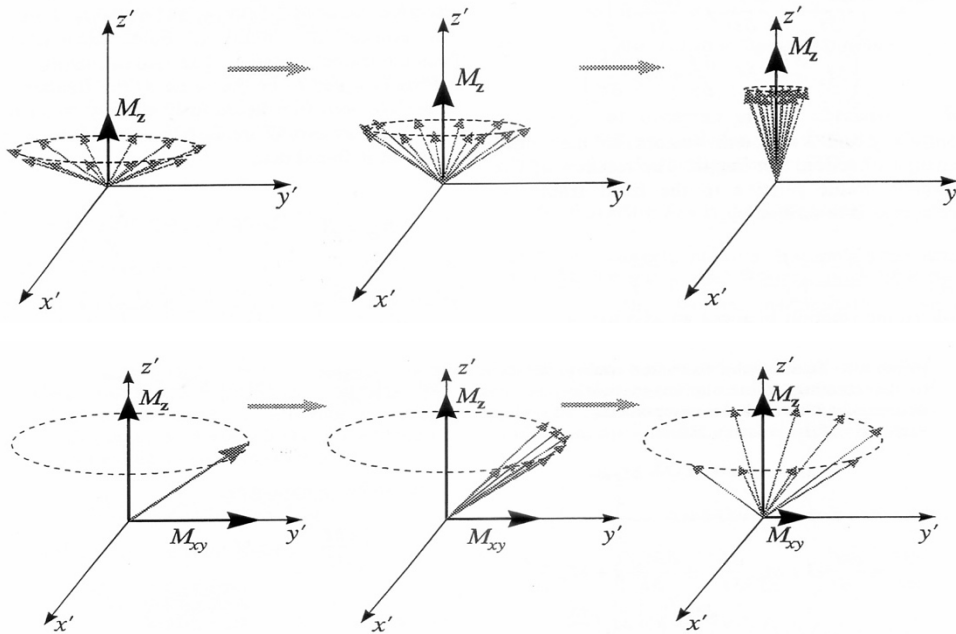
Obrázok 10 signál FID - Free Induction Decay [13]

### 1.3.6 Relaxácia

Relaxačné procesy budú popísané len stručne, podrobnejší popis sa nachádza v každej učebnici NMR (napr. [1,12,14])

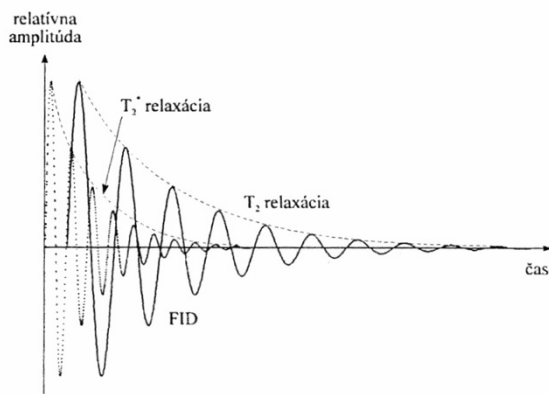
Po ukončení pulzu dochádza k opačnému procesu ako pri excitácii pulzom. Zaniká  $\vec{M}_{xy}$  zložka magnetizácie, ktorá sa rozfázováva a  $\vec{M}_z$  magnetizácia sa vracia do stavu  $\vec{M}_0$  (Obrázok 11). Prejavuje sa to na útlme FIDu. Relaxačné procesy, ktoré riadia návrat vektorov  $\vec{M}_{xy}$  a  $\vec{M}_z$ , sú navzájom nezávislé. Spôsobuje to relaxácia jadier, ktorá je dôsledkom výmeny energie medzi jadrami a okolím. Tieto interakcie sa volajú spin-spin (transverzálna) a spin-mriežková (longitudinálna) relaxácia.

Relaxácie sú charakterizované časmi  $T_2$  a  $T_1$ . Čas  $T_1$  je čas, za ktorý po  $90^\circ$  pulze nadobudne longitudinálna magnetizácia  $|\vec{M}_z|$  63 % z rovnovážnej hodnoty  $|\vec{M}_0|$ . Čas  $T_2$  je čas, za ktorý po  $90^\circ$  pulze klesne transverzálna magnetizácia  $|\vec{M}_{xy}|$  na 37 % zo svojej pôvodnej hodnoty.



Obrázok 11  $T_1$  relaxácia (hore) a  $T_2$  relaxácia dole

V dôsledku nehomogenít magnetického poľa  $\vec{B}_0$  klesá transversálna zložka vektora magnetizácie rýchlejšie ako v homogénnom magnetickom poli. Pretože amplitúda  $M$  je priamo úmerná amplitúde detekovaného signálu FID, exponenciálny pokles signálu FID je v procese  $T_2^*$  relaxácie výraznejší (Obrázok 12).

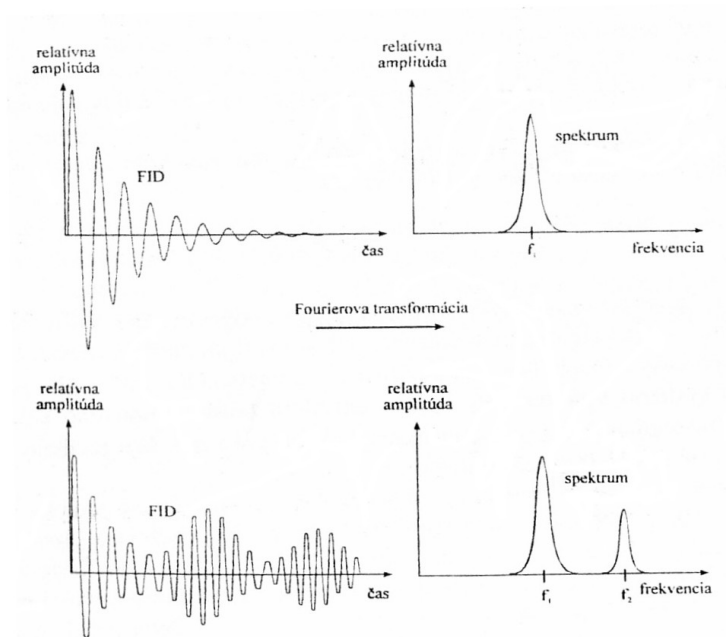


Obrázok 12  $T_2^*$  relaxácia

### 1.3.7 Fourierova transformácia, spektrum

Najefektívnejší spôsob analýzy signálu FID je založený na matematickom prístupe, ktorý vypracoval Napoleonov dôstojník delostrelectva Jean Joseph Fourier. Tento matematický aparát je známy pod názvom Fourierova transformácia. Výsledkom Fourierovej transformácie signálu FID je frekvenčné spektrum. Počet a poloha

spektrálnych čiar vyjadruje počet a frekvenciu jednotlivých zložiek signálu. Amplitúda spektrálnych čiar je úmerná počiatkovej amplitúde FID-u danej frekvencie, resp. spinovej (atómovej) hustote (Obrázok 13) [12].



Obrázok 13 Fourierova analýza - detekovaný signál pred FT – časová doména (vľavo), po FT – frekvenčná doména (vpravo)

## 1.4 In vivo spektroskopia

Cieľom NMR in vivo spektroskopie je snaha obohatiť morfológické informácie MR zobrazovania o poznatky týkajúce sa metabolizmu živých tkanív. Tomografia s magnetickou indukciou  $\geq 1,5$  T má potenciál získať biochemické informácie prostredníctvom spektroskopie aj zo živých tkanív [12].

Na zostavenie MR obrazu stačí jedna rezonančná čiara vody, ktorá je dominantná v  $^1\text{H}$  spektre. V in vivo NMR spektrách sú aj ďalšie rezonančné čiary.

Spektroskopia in vivo zaznamenala v posledných rokoch prudký rozvoj a v súčasnosti zahŕňa okrem najrozšírenejšej protónovej spektroskopie mozgových tkanív, aj  $^{31}\text{P}$  spektroskopiu a  $^{13}\text{C}$  spektroskopiu svalov, pečene a iné.

### 1.4.1 Chemický posun

Jadrové magnetické momenty interagujú s lokálnym magnetickým poľom. Lokálne pole môže byť odlišné od vonkajšieho poľa, pretože magnetické pole indukuje aj elektrónový orbitálny moment hybnosti (t.j. cirkuláciu elektrónových prúdov), čo podnecuje vznik dodatočného malého magnetického poľa  $\delta B_0$  v okolí jadra. Toto dodatočné pole je úmerné vonkajšiemu poľu a podľa konvencie sa táto úmernosť vyjadruje vzťahom

$$\delta \vec{B}_0 = -\sigma \vec{B}_0 \quad (17)$$

kde bezrozmerná veličina  $\sigma$  sa nazýva tieniacou konštantou jadra ( $\sigma$  je zvyčajne kladné, ale môže byť aj záporné). Schopnosť vonkajšieho magnetického poľa indukovať prúd elektrónov v molekule a tým aj veľkosť výsledného lokálneho magnetického poľa pôsobiaceho na jadro, závisí od detailov elektrónovej štruktúry v blízkosti uvažovaného magnetického jadra. Jadrá v rôznych chemických skupinách majú rôzne tieniace konštanty [16]. Inak povedané jadrá v rôznych zlúčeninách cítia iné celkové magnetické polia kvôli tomu, že sú obklopené inými atómami.

#### 1.4.1.1 Stupnica $\delta$ chemických posunov

Pretože celkové lokálne pole je

$$\vec{B}_{loc} = \vec{B}_0 + \delta\vec{B}_0 = \vec{B}_0(1 - \sigma) \quad (18)$$

Larmorova frekvencia je

$$f_L = \frac{\gamma B_{loc}}{2\pi} = (1 - \sigma) \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (19)$$

Táto frekvencia je rôzna pre jadrá v rôznych okoliach. Preto jadrá toho istého prvku, rezonujú pri rôznych frekvenciách. Kvôli tomuto mechanizmu je možné rozoznávať rôzne zlúčeniny obsahujúce napr. fosfor v spektrách.

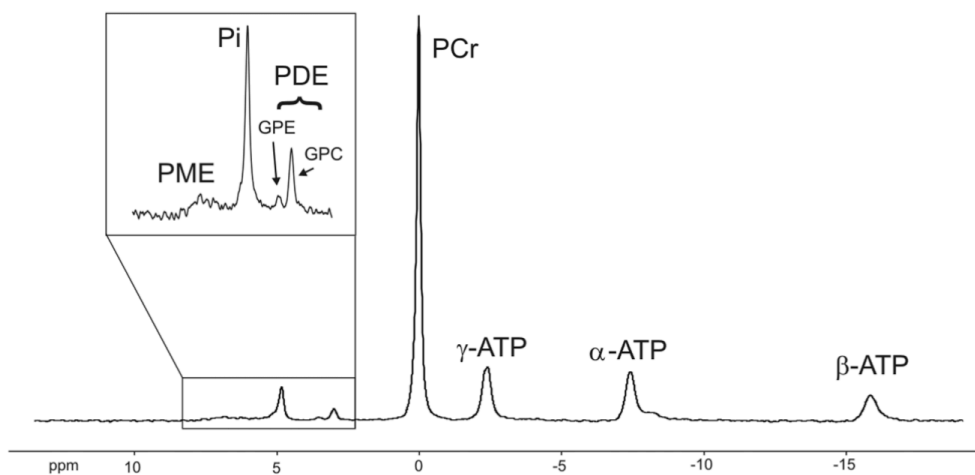
Podľa konvencie sa rezonančné frekvencie udávajú pomocou empirickej veličiny nazývanej chemický posun, ktorý súvisí s rozdielom medzi rezonančnou frekvenciou skúmaného jadra a frekvenciou referenčného štandardu  $f^0$ :

$$\delta = \frac{f - f^0}{f^0} 10^6 \quad (20)$$

Štandardom pre protóny je protónová rezonancia tetrametylsilánu ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ , bežne označovaný ako TMS), ktorý je obklopený mnohými inertnými protónmi a rozpúšťa sa v mnohých kvapalinách. Pre iné jadrá sa používajú iné štandardy. Pre  $^{31}\text{P}$  je to rezonancia  $^{31}\text{P}$  vo vodnom roztoku (aq) 85 %  $\text{H}_3\text{PO}_4$  alebo rezonancia fosfokreatínu (Obrázok 14). Výhodou  $\delta$  stupnice je to, že udávané posuny nezávisia od veľkosti použitého magnetického poľa (pretože čitateľ i menovateľ sú úmerné použitému poľu).

Vzťah medzi  $\delta$  a  $\sigma$  dostaneme dosadením rovnice (19) do rovnice (20)

$$\delta = (\sigma^0 - \sigma) 10^6 \quad (21)$$



Obrázok 14 Obrázok fosforového spektra so stupnicou v ppm a označením jednotlivých rezonančných čiar [17]

## 1.4.2 Citlivosť in vivo spektroskopie

V ľudskom tele je molekúl vody omnoho viac ako iných metabolitov. Preto je relatívne ľahké získať postačujúci NMR signál z malého objemu na zostavenie MR obrazu, ktorý dá priaznivý pomer signál/šum. <sup>1</sup>H jadro je citlivejšie ako všetky iné jadrá záujmu in vivo spektroskopie (tab. 1 relatívna citlivosť). MR spektroskopia vyžaduje zhromažďovanie signálov z metabolitov malých koncentrácií ≈ 0,1 - 10 mmol/l (nemusí to byť len <sup>1</sup>H spektroskopia). In vivo MR spektroskopia má problémy s citlivosťou aj preto, lebo meria signály metabolitov obsahujúcich jadrá, ktoré dávajú nižší signál pri rovnakom jadrovom spine ako má <sup>1</sup>H [16].

Možnosti ako zvýšiť citlivosť na základe rovnice (7) alebo pomer signál - šum sú v in vivo experimente obmedzené. Ako bolo už spomenuté vyššie, znížiť teplotu vzorky je prakticky nemožné a vyššie magnetické polia ( $B_0 \geq 7T$ ) nie sú stále bežne dostupné kvôli extrémne vysokým finančným nárokom a technickej náročnosti. Existuje však možnosť priemerovať viac meraní. Množstvo signálu je úmerné počtu meraní, ale šum len druhej odmocniny počtu meraní. Limitujúcim faktorom je však čas merania, pohyb, komfort a ochota pacienta. Preto je in vivo spektroskopia zaťažovaná šumom.

## 1.4.3 Lokalizácia signálu

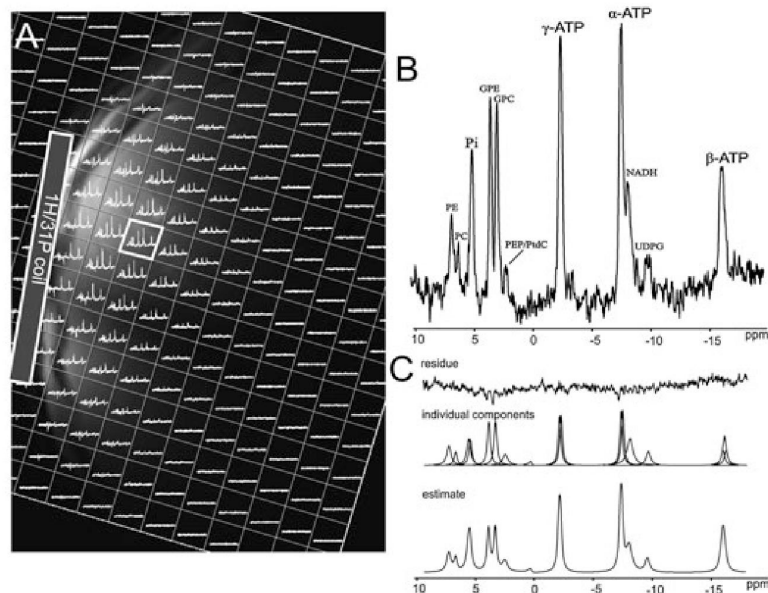
Keďže tkanivo je často heterogénne, resp. v citlivom objeme cievky sa nachádzajú rôzne orgány, požiadavkou in vivo spektroskopie je získať spektrum z definovaného

najlepšie homogénneho objemu. Meracie postupnosti (sekvencie) určené na spektroskopiu živých tkanív sa preto od klasických „len spektroskopických“ líšia v priestorovej lokalizácii signálu NMR. Je potrebné vymedziť objem tkaniva, z ktorého chceme merať spektrum, a potlačiť signál z okolitých tkanív, ktoré boli úmyselne alebo neúmyselne excitované.

Pečeň sa nachádza v blízkosti svalov hrudnej steny a bránice (Obrázok 15). Metabolické zloženie svalu je rozdielne od zloženia pečene, a preto svalové spektrá sú odlišné od pečňových spektier. Pri experimente je nutné prijímať signály z pečňového tkaniva samostatne bez kontaminácie svalovými signálmi.

Najjednoduchšia lokalizácia sa dá uskutočniť použitím povrchových cievok. Manipulácia s povrchovými cievkami je jednoduchá a sú pohodlné pre pacientov. Aktívny objem kruhovej rovinatej cievky sa dá približne aproximovať objemom pologule s priemerom rovným priemeru cievky. Citlivosť cievky však prudko klesá so vzdialenosťou od jej stredu [18].

Povrchové cievky sa využívajú pri meraniach, kde sa sníma signál z povrchových častí tela, napr. z lýtkového svalu. Ak sú predmetom záujmu hlbšie uložené orgány, napr. pečeň, je nutné vyriešiť vyššie spomínaný problém kontaminácie zo svalov. Na tento účel boli vyvinuté techniky, ktoré lokalizujú spektrá v presne definovaných oblastiach.



Obrázok 15 Schéma experimentu lokalizácie spektier v pečeni (A). Spektrá pochádzajú z definovaných objemov.(B,C) Ukážka označeného spektra a jeho kvantifikácia [19].

#### 1.4.4 Princípy in vivo lokalizácie signálu

Na lokalizáciu signálu sa využívajú postupy ako pri zobrazovaní pomocou MR, čiže gradienty  $B_0$  magnetického poľa a s nimi spojené metódy, ako sú výber vrstvy, frekvenčné a fázové kódovanie. Sčítaním základného magnetického poľa s gradientovým vznikne magnetické pole, ktorého indukcia je lineárnou funkciou priestorových súradníc. V takomto prostredí je Larmorova frekvencia spinov lineárne závislá od polohy v priestore.

##### Výber vrstvy

Obrázok 16 predstavuje princíp výberu vrstvy v transverzálnej rovine. Gradientové magnetické pole  $G_z = g_z z$  spôsobí lineárnu zmenu rezonančných frekvencií v smere osi  $z$ . Ak je spinový systém za týchto podmienok excitovaný pulzom  $B_1$  so šírkou frekvenčného pásma  $\Delta f$ , rezonančné podmienky budú spĺňať len spiny s precesnou frekvenciou z intervalu  $f_r \pm \frac{\Delta f}{2}$ , kde  $f_r$  je rezonančná frekvencia. Vysokofrekvenčnú energiu absorbujú len spiny nachádzajúce sa vo vrstve  $z_r \pm \frac{\Delta z}{2}$ .

Z Larmorovej rovnice (12) možno odvodiť súvislosť medzi hrúbkou vybranej vrstvy  $\Delta z$ , gradientom výberu vrstvy  $g_z$  a šírkou frekvenčného pásma  $\Delta f$ :

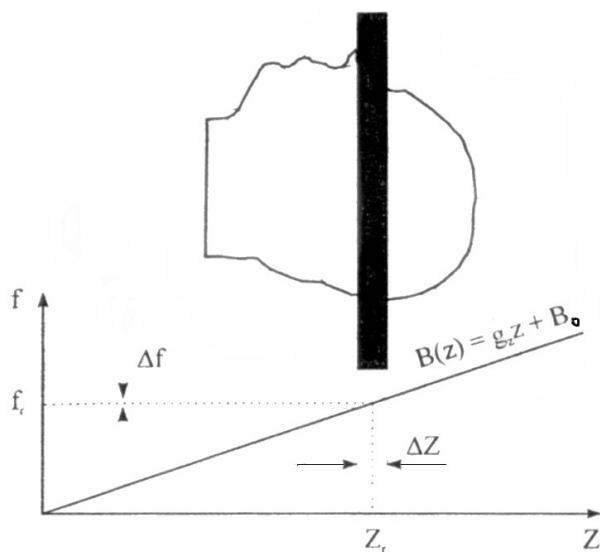
$$\Delta z = \frac{2\pi \Delta f}{\gamma g_z} \quad (22)$$

Zo vzťahu vyplýva, že hrúbku vrstvy  $\Delta z$  je možné ovládať zmenou gradientu  $g_z$  a zmenou šírky frekvenčného pásma ( $\Delta f$ ) pulzu [12].

##### Frekvenčné kódovanie

V homogénnom magnetickom poli je precesná frekvencia a fáza spinov nezávislá od polohy v priestore. V takomto prostredí meraný signál neobsahuje priestorové informácie. Ak po ukončení excitácie vrstvy sa spinový systém vyvíja pod vplyvom gradientového magnetického poľa  $G_x = g_x x$ , precesná frekvencia spinov sa stáva lineárnou funkciou súradnice  $x$ . Pre frekvenčne kódovací gradient  $g_x$  sa používa názov „čítací gradient“ [12].



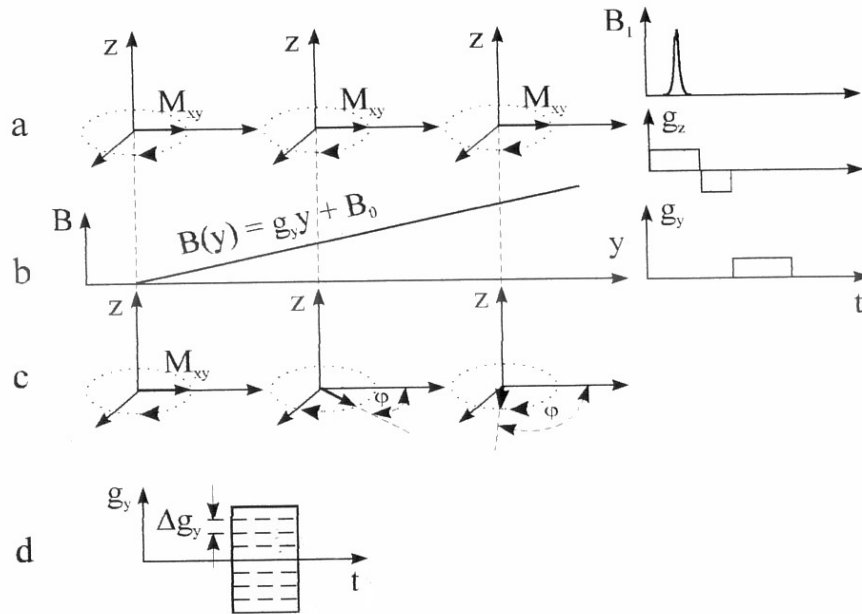


Obrázok 16 Výber vrstvy v transverzálnej rovine. Excitačný pulz  $B_1$  s nosnou frekvenciou  $f_r$  a šírkou frekvenčného pásma  $\Delta f$  excituje len spiny nachádzajúce sa vo vrstve hrúbky  $\Delta Z$  [12].

## Fázové kódovanie

Po ukončení excitácie (Obrázok 17 a) sa spinový systém rozfázováva prostredníctvom spin spinovej ( $T_2$ ) relaxácie a v dôsledku nehomogenít magnetického poľa  $B_0$ . Ak v týchto podmienkach necháme pôsobiť gradientové magnetické pole  $G_y(y) = g_y y$  (Obrázok 17 b, d), čo je dodatkové pole, ktoré spôsobí lineárnu závislosť  $B_0$  poľa od súradnice  $y$ , spiny začnú vykonávať precesný pohyb s frekvenciami, ktoré budú lineárne závisieť od súradnice  $y$ . Po vypnutí gradientového magnetického poľa  $G_y$  sa precesná frekvencia vráti na pôvodnú hodnotu. Fázové rozdiely  $\phi$  (Obrázok 17c) spôsobené okamžitou polohou spinov v čase vypnutia gradientu sa však zachovávajú. Fáza spinov bude okrem prirodzených relaxačných procesov závisieť aj od súradnice  $y$ . Ak excitáciu spinového systému zopakujeme  $N$ -krát s odlišnými amplitúdami gradientu  $g_y$ , priestorové rozlíšenie v smere osi  $y$  bude reprezentovať  $N$  súradníc. Z hľadiska Fourierovej transformácie je najvýhodnejšie, aby postupnosť zmien amplitúd fázového gradientu  $g_y$  (Obrázok 17 d) bola lineárna:  $g_y = \Delta g_y n$

kde  $n = -\frac{N}{2} + 1, -\frac{N}{2} + 2, \dots, -1, 0, 1, \dots, \frac{N}{2}$  a  $\Delta g_y$  je krok zmeny amplitúdy gradientu [12].



Obrázok 17 Fázové kódovanie súradnice y [12]

### 1.4.5 Lokalizačné techniky

Zatiaľ čo relatívne dlhé  $T_2$  v prípade  $^1\text{H}$  umožňujú akvizície „založené na echu“, relatívne krátke relaxačné časy  $T_2$  metabolitov  $^{31}\text{P}$  „založené na jednoduchom pulze a akvizícii“ alebo MRS techniky založené na FID „bez echa“ [17]. Ďalším dôležitým parametrom, ktorý je potrebné zvážiť, je relatívne veľká spektrálna šírka spektier  $^{31}\text{P}$  (rádovo desiatky ppm). Chyba chemického posunu (CSDE) by teda mohla viesť k významnému skresleniu presnosti lokalizácie. Použitie metód necitlivých na CSDE, t. j. implementácia selektívnych, refokusačných a inverzných pulzov s relatívne veľkými šírkami pásma (bandwidth), je preto nevyhnutné [20] pre získavanie signálu  $^{31}\text{P}$ .

V princípe sa lokalizačné techniky delia do dvoch skupín: na jedno (single) objemové (napr. voxel) a viac (multi) voxelové. Pri jednoobjemovej spektroskopii sa pri jednom experimente nasníma jedno spektrum pre daný objem (napr. voxel). Pri multi voxel spektroskopii sa jedným experimentom sníma séria spektier z viacerých voxelov. Medzi jednoobjemové spektroskopické metódy patria sekvencie OVS (Outer volume suppression), jednovrstvové sekvencie (1D-ISIS a DRESS), jednovoxelové sekvencie ISIS (Image Selected In vivo Spectroscopy), PRESS (Point-RESolved Spectroscopy) a STEAM (STimulated Echo Acquisition Mode). PRESS a STEAM majú najväčšie uplatnenie v protónovej spektroskopii [12,14].

Pri jadrách ako je  $^{31}\text{P}$ , ktoré majú chemické posuny rádovo desiatky ppm, sa tieto

techniky nepoužívajú kvôli artefaktom chemického posunu. K týmto artefaktom dochádza pri súčasnom zapnutí gradientu a pulzu, ktoré sa využívajú pri sekvenciách PRESS a STEAM. Napr. ak chemický posun dvoch spektrálnych čiar je 5 ppm, artefakt chemického posunu spočíva v tom, že tieto dva signály sú snímané z dvoch voxelov, ktoré sú vzájomne posunuté v smere čítacieho gradientu  $g_r$  o hodnotu

$$\Delta x \approx \frac{5 \cdot 10^{-6} B_0}{g_r} \quad (23)$$

Tieto artefakty sa vyskytujú všade tam, kde je v meracej sekvencii prítomný gradient pre výber vrstvy. Výnimku tvorí metóda 3D spektroskopického zobrazovania (CSI), ktorá takýto gradient neobsahuje.

Medzi multi voxel spektroskopické metódy patrí spektroskopické zobrazovanie. V spektroskopii fosforu  $^{31}\text{P}$  sa používajú hlavne sekvencie ISIS, CSI.

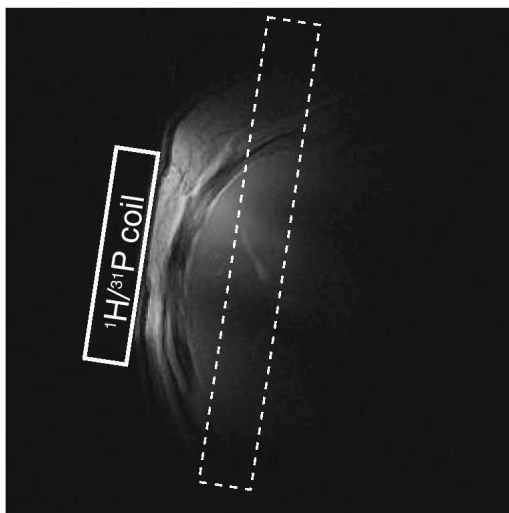
#### 1.4.5.1 *Outer Volume Suppression*

Potlačenie signálu mimo požadovaného objemu, napr. potlačenie signálu brušného svalu počas MRS pečene, môže byť použité ako samostatná „negatívna“ lokalizačná technika, ale môže tiež sprevádzať a rozširovať akúkoľvek inú lokalizačnú sekvenciu.

Širokopásmové potlačenie vonkajšieho objemu (OVS), pozostávajúce z priestorovo selektívnych RF-impulzov, ktoré sú pridané do hlavnej lokalizačnej sekvencie [21] môžu selektívne saturovať, tj potlačiť,  $^{31}\text{P}$ -MR pochádzajúci napr. zo svalov brušnej steny. Táto technika je pomerne náročná na SAR, a preto je ťažko použiteľná na ultra vysokých poliach, tj. 7T.

#### 1.4.5.2 *Slab-selective Localization*

Keď aplikovaná sekvencia impulzov poskytuje lokalizáciu iba v jednej priestorovej dimenzii (1D) a citlivý objem cievky sa používa na lokalizáciu v ďalších dvoch dimenziách, použije sa takzvaná „slab“ selektívna lokalizácia (napr. 1D-ISIS, DRESS). Tento typ priestorovej selekcie je vysoko účinný pre pečeň, pretože „slab“ môže byť umiestnený rovnobežne s RF cievkou, to znamená, že sa zabráni kontaminácii svalovým tkanivom. Podobne lokalizácia 1D-ISIS (Obrázok 18) poskytuje vhodnú selekciu objemu pre pečňové merania  $^{31}\text{P}$ -MRS ST [22–24]



Obrázok 18 1D-ISIS lokalizácia  $^{31}\text{P}$ -MRS, Umiestnenie povrchovej cievky (plná čiara) a lokalizačnej vrstvy (čiarkovaná čiara)

#### 1.4.5.3 „Single-voxel“ lokalizácia

Pre presný priestorový výber kvádrového 3D objemu, t.j. voxelu (Single-voxel Spectroscopy - SVS) je dostupných množstvo sekvencií. Lokalizačné sekvencie SVS založené na tvorbe ech umožňujú úplnú lokalizáciu signálu iba v jednej akvizícii a sú výhodné pre  $^1\text{H}$ -MRS. Obvykle sa používajú dve metódy akvizície: Point Resolved Spectroscopy (PRESS) a Stimulated Echo Acquisition Mode (STEAM). Podrobnosti sú popísané napr. v [14], ale mali by sme poznamenať, že oba sú založené na kombinácii troch frekvenčne selektívnych pulzov a súbežnej aplikácii gradientov. Zatiaľ čo PRESS ( $90^\circ$ - $180^\circ$ - $180^\circ$ ) poskytuje nominálne plný signál v čase echa,  $90^\circ$  RF impulzy v STEAM ( $90^\circ$ - $90^\circ$ - $90^\circ$ ) sekvencii umožňujú podstatne kratšie TE a nižší aplikovaný výkon. Ďalej v J-coupling modulácia je menej výrazná v sekvencii STEAM.

Jedinou SVS technikou založenou na FID, preferovanou pre  $^{31}\text{P}$ -MRS, je takzvaná obrazovo selektovaná in vivo spektroskopia (ISIS) (Obrázok 18). Pre presný výber 3D voxelu kombinuje osem akvizícií FID s rôznymi konfiguráciami priestorovo selektívnych inverzných impulzov, predchádzajúcich excitácií [25]. Aby sa zabránilo kontaminácii v dôsledku rozmazania  $T_1$  za čiastočne nasýtených podmienok, je potrebná rozšírená schéma ISIS [26], ktorá kombinuje až 38 akvizícií na výber objemu [27]. To poskytuje vysokokvalitné spektrá s presnou priestorovou selektivitou 3D objemu v klinicky prijateľných časoch merania [28,29].

#### 1.4.5.4 Spektroskopické zobrazovanie

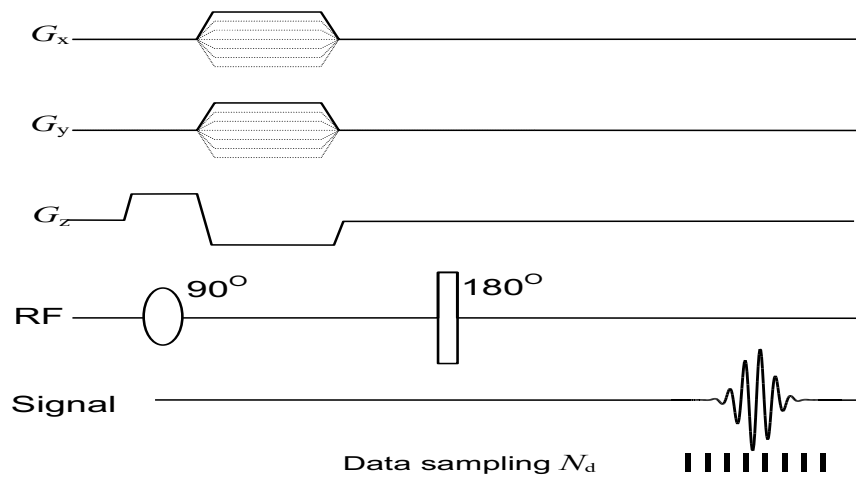
V anglickej literatúre má táto technika dva ekvivalentné názvy: Chemical Shift Imaging (CSI) a Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging (MRSI). V nedávnej literatúre sa dáva prednosť skratke MRSI a bude používaná aj v tejto práci.

#### **Všeobecná charakteristika:**

MRSI je multivoxelová technika, ktorá kombinuje MRS a MRI. MRSI dodáva spektrálny rozmer MR obrazu. Výsledkom napríklad 2D MRSI je trojrozmerná sada dát, z ktorých dva rozmery tvoria konvenčný NMR obraz a tretí rozmer nesie informáciu o chemickom posune. Práve tieto dáta môžu byť použité na zobrazenie spektra jednotlivých voxelov, alebo na vytvorenie série obrazov jedného rezu, pričom každý obraz zobrazuje komponent s rozdielnym chemickým posunom.

Obrázok 19 zobrazuje 2D MRSI sekvenciu. NMR signál sa sníma po pulze na výber vrstvy pri vypnutých lokalizačných gradientoch. Priestorová informácia je zakódovaná pomocou fázového kódovania v x a y rozmeroch. NMR signály sú vzorkované  $N_d$  krát. Získané dáta majú tri rozmery. Problémom tejto metódy je veľmi dlhý čas potrebný na snímanie dát. Počet NMR excitácií je daný súčinom  $N_x \times N_y$ . Napríklad  $N_x = N_y = 64$ , s  $TR = 200$  ms, čas na snímanie je  $64 \times 64 \times 0.2 = 820$  sekúnd alebo 14 minút.

Je možné použiť fázové kódovanie aj pre všetky tri smery. Získané štvorrozmerné dáta po 4D fourierovej transformácii dajú štvorrozmerný dátový set s tromi priestorovými a jedným spektrálnym rozmerom. Počet NMR excitácií je daný súčinom  $N_x \times N_y \times N_z$  kde  $N_{x,y,z}$  sú veľkosti matice v x, y a z smere. Ak  $N_x = N_z = 64$  a  $N_y = 8$  pri  $TR = 200$ ms čas na snímanie je daný  $64 \times 64 \times 8 \times 0,2 = 6554$  s alebo 1,8hod. V súčasnosti poznáme viaceré možnosti ako túto techniku zrýchliť a snímať napríklad celý mozog za akceptovateľný čas [30,31].

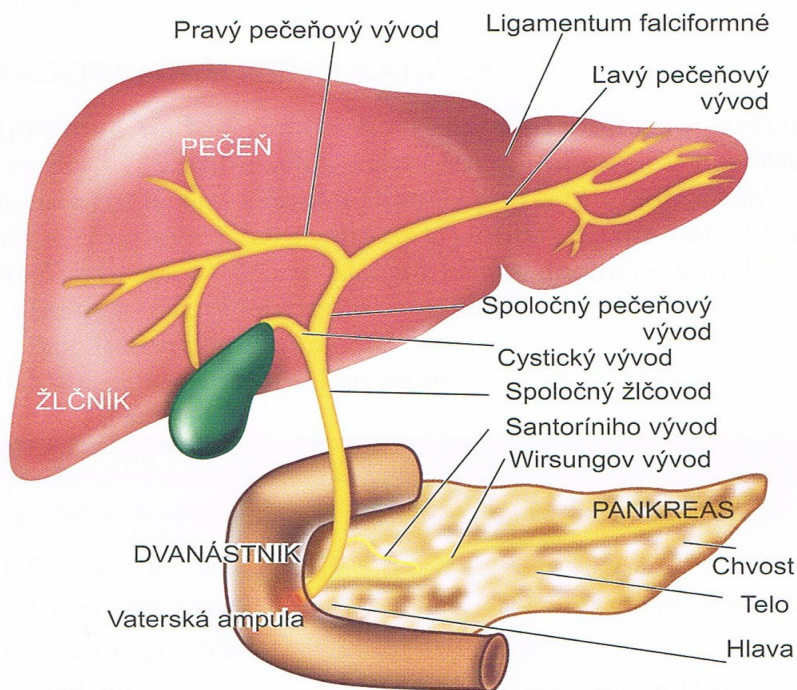


Obrázok 19 2D CSI pulzná sekvencia [19]

MRSI metóda zaznamenala výrazné oživenie vďaka kombinácii veľmi vysokých magnetických polí (3T a viac) a vďaka vývoju RF hardvéru. Rôzne vedecké skupiny dokázali vytvoriť „metabolitové mapy“ mozgu a tela použitím protónovej ( $^1\text{H}$ ) alebo fosforovej ( $^{31}\text{P}$ ) MRSI. MRSI sa používa tiež na získanie lokalizovaných spektier z pečene, (Obrázok 15).

## 2 Hepatobiliárny systém

Hepatobiliárny systém je systém pozostávajúci z pečene, intrahepatálnych a extrahepatálnych žľčových ciest vrátane žlčníka.



Obrázok 20 Hepatobiliárny systém. Prevzaté z [32].

### 2.1 Pečeň

Pečeň (lat. hepar) je najväčšou žľazou v ľudskom tele a patrí k dôležitým žľazám tráviaceho systému. Hmotnosť pečene sa pohybuje od 1,4 do 1,8 kg u mužov a od 1,2 do 1,4 kg u žien. Je uložená v pravom hypochondriu pod pravou bránicovou klenbou v pravom hornom kvadrante brušnej dutiny, zasahuje do epigastria a ľavým lalokom zasahuje až do ľavého hypochondria. Horná plocha pečene je konvexná a otočená k bráni, dolná plocha je konkávna a nalieha na orgány brušnej dutiny (Obrázok 20). Ľavý lalok sa dotýka žalúdka a pažeráka. Pravý lalok je v kontakte s pravou nadobličkou, obličkou, dvanástnikom a pravým ohybom hrubého čreva. Zozadu pečeň prirastá k dolnej dutej žile [33].

Pečeň má dôležité metabolické, detoxikačné a exokrečné funkcie. Z metabolických funkcií sú najvýznamnejšie: produkcia bielkovín, metabolizmus bielkovín, sacharidov, niektorých vitamínov a podieľa sa na premene purínov. Pečeň má podiel na krvotvorbe,

termoregulácii, ale aj na usmerňovaní vodného hospodárstva v organizme. V rámci detoxikačnej funkcie sa podieľa na detoxikácii metabolických produktov a detoxikácii exogénnych škodlivín. Detoxikácia nastáva vďaka enzymatickému systému pečeňových buniek (hepatocytov). Oxidácia, konjugácia, redukcia a hydrolýza sú základné typy detoxikačných reakcií pečene. Pečeň patrí medzi tubulárne žľazy, jej exosekrétom je žlč, vylučovaná hepatocytmi do žlčových kapilár. Exosekrečnou činnosťou pečene je z organizmu odstraňovaný cholesterol, bilirubín a žlčové kyseliny [33].

Pečeň je bohato cievne zásobená, má krehkú konzistenciu a tmavočervenú farbu. Puzdro pečene je z kolagénového väziva a obaluje jej vonkajšiu plochu. Pozdĺž nervov, krvných ciev a vývodov vniká kolagénové väzivo do hĺbky pečeňového parenchýmu. Takto rozdeľuje parenchým pečene na lalôčky, vytvára oporný skelet a ochranu pre nervy a cievy. Základnou morfológickou jednotkou pečene je lalôčik stredovej žily. Najčastejšie má tvar šesťuholníka s rozmermi strán 1 mm a výškou 2 mm. Je tvorený hepatocytmi. Stredom lalôčika prechádza centrálna žila (vena centralis). Základnou funkčnou jednotkou pečene je portálny lalôčik. Túto časť parenchýmu zásobuje jedna medzilalôčiková žila. Najmenšou jednotkou pečene je pečeňový acinus [34].

Cievne zásobenie pečene pozostáva z dvoch krvných obehov, a to z funkčného, ktorý reprezentuje vrátnicová žila (lat. vena portae), časť nutritívneho krvného obehu zabezpečuje arteria hepatica propria, ktorá privádza krv bohatú na kyslík. Funkčný krvný obeh privádza do pečene krv prostredníctvom vena portae zo žalúdka, čriev, pankreasu a sleziny. Táto krv je obohatená o živiny absorbované v tráviacom trakte a tie sa následne v pečeni metabolizujú a uskladňujú [34].

## 2.2 Žlčové cesty

Žlčové cesty (ductus biliferi) rozdeľujeme podľa umiestnenia na intrahepatálne (vnútropečeňové) a extrahepatálne (mimopečeňové) (Obrázok 21). Pečeň vylúči denne 700 až 1200 ml žlče, ktorá patrí medzi hlavný exosekrečný produkt pečene [35].

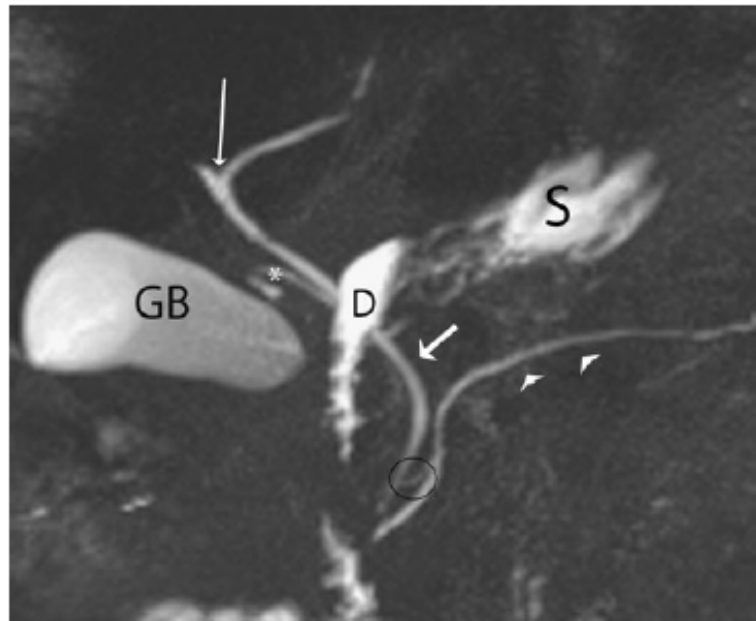
V pečeňových lalôčkoch začínajú intrahepatálne žlčové cesty. Z počiatku sú to len štrbinové kanáliky, ich stena je tvorená z povrchu hepatocytov. Žlč sa dostáva z intracelulárnych žlčových kanálikov na perifériu lalôčika, kde ústi do tzv. Heringových kanálikov, tie už majú vlastnú stenu. Ďalej žlč pokračuje do medzilalôčikových kanálikov, ktoré sa spájajú, vytvárajú väčšie žlčovody a plynulo pokračujú do mimopečeňových



žlčových ciest [33]. Extrahepatálne žlčové cesty vychádzajú z pravého a ľavého laloka pečene, spojením týchto vývodov vznikne spoločný vývod (ductus hepaticus communis), dlhý asi 2 - 4 cm. Tento vývod sa následne spája s vývodom žlčníka a vytvára žlčovod ductus choledochus. Žlčovod je 5 až 7 cm dlhý a jeho lumen meria okolo 6 mm. Žlčovod sa na jeho konci spája s vývodom podžalúdkovej žľazy (ductus pancreaticus). Tieto vývody spoločne ústia do duodéna [33].

## 2.3 Žlčník

Žlčník (vesica fellea) leží na viscerálnej pečenej ploche. Úlohou žlčníka je zásobovať žlč, ktorá do neho priteká, ale aj odtekať z pečene cez ductus cysticus. Prítok a odtok žlče nastáva po kontrakcii žlčníka, ktorá je vyvolaná prostredníctvom humorálneho impulzu. Žlčník má tvar pretiahnutého mechúrika a jeho obsah sa pohybuje okolo 30 až 50 ml. Na žlčníku rozlišujeme dno, telo a kŕčok, ktorý smeruje dozadu a plynule pokračuje ako ductus cysticus [35].



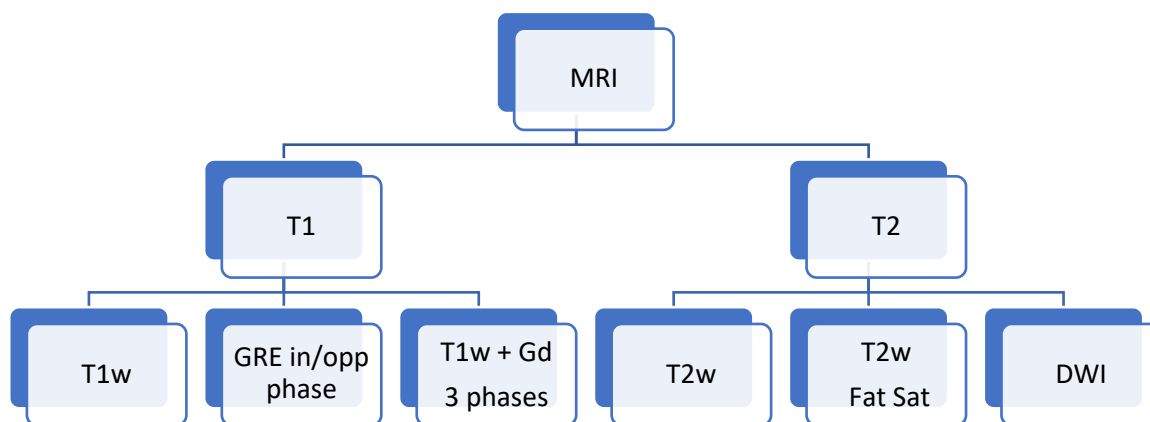
Obrázok 21 Normálna anatómia biliárneho systému na MRCP. Sútok pravého a ľavého intrahepatálneho duktu vytvárajúci ductus hepaticus communis (dlhá tenká šípka). Ductus cysticus (\*) typicky sa pripája z pravej strany na ductus hepaticus communis a vytvárajú ductus choledochus (stredná šípka). Ductus pancreaticus (krátke šípky) vyúsťuje spoločne s ductus choledochus do duodéna cez Vaterskú papilu. Štruktúry obsahujúce tekutiny ako žlčník (GB), duodenum (D) a žalúdok (S) sú dobre viditeľné na silne T<sub>2</sub> vážených sekvenciách, ktoré sú základom MRCP vyšetrenia.

## 2.4 Zobrazovanie hepatobiliárneho systému pomocou MRI

Zobrazovanie pomocou magnetickej rezonancie (MRI) je vhodné pre zobrazovanie hepatobiliárneho systému hlavne kvôli jeho lepšiemu kontrastnému rozlíšeniu v porovnaní s počítačovou tomografiou a schopnosti poskytnúť morfológické aj fyziologické informácie. MRI nevyužíva ionizujúce žiarenie. Na rozdiel od ultrazvuku MRI nezávisí od operátora a má väčšie priestorové aj kontrastné rozlíšenie. Starostlivým výberom MR parametrov môžu rádiológovia neinvazívne diagnostikovať difúzne aj fokálne ochorenie pečene, žlčníka a žlčových ciest.

### 2.4.1 MRI pečene

Štandardné MR vyšetrenie pečene sa skladá zo šiestich hlavných sérií (Obrázok 22): T<sub>1</sub>w (predkontrastné), T<sub>1</sub> GRE vo fáze a proti fáze, T<sub>2</sub>w, T<sub>2</sub>w Fat Sat, difúzne vážené snímky (DWI), a postkontrastné obrázky T<sub>1</sub> v troch fázach arteriálnej, venóznej a oneskorenej (ekvilibrálnej).



Obrázok 22 Základné MR sekvencie v zobrazovaní pečene. Skratky: MR, magnetická rezonancia; MRI, MR zobrazovanie; GRE, gradientové echo; T<sub>1</sub>w, T<sub>1</sub>-vážený obraz; T<sub>2</sub>w, T<sub>2</sub>-vážený obraz;; DWI, difúzne vážené zobrazovanie, Fat Sat, potlačenie tukov.

### 2.4.2 MR Cholangiopankreatografia (MRCP)

MRCP je špeciálny typ silne T<sub>2</sub>-vážené zobrazovanie s veľmi dlhým TE a dlhým TR. Parametre MR sú upravené tak, aby poskytli obraz, ktorý má vysoký kontrast medzi signálom tekutiny a pozadím. Žlč a pankreatická tekutina v žlčovodoch, žlčníku a pankreatickom vývode sú teda svetlé v porovnaní s okolitými tkanivami. Tekutina v

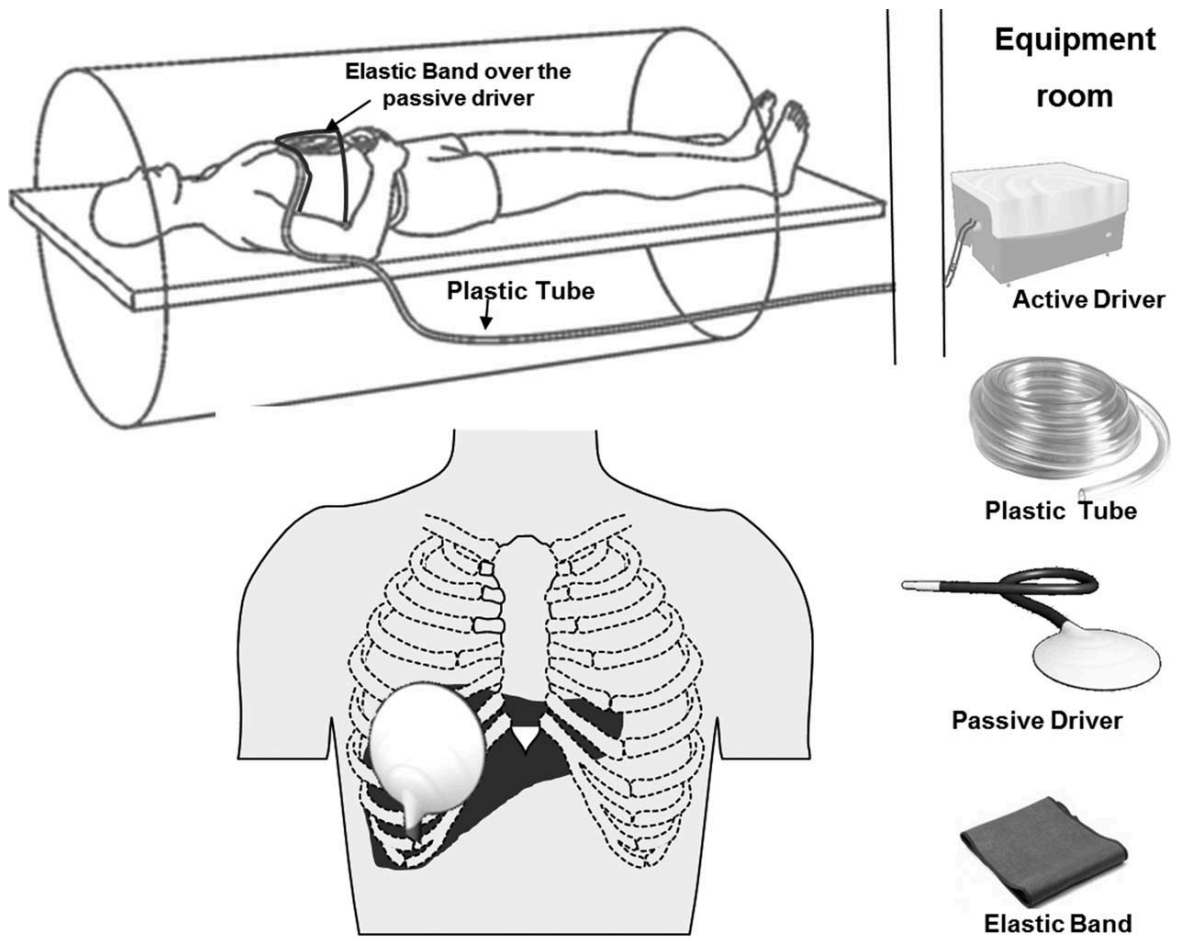
dvanástniku a žalúdku je tiež svetlá, čo môže zakryť vizualizáciu žlčových ciest. MRCP sa často vykonáva u pacientov s podozrením na pankreatobiliárne ochorenie, najmä u pacientov s komorbiditami vylučujúcimi endoskopickú retrográdnú cholangio-pankreatografiu (ERCP). MRCP dokáže detekovať zmeny v priestore žlčových vývodov alebo výpadok signálu v pankreatobiliárnom strome, ako je kameň alebo lézia.

### **2.4.3 MR Elastografia (MRE)**

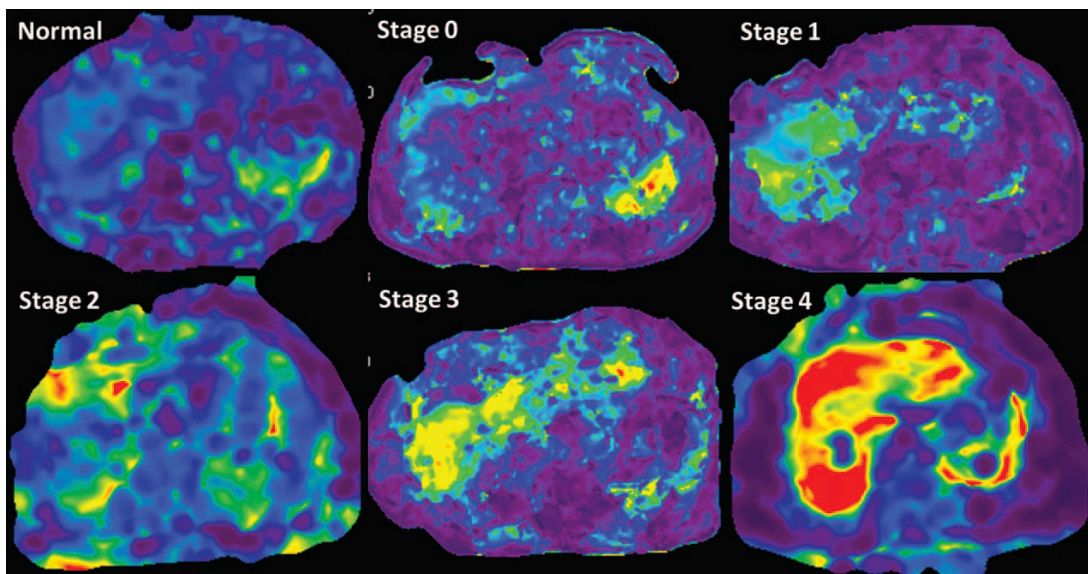
Základným princípom MRE je vytvoriť propagáciu mechanických vln do pečene a ich zobrazovanie pomocou modifikovanej sekvencie MRI s fázovým kontrastom. Týmto je možné získať informáciu ich šírení sa pečenoú a inverzným algoritmom premeniť túto informáciu na mapu tuhosti pečene (elastogram pečene). Mechanické vlny sa šíria rýchlejšie v tuhšom tkanive (napr. cirhotická pečeň) ako v mäkšom tkanive (napr. normálna pečeň). Ak sú šmykové vlny kontinuálne vytvárané (dynamické), odráža sa rýchlosť šírenia vo vlnovej dĺžke. Preto, keď sa tuhosť tkaniva zvyšuje, vlnová dĺžka šíriacich sa šmykových vln sa viac predĺži.

Najčastejšie používaná zostava pre klinickú pečennú MRE pozostáva z aktívneho generátora vln (budiča), pasívneho budiča aplikovaného na dolnú pravú hrudnú stenu bližšie k pečeni spojené sú dlhou plastovou trubicou, ktorá spája aktívny budič s pasívnym (Obrázok 23). Aktívny budič je akustický systém umiestnený mimo skenovacej miestnosti, ktorá generuje šmykové vlny v tkanive, typicky s frekvenciou 60 Hz na klinické použitie. Pasívny budič je diskovitý nekovový pasív bubnový budič s priemerom 19 cm s membránovým povrchom, ktorý vibruje a je umiestnený do kontaktu s pacientom. Pasívny budič je aktivovaný meniacim sa akustickým tlakom vedeným cez plastovú trubicu z polyvinylchloridu z aktívneho budiča.

Najpoužívanejšia klinická MRE sekvencia je 2D sekvencia gradientového echa s pridanými gradientmi kódujúcimi pohyb. MRE dokáže priestorovo mapovať a kvantifikovať vzory posunu zodpovedajúce harmonickým mechanickým vlnám s amplitúdami mikrónov v tkanive (Obrázok 24) [36].



Obrázok 23 Zostava MRE pečene. Aktívny budič je umiestnený mimo skenera a mechanické vlny sú vedené do pasívneho budiča cez dlhú plastovú trubicu. Pasívny budič je umiestnený na úrovni xiphisternum a v pravej strednej klavikulárnej línii, ako je znázornené. Prevzaté z [36].



Obrázok 24 Mapy tuhosti MRE ukazujúce zvyšujúcu sa tuhosť pečene so zvyšujúcimi sa štádiami fibrózy. Viditeľná zmena farby z modrofialovej u zdravého dobrovoľníka na oranžovú červenú v štádiu 4 fibrózy. Prevzaté z [36].

## 2.5 Ochorenia pečene z pohľadu MR zobrazovania

Ochorenia pečene delíme na fokálne a difúzne. Príčiny pečeňových chorôb zahŕňajú infekcie, poranenia, liekové a toxické poškodenia, autoimunitné procesy alebo genetické defekty [37,38]. V nasledujúcich kapitolách sú popísané len najbežnejšie pečeňové ochorenia a ich MRI charakteristiky.

### 2.5.1 Fokálne pečeňové lézie v MR obraze

Fokálne pečeňové lézie sa delia na benígne a malígne. Najbežnejšie benígne lézie sú cysty, hemangiómy a fokálna nodulárna hyperplázia (FNH). Menej časté sú hepatocelulárny adenóm a absces. Medzi malígne lézie patrí hlavne hepatocelulárny karcinóm (HCC). Ďalej napr. fibrolamelárny HCC. Medzi fokálne pečeňové lézie patria aj metastázy [39].

#### 2.5.1.1 Cysty

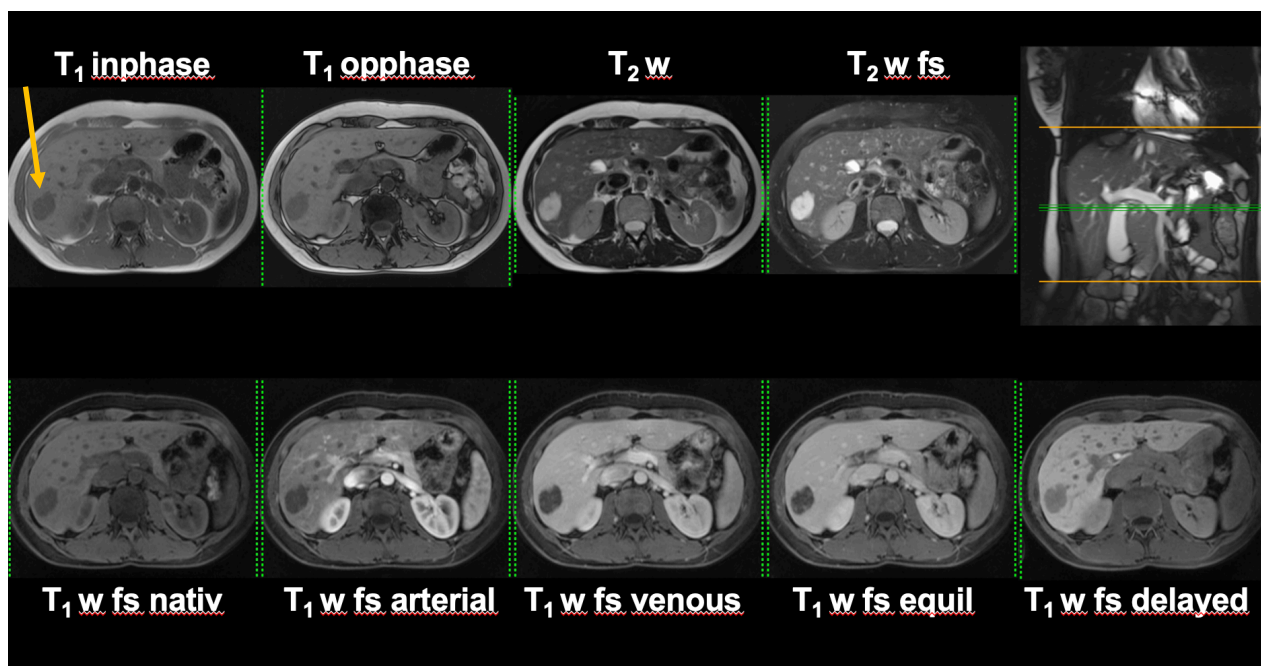
Jednoduché pečeňové cysty sú bežné, vyskytujú sa v 5–14 % prípadov populácie. Keďže sú väčšinou asymptomatické, sú detekované náhodne pri ultrasonografii (USG), CT alebo MR zobrazovaní.

Na MRI snímkach sú cysty dobre definované homogénne lézie, na T<sub>1</sub>w sú hypointenzívne a výrazne hyperintenzívne na T<sub>2</sub>w [39].

#### 2.5.1.2 Hemangióm

Hemangiómy sú najčastejší druh benígnych pečeňových lézií. Vyskytujú sa viac u žien. Zriedka sa klinicky prejavujú a zvyčajne sa objavia ako náhodný nález. Môžu sa vyskytovať ako kavernózne, alebo menej časté kapilárne hemangiómy. Patologicky sa hemangiómy skladajú z poprepájaných, endotelom vystlaných kanálikov, ktoré sú obklopené voľnou fibróznou strómou. Vyživuje ich artéria hepatica a majú pomalý vnútorný prietok. Niektoré z týchto kanálikov trombotizujú a môžu aj fibrotizovať. Nezvyknú meniť svoju veľkosť a podľa veľkosti ich rozdelujeme na malé (< 1,5 cm), stredne veľké (1,5 do 5 cm) a veľké (> 5 cm) [40]. Sú hypointenzívne na T<sub>1</sub>w a výrazne hyperintenzívne na T<sub>2</sub>w zobrazovaní, niekedy s lobulárnym obrysom. Hyperintenzita na T<sub>2</sub>w MRI pomáha odlišiť hemangiómy od iných solídnych novotvarov (Obrázok 25). Hemangiómy vykazujú tri odlišné charakteristiky sýtenia pri MRI (typ I až III). Typ I

predstavuje okamžité homogénne sýtenie, typ II periférne nodulárne dostredivé (z okrajov lézie) sýtenie v čase postupujúce do homogenity a typ III periférne nodulárne dostredivé sýtenie s trvalo hypointenzívnou centrálnou oblasťou [41].

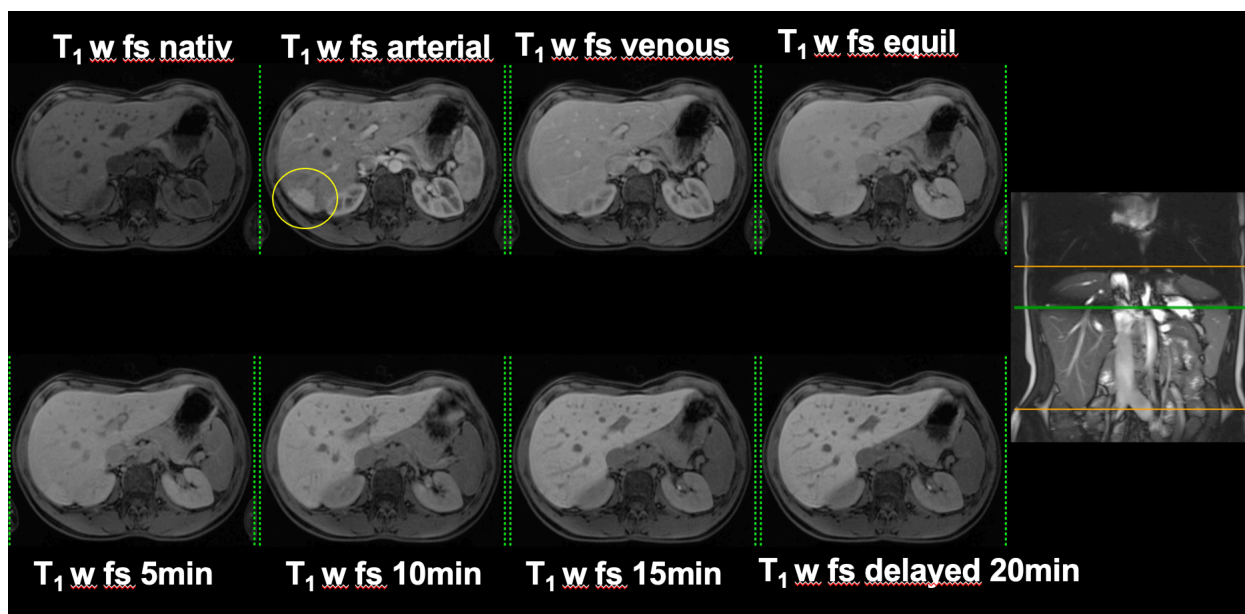


Obrázok 25 MRI pečene 1.5T - šípka ukazuje hemangióm (archív Nemocnica Levoča - vlastné spracovanie)

### 2.5.1.3 Fokálna nodulárna hyperplázia.

Fokálna nodulárna hyperplázia (FNH) patrí medzi najčastejšie benígne tumory pečene (Obrázok 26). Postihuje hlavne ženy, 80 – 90 %, a jej vznik je podmienený užívaním hormonálnej antikoncepcie. FNH sa vyskytuje buď ako subkapsulárna lokalizovaná nodulárna lézia alebo sa môže vyskytovať vo forme syndrómu mnohopočetnej FNH [40]. Poznáme dva typy FNH:

- solídny typ – najčastejší, jeho charakteristickým znakom je, že obsahuje centrálnu fibróznu jazvu obsahujúcu artériu
- teleangiektatický typ – skladá sa z mnohopočetných centrálnych krvných priestorov s početnými menšími artériami. Vyskytuje sa ako súčasť syndrómu mnohopočetnej FNH.



Obrázok 26 MRI pečene - fokálna nodulárna hyperplázia - žltý krúžok (archív Nemocnica Levoča - vlastné spracovanie)

#### 2.5.1.4 Hepatocelulárny adenóm

Hepatocelulárny adenóm (HCA) je neobvyklý, ale má spojenie s používaním perorálnej antikoncepcie alebo anabolických steroidov. Histologicky je HCA zložený z buniek podobných normálnym hepatocytom, ale bez žlčových, čo ich odlišuje od FNH [42].

#### 2.5.1.5 Absces

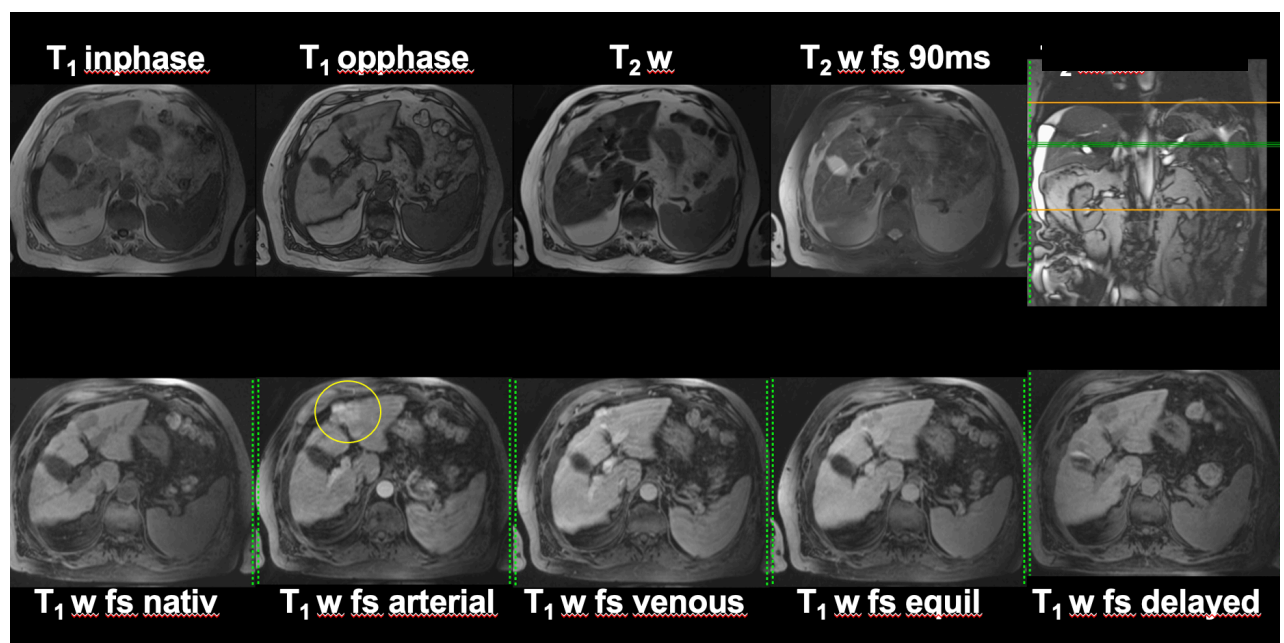
Vzhľad pečňových abscesov na snímkach závisí od ich etiológie (peribiliárne abscesy bývajú malé a rozptýlené v blízkosti biliárneho stromu; hematogénna distribúcia hepatálnou artériou alebo portálnou žilou pri apendicitíde alebo divertikulitíde má tendenciu viesť k väčším léziám šíricim sa difúzne v pečeni).

#### 2.5.1.6 Hepatocelulárny karcinóm

Hepatocelulárny karcinóm - HCC patrí medzi najčastejšie nádory u mužov, v 80 % až 90 % mu predchádza chronické ochorenie pečene, zvyčajne cirhóza. Abúzus alkoholu, vírus HCV, vírus HBV, fajčenie, zvýšená koncentrácia testosterónu, nadmerný príjem železa a poruchy metabolizmu sú rizikové faktory pre vznik HCC (Obrázok 27). Hepatocelulárny karcinóm vytvára metastázy krvnou cestou v pečeni, ale šíri sa aj mimo nej, najmä do pľúc a kostí. Lymfatickým systémom metastázuje do regionálnych

lymfatických uzlín [32]. Vymývanie kontrastu (washout) je diagnostická charakteristika HCC (Obrázok 27). Malé HCC môžu pri MR zobrazovaní vykazovať vyššiu intenzitu signálu na T<sub>2</sub>w a vykazovať hypervaskularitu v arteriálnej fáze. Hlavné MR charakteristiky často spojené s HCC sú hyperintenzita arteriálnej fázy, hyperintenzita T<sub>2</sub>w, vymývanie (washout) v žilovej alebo rovnovážnej fáze, nízky príjem (uptake) hepatošpecifického kontrastu v neskorjej (hepatobiliárnej) fáze a reštrikcia difúzie na DWI s vysokou hodnotou b [39].

Pre každú z týchto charakteristík však existuje iba ~ 60 – 80 % citlivosť a benigne lézie ukazujú tieto charakteristiky v 16 – 65 % prípadov v závislosti od nálezu, použitého kontrastu a sekvencie [43].



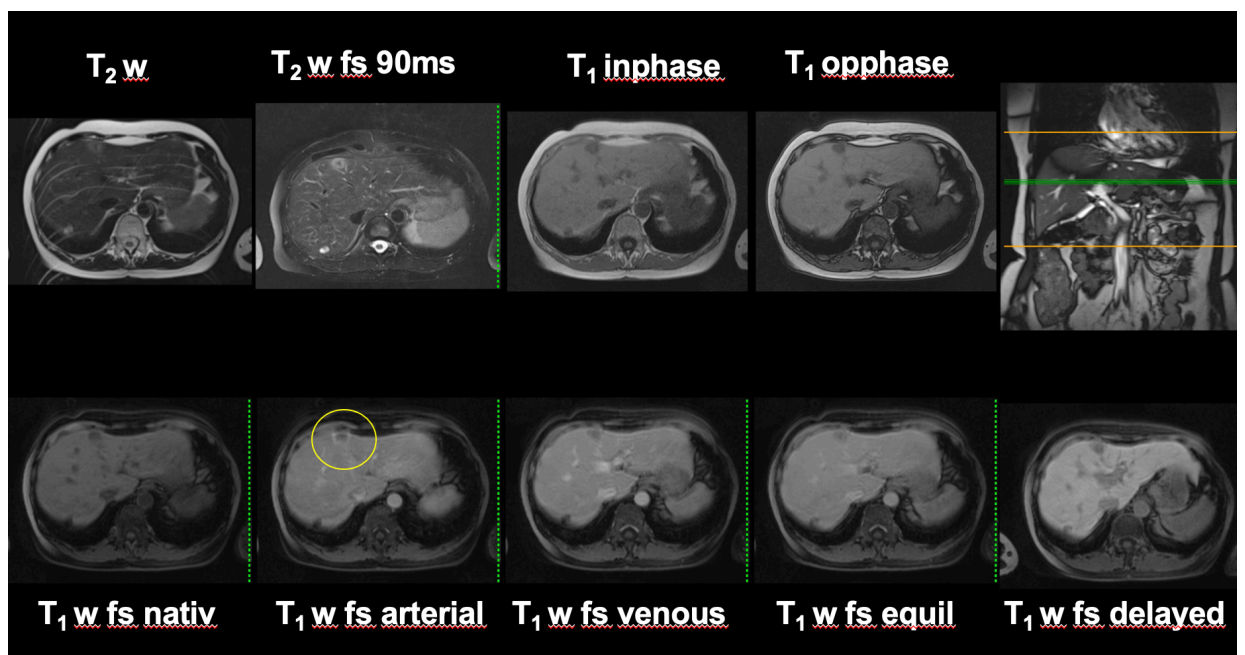
Obrázok 27 MRI pečene - hepatocelulárny karcinóm - žltý krížok (archív Nemocnica Levoča - vlastné spracovanie)

### 2.5.1.7 Metastázy

Hypervaskulárne metastázy v pečeni sú najčastejšie pozorované pri karcinómoch obličiek, tráviaceho traktu, neuroendokrinných nádoroch, sarkómoch a u pacientok s nádorom prsníka. Pri MR sú metastázy zvyčajne hypointenzívne na T<sub>1</sub>w a hyperintenzívne na T<sub>2</sub>w (Obrázok 28). Znakom malignity je peritumorálny edém, ktorý spôsobuje, že sa lézie zdajú byť väčšie na T<sub>2</sub>w [44]. Vysoká intenzita signálu pri T<sub>1</sub>w je typická pre metastázy melanómov v dôsledku paramagnetickej povahy melanínu. Niektoré lézie môžu mať centrálnu hyperintenzívnu oblasť (znak terča) na T<sub>2</sub>w, čo zodpovedá centrálnej nekróze.



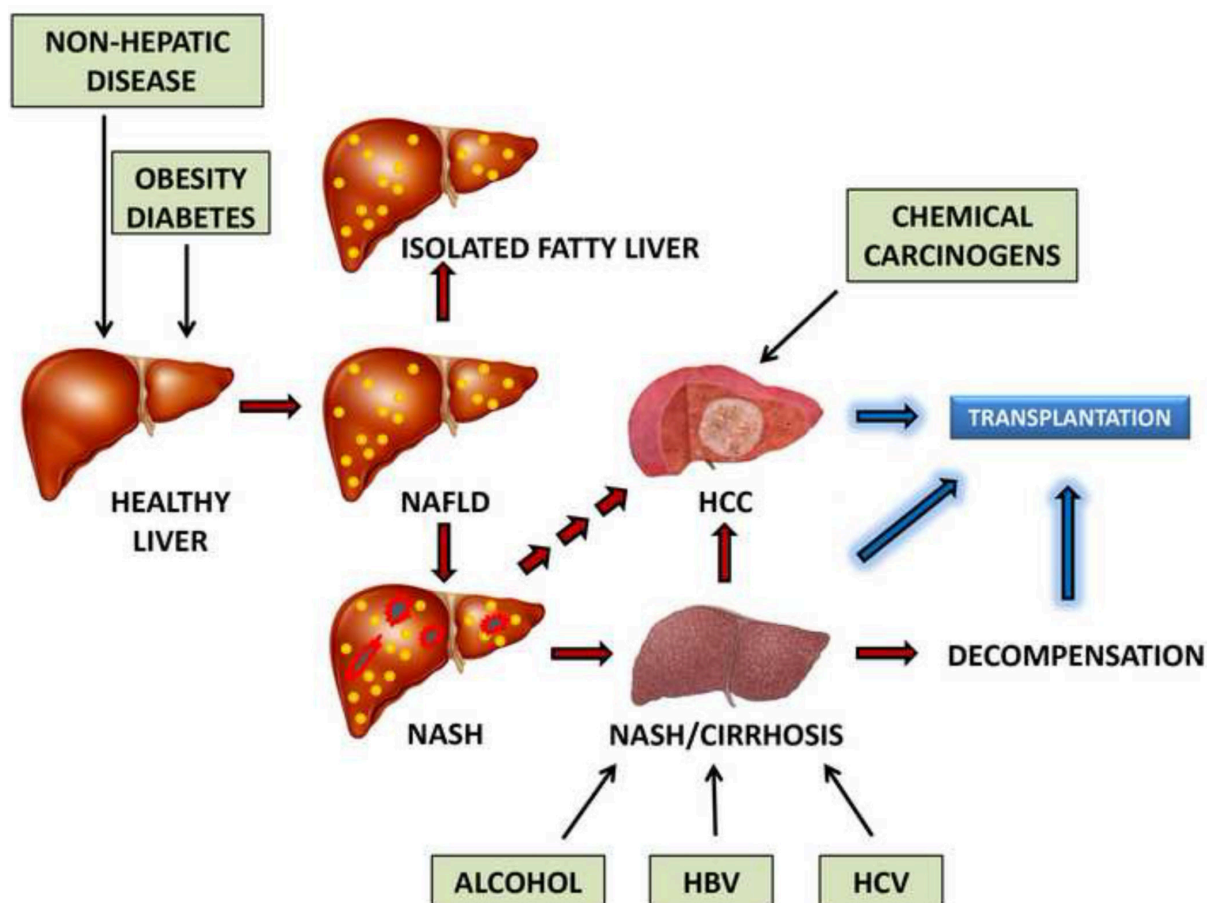
DWI s vysokými hodnotami b (600 - 800) sú veľmi užitočné pri detekcii malých pečeňových metastáz, ktoré inak môžu uniknúť detekcii. Postkontrastne sú metastázy hypovaskulárne a hypointenzívne vzhľadom na pečeňové tkanivo v portovenóznej fáze. Metastázy môžu mať hypointenzívny okraj v porovnaní so stredom lézie na oneskorených snímkach (znak periférneho vymývania), ktorý je veľmi špecifický pre malignitu. Pri rakovine hrubého čreva a konečníka sa ukázalo, že kombinácia DWI spolu s kontrastným MRI s hepatošpecifickou kontrastnou látkou, vedie k najvyššej diagnostickej presnosti detekcie pečeňových metastáz [45].



Obrázok 28 MRI pečene - metastáza - žltý krížok (archív Nemocnica Levoča - vlastné spracovanie)

## 2.5.2 Difúzne ochorenia pečene v MR obraze

Difúzne ochorenia pečene sú klasifikované klasicky podľa patogenézy na cirhózu, cievne, vrodené, metabolické a neoplastické ochorenia. [46–49].



Obrázok 29 Hlavné ochorenia pečene a potenciálne ovplyvňujúce faktory Táto schéma ukazuje vývoj NAFLD zo zdravej pečene a rôzne ovplyvňujúce faktory (zelené políčka). Steatóza je zobrazená žltou farbou. NAFLD sa väčšinou stáva izolovanou tukovou pečeňou, ale niektoré prípady progredujú do NASH, pričom sa prejavuje steatóza aj zápalová nekróza (zobrazené červenou a čiernou farbou). NASH môže prejsť do cirhózy a potom do HCC alebo do HCC priamo. HCC, cirhóza a dekompenzovaná cirhóza môžu byť liečené transplantáciou pečene. Chemické karcinogény, ako je aflatoxín B1, spolu s alkoholom a HBV a HCV, to všetko sú potenciálne ovplyvňujúce faktory (zelené políčka). Použité skratky: NAFLD, nealkoholické tukovatenie pečene; NASH, nealkoholická steatohepatitída; HCC, hepatocelulárny karcinóm; HBV, vírus hepatitídy B; HCV, vírus hepatitídy C. Reprodukované z [50].

### 2.5.2.1 Chronická choroba pečene

Je to chorobný proces pečene, ktorý zahŕňa deštrukciu a regeneráciu pečenevého parenchýmu vedúceho k fibróze a cirhóze. Fibrózu pečene označujeme ako nárast spojivového tkaniva po predošlom poškodení parenchýmu. Pokojové štádium fibrózy je následok škodlivého zahojenia jazvy. V tomto štádiu sa narušuje štruktúra pečene, pričom jej funkcia je zachovaná. Fibróza pečene sa môže stať súčasťou dynamického procesu,

ktorý môže skončiť cirhózou pečene [51](Obrázok 29).

S rastúcou epidémiou cukrovky, obezity a metabolického syndrómu prevalencia ochorenia non-alkoholovej tukovatej pečene (NAFLD) celosvetovo rastie. NAFLD sa stala jednou z najčastejších príčin chronických ochorení pečene, ktoré sú bežne klasifikované do dvoch fenotypov, non-alkoholovej tukovatej pečene (NAFL) a nealkoholickej steatohepatitídy (NASH). S rastúcou prevalenciou NAFLD vzniká potreba neinvazívnych skrínigových a monitorovacích zobrazovacích protokolov, ako alternatíva k biopsii pečene na definovanie terapeutických cieľov a ukončenia liečby NASH. Významné pokroky MRI a MRS techník umožňujú kvantifikáciu steatózy. Tieto metódy sú založené na meraniach tukovej frakcie protónov nachádzajúcich sa v molekulách tukov k celkovému počtu protónov v tukoch a vode. Je to robustný, kvantitatívny, presný a reprodukovateľný neinvazívny biomarker na hodnotenie NAFLD [46,47].

Ďalším krokom v kaskáde difúzneho ochorenia pečene je rozvoj fibrózy pečene na základe steatohepatitídy alebo hepatitídy B alebo C. Kvantifikácia fibrózy pečene je možná buď pomocou ultrazvuku (US), alebo MR elastografie (MRE). MRE je možné merať pomocou väčšiny MR skenerov pridaním hardvéru na generovanie mechanických vln. Zvýšená tuhosť spôsobená ukladaním kolagénu môže byť vizualizovaná sekvenciami fázového kontrastu.

#### 2.5.2.2 *Cirhóza pečene*

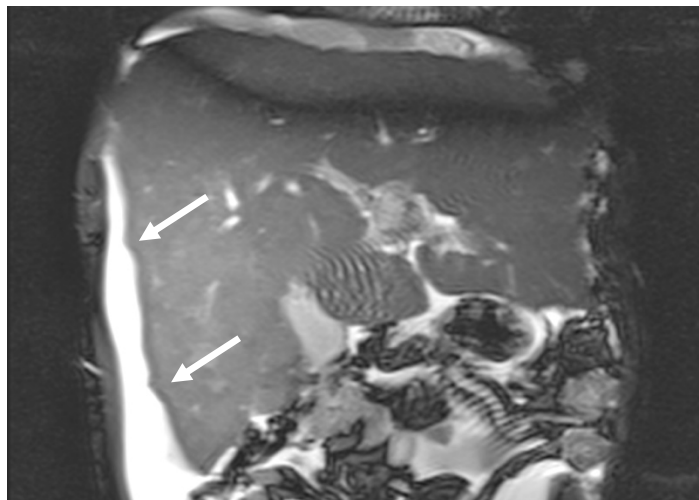
„Cirhóza pečene je v západnom svete jednou z najčastejších príčin smrti. Reprezentuje nezvratnú konečnú fázu niekoľkých difúzných chorôb spôsobujúcich hepatocelulárne poškodenia a charakterizujú ju tieto 4 nasledujúce vlastnosti:

- zahŕňa celú pečeň;
- normálna lobulárna architektúra pečeňového parenchýmu je chaotická;
- vytvára uzlové formácie, ktoré sú oddelené jeden od druhého nepravidelnými pruhmi väziva;
- objavuje sa následne po hepatocelulárnej nekróze rôznej etiológie, a preto v cirhóze existujú oblasti nekrózy a regeneračných uzlov. Regeneračné uzly nie sú nutné pre diagnózu cirhózy nakoľko biliárna cirhóza a cirhóza pri hemochromatóze majú len malú regeneráciu“ ([32], s. 638).

Najvážnejšie príčiny cirhózy sú toxické poškodenie pečene alkoholom a poškodenie infekčnými noxami [52].

Posledným znakom cirhózy je tvorba portovenózných a arteriovenózných anastomóz. Je to difúzny proces postihujúci celú pečeň, ktorý môže prebiehať plynule alebo skokom.

Tieto vedľajšie žily sú viditeľné ako sýtiace sa kľukaté cievy. Typický nodulárny okraj pečene (Obrázok 30) a obraz cirhotickej pečene, ako aj jej cievne komplikácie môžu byť viditeľné na ultrazvuku, CT alebo MRI. MRI veľmi dobre zobrazuje fibrotické pásy medzi regeneratívnymi uzlami ako hyperintenzívne T<sub>2</sub> a progresívne alebo oneskorene sýtiace sa štruktúry. V cirhotickom teréne sa často vyskytujú fokálne lézie, napr. regeneratívne noduly, dysplastické noduly, HCC, cholangiocelulárny karcinóm [53].



Obrázok 30 MRI obraz cirhotickej pečene – nodularita povrchu, (archív Nemocnica Levoča - vlastné spracovanie)

#### 2.5.2.3 Difúzne vaskulárne ochorenia pečene

Medzi difúzne vaskulárne ochorenia pečene patria portovenózne a arteriovenózne anastomózy, portálna trombóza, Budd-Chiari syndróm a chronické pasívne prekrvenie (kongescia) pečene [53].

#### 2.5.2.4 Difúzne metabolické ochorenia pečene

Medzi difúzne metabolické ochorenia pečene patria: steatóza, steatohepatitída hemochromatóza, hemosideróza, Wilsonova choroba a amyloidóza [47].

#### 2.5.2.5 Steatóza a steatohepatitída

Steatóza pečene vzniká dôsledkom rôznych abnormálnych procesov, vrátane zvýšenej produkcie alebo mobilizácie mastných kyselín (napr. obezita, užívanie steroidov), alebo znížením odbúravania mastných kyselín v dôsledku hepatocelulárneho poškodenia (napr. alkoholické ochorenie pečene, vírusová hepatitída). Histopatologicky je charakteristickým znakom všetkých foriem stukovatenia pečene akumulácia tukových kvapôčok v hepatocytoch. Distribúcia steatózy môže byť variabilná, od fokálnej, regionálnej až po difúznu. Difúzna steatóza je bežná a odhaduje sa, že sa vyskytuje približne u 30 % obéznych pacientov. Pacienti so steatózou sú zvyčajne asymptomatickí, aj keď niektorí jedinci môžu pociťovať bolesti v pravom hornom kvadrante, alebo mať abnormálne pečenné funkčné parametre. Steatóza pečene nesúvisiaca s alkoholom je známa ako nealkoholické stukovatenie pečene (NAFLD).

Histopatologické nálezy NAFLD sa líšia, od samostatnej steatózy po steatózu so zápalom, nekrózou a fibrózou.

Najvážnejším vyústením NAFLD je nealkoholická steatohepatitída (NASH), s cirhózou alebo bez nej. Histopatologické nálezy NASH zahŕňajú steatózu (prevažne makrovesikulárnu), zmiešaný lobulárny zápal a hepatocelulárny „baloning“. Na rozdiel od samotnej steatózy NASH môže prejsť do cirhózy.

CT ľahko identifikuje difúznu steatózu. Hodnota útlmu normálnej pečene je zvyčajne v priemere o 8 HU väčšia ako hodnota útlmu sleziny na nekontrastných CT snímkach. U pacientov s tukovými zmenami však bude mať pečeň abnormálne zníženú hustotu, čo bude demonštrované typicky o 10 až 25 HU menej ako slezina na nekontrastných CT a kontrastných CT obrazoch. Diagnóza steatózy pečene je spoľahlivejšie stanovená na nekontrastných obrázkoch [47].

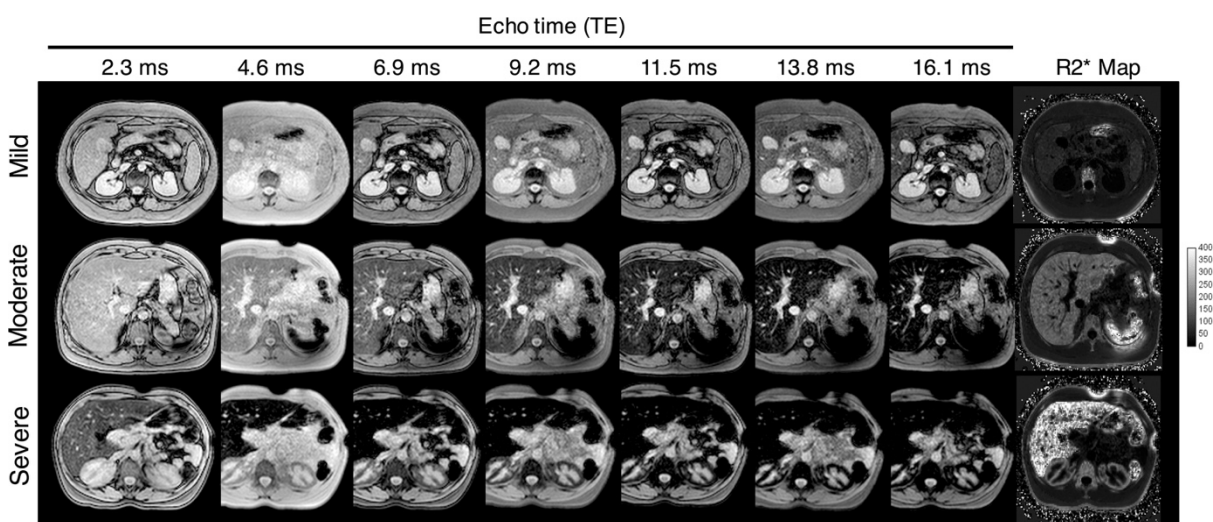
Nepochybne najcitlivejšia technika na detekciu tukových zmien pečene je MRI, a hlavne použitie obrazov dvoch ech vo fáze (in-phase) aj v protifáze (opp-phase) pulznej sekvencie duálneho gradientového echa. Multi-echo sekvencie, MR spektroskopia a ďalšie MR techniky boli úspešne navrhnuté na kvantifikáciu obsahu tuku v pečeni. Súčasné ukladanie železa môže byť mätúcim faktorom pri odhadovaní tukovej frakcie na základe zobrazovania pomocou duálneho echa. Tuková frakcia môže byť nadhodnotená, a preto posun v hodnotách kvôli ukladaniu železa vyžaduje T<sub>2</sub> korekciu, ako navrhuje Kang et al. [54].

### 2.5.2.6 Hemochromatóza

Dedičná alebo primárna hemochromatóza je autozomálna recesívna porucha metabolizmu železa charakterizovaná abnormálnou absorpciou železa z čreva s následným nadmerným ukladaním železa do hepatocytov, pankreatických acinárnych buniek, myokardu, kĺbov, endokrinných žliaz a kože. Okrem toho, bunky retikuloendotelového systému (RES) u pacientov s primárnou hemochromatózou sú abnormálne a nedokážu efektívne uložiť spracované železo. Klinický nález cirhózy a jej komplikácií (portálna hypertenzia, vznik HCC) prevládajú u pacientov s dlhotrvajúcim ochorením.

MRI je najšpecifickejšiou metódou na charakterizáciu preťaženia železom vďaka paramagnetickým vlastnostiam železa. Superparamagnetický účinok nahromadeného železa v hepatocytoch má za následok významné zníženie relaxačných časov  $T_2$  a  $T_2^*$ , ktoré znižujú intenzitu signálu na  $T_2w$  alebo  $T_1w$  multi-echo spoiled gradient-echo sekvenciách. Na rozdiel od nadmerného ukladania tuku, pri ukladaní železa dôjde k zvýšeniu intenzity signálu pri zobrazovaní chemickým posunom z in-phase na opp-phase. Množstvo železa je možné kvantifikovať pomocou gradientových sekvencií s  $T_2^*w$  a postupne dlhším echom [47].

Vo všeobecnosti je porovnanie intenzity signálu pečene s paraspinálnymi svalmi užitočnou vnútornou kontrolou. Hepatocelulárne karcinómy postihujúce 35 % pacientov s pokročilou hemochromatózou sú zvyčajne ľahko detegované na  $T_1w$  aj  $T_2w$  snímkach v dôsledku zníženej intenzity signálu pečene [55,56].



Obrázok 31 Transfúzna hemosideróza u troch pacientov. Zobrazené sú axiálne gradient echo (GRE) snímky MR 1,5 T s viacerými echo časmi (TE) (2.3, 4.6, 6.9, 9.2, 11.5, 13.8 a 16.1 ms) a zodpovedajúce mapy  $R_2^*$ . Hore: Hraničné mierne preťaženie železom u 28-ročnej ženy s anémiou. Nízka intenzita pečeneového signálu je najlepšie viditeľná pri najdlhšom TE (16.1 ms).  $R_2^* = 60 \text{ s}^{-1}$ . Stred: Stredné preťaženie železom u 27-ročného muža s kosáčikovitou anémiou. Nízka intenzita pečeneového signálu je najlepšie viditeľná pri strednej TE (6.9 ms).  $R_2^* = 140 \text{ s}^{-1}$ . Dole: Závažné preťaženie železom u 38-ročnej ženy s kosáčikovitou anémiou. Nízka intenzita pečeneového signálu je najlepšie viditeľná pri najkratšom TE (2,3 ms).  $R_2^* = 310 \text{ s}^{-1}$ . Prevzaté z [57]

#### 2.5.2.7 Hemosideróza

U pacientov s hemosiderózou (Obrázok 31) alebo siderózou buď z dôvodu preťaženia transfúznym železom, alebo kvôli dyserytropoéze (napr. talasémia major, sideroblastická anémia, nedostatok pyruvátkinázy, chronické ochorenie pečene) sa prebytočné železo spracováva a hromadí v orgánoch obsahujúcich retikuloendotelové bunky vrátane pečene (Kupfferové bunky), sleziny a kostnej drene.

Pri MRI zmeny intenzity extrahepatálneho signálu v slezine a kostnej dreni umožňujú rozlíšiť primárnu hemochromatózu od hemosiderózy.

Hoci vo všeobecnosti je klinický význam stavov preťaženia železom po transfúzii zanedbateľný, u pacientov s chronickou hemosiderózou sa môžu vyvinúť príznaky podobné primárnej forme, ako aj cirhóza a HCC [47].

#### 2.5.2.8 Wilsonova choroba

Wilsonova choroba, tiež známa ako hepatolentikulárna degenerácia, je zriedkavá autozomálna recesívna abnormalita metabolizmu medi charakterizovaná akumuláciou toxického množstva medi v mozgu, rohovke a pečeni (kvôli zhoršenému vylučovaniu žlčou). Pečeňová depozícia medi, pozorovaná predovšetkým v periportálnych oblastiach a pozdĺž pečeňových sinusoidov, vyvoláva zápalovú reakciu, ktorá má za následok akútnu hepatitídu s tukovými zmenami. Následne môže chronická hepatitída viesť k fibróze pečene a nakoniec k makronodulárnej cirhóze.

Vzhľadom na vysoké atómové číslo medi sa pečeň javí na natívnych CT skenoch hyperdenzne. Avšak tento nález nie je vždy prítomný. Často sú prítomné iba nešpecifické príznaky, ako je hepatomegália, tukové zmeny a v pokročilých prípadoch pozorujeme cirhózu. MR zobrazovanie v počiatočnom štádiu choroby v dôsledku paramagnetizmu medi demonštruje fokálne depozície medi ako viacnásobné nodulárne lézie, ktoré sa zvyčajne javia na T<sub>1</sub>w snímkach hyperintenzívne a na T<sub>2</sub>w snímkach hypointenzívne [47,58].

#### 2.5.2.9 Amyloidóza

Amyloidóza je ochorenie, ktoré spočíva v ukladaní fibríl proteínových mukopolysacharidových komplexov (amyloidu) do celého tela a je klasifikované na základe biochemického zloženia amyloidných fibríl. Primárna amyloidóza je dôsledkom

ukladania ľahkých reťazcov imunoglobulínov a je spojená s mnohopočetným myelómom a monoklonálnou gamapatiou. Sekundárna amyloidóza je dôsledkom ukladania proteínu amyloidu A a je spojená s chronickou infekciou, reumatoidnou artritídou a malignitami.

Pečeň je tretím najbežnejším orgánom (po slezine a obličkách) náchylným k takémuto ukladaniu.

V zobrazovacej diagnostike má pečeňová amyloidóza nešpecifický vzhľad. Najčastejším nálezom je difúzna hepatomegália. CT sporadicky demonštruje ohniskové oblasti nízkeho útlmu v pečeni, zodpovedajúce miestam ukladania amyloidu (amyloidový pseudotumor) [59,60].

#### *2.5.2.10 Difúzne infekčné a zápalové ochorenia pečene*

Medzi difúzne infekčné a zápalové ochorenia pečene patria kandidóza, sarkoidóza, histoplazmóza, vírusová hepatitída, HIV infekcia a iné [47].

#### *2.5.2.11 Diabetes mellitus a ochorenia pečene*

Metabolická homeostáza glukózy je často porušená pri pečeňových ochoreniach. Diabetes mellitus je zároveň nezávisle asociovaný s rizikom dekompenzovanej cirhózy, hepatocelulárneho karcinómu a zvýšenej mortality u pacientov s cirhózou aj bez nej a po transplantácii pečene. Taktiež samotný metabolický syndróm, ktorého súčasťou diabetes 2. typu je, zvyšuje riziko vzniku nealkoholovej steatózy pečene a steatohepatitídy, čo môže viesť k hepatocelulárnemu karcinómu. Podľa klinických štúdií 40 – 100 % pacientov s nealkoholovou steatózou pečene je obéznych a 20 – 75 % z nich má diabetes mellitus 2. typu. Navyše, závažnosť fibrózy u pacientov so steatohepatitídou je pozitívne asociovaná s obezitou a diabetom mellitus [61].



## 2.6 Ochorenia biliárneho traktu v MR obraze

Biliárny trakt pozostáva zo žľčových ciest a žľčníka. Ochorenia postihujúce tento systém môžu byť vrodené vývojové anomálie, zápaly, cholelitiázy a nádory žľčníka a žľčových ciest [62].

### 2.6.1 Ochorenia žľčovodov v MR obraze

#### 2.6.1.1 Vrodené vývojové anomálie

##### 2.6.1.1.1 Cysta choledochu

Choledochálna cysta zahŕňa vrodenú cystickú dilatáciu akejkoľvek časti extrahepatických žľčovodov. Väčšina choledochálnych cýst je diagnostikovaná v detstve; a cca 20 % sa prejavuje u dospelých. Je klasifikovaná podľa spektra morfológických zmien v žľčových cestách. Najčastejšia klasifikačná schéma je Todaniho modifikácia Alonso-Lejovej klasifikácie.

Todani typ I - jediná cystická dilatácia extrahepatálneho žľčovodu (EBD).

Todani typ II - skutočné divertikuly EBD.

Todani typ III - choledochocele alebo ektázia intramurálneho segmentu EBD.

Todani typ IV - viacnásobné a môžu mať intrahepatálne a extrahepatálne komponenty.

Todani typ V (Caroliho choroba) - cystická dilatácia intrahepatálnych žľčových ciest (IBD).

Komplikácie choledochálnych cýst u dospelých zahŕňajú prasknutie cysty s následnou žľčovou peritonitídou, tvorbu kameňov, cholangitídu, absces pečene a cholangiokarcinóm (CC). Cholangiokarcinóm vznikajúci v choledochálnych cystách sa javí ako intracystické mäkké tkanivo alebo nepravidelné zhrubnutie steny cysty [63].

##### 2.6.1.1.2 Artrézia žľčových ciest

Artrézia je ochorenie, ktoré patrí medzi vývojové anomálie a prejavuje sa skoro po narodení dieťaťa. Pri artrézii dochádza k uzatvoreniu, nepriechodnosti žľčových ciest.

Uzáver sa najčastejšie vytvorí na distálnej časti choledochu [51].

#### 2.6.1.2 Choledocholitiáza

Viditeľné žľčovody by mali byť vždy skontrolované, aby sa identifikovali a charakterizovali defekty ich výplne bez ohľadu na to, či je prítomná dilatácia žľčovodov. Drvivú väčšinu defektov výplne predstavujú kamene [64].

Detekovateľnosť kameňov v žľčovode na natívnom CT závisí od ich obsahu vápnika. V závislosti od zloženia môžu kamene vykazovať útlm ako mäkké tkanivá, HU blízko vody alebo tuku s periférnou kalcifikáciou.

Na T<sub>2</sub>w MRI a MRCP (Magnetická Rezonančná CholangioPankreatografia) sa kamene prejavujú ako výpadok signálu. Na T<sub>1</sub>w sú cholesterolové kamene spravidla izo alebo hypointenzívne, zatiaľ čo pigmentové kamene sú hyperintenzívne kvôli prítomnosti kovových iónov. ERCP (Endoskopická Retrogradná CholangioPankreatografia) je veľmi presná metóda na detekciu malých choledocholitiáz a tiež poskytuje prístup pre terapeutickú intervenciu [62].

#### 2.6.1.3 Zápalové ochorenia (cholangitídy)

##### 2.6.1.3.1 Akútna cholangitída

Akútna bakteriálna cholangitída je potenciálne život ohrozujúca infekcia, ktorá zvyčajne vzniká pri obštrukcii žľčových ciest, s následnou bakteriálnou kontamináciou, stagnujúcou žľčou a zvýšeným tlakom žľče v žľčovodoch. Choledocholitiáza predstavuje až 80 % prípadov akútnej cholangitídy. Na CT alebo MRI sa zobrazuje difúzne, koncentrické zhrubnutie a zvýraznenie steny žľčovodov s pridruženým periduktálnym edémom, so vzduchom alebo bez jeho prítomnosti v žľčovodoch [65]. Výrazné nehomogénne sýtenie parenchýmu je často prítomné u pacientov s akútnou hnisavou cholangitídou [66].

##### 2.6.1.3.2 Opakovaná pyogénna cholangitída

Opakujúca sa pyogénna cholangitída je charakterizovaná stenózou alebo zúžením periférnych žľčovodov s poklesom vetvenia a náhlym zúžením („vzhľad šípu“) spojené s neproporčnou dilatáciou centrálnych a extrahepatálnych žľčových ciest [67]. Sonografia, CT a MRCP umožňujú nielen stanoviť správnu diagnózu, ale slúžia tiež pre plánovanie následnej intervencie. Zobrazujú umiestnenie a rozsah ochorenia [68].

MRCP nálezy zahrnujú kamene v intrahepatálnych a extrahepatálnych žľčovodoch, viacnásobné striktúry intrahepatálnych žľčovodoch, fokálnu striktúru krátkeho úseku extrahepatálneho žľčovodu, zosilnenie steny žľčovodu, náhle zúženie a znížené rozvetvenie intrahepatálnych žľčovodov [69]. Cholangiokarcinóm spojený s opakujúcou sa pyogénnou cholangitídou sa najčastejšie vyskytuje v segmentoch s vysokým výskytom kameňov alebo v atrofovaných segmentoch. Medzi zobrazovacie znaky vývoja cholangiokarcinómu patrí progresívna atrofia postihnutých segmentov alebo lalokov pečene a zúženie alebo zaniknutie portálnej žily [70,71].

#### 2.6.1.3.3 Primárna sklerotizujúca cholangitída

Primárna sklerotizujúca cholangitída (PSC), prvýkrát opísaná francúzskym autorom Delbetom (1924), je chronický cholestatický syndróm, charakterizovaný zápalovým a fibrotizujúcim procesom. Etiológia ochorenia nie je známa, predpokladá sa autoimúnná, ale boli nahlásené aj genetické a environmentálne predispozičné faktory (vyskytuje sa viac v severnej Amerike a v severnej Európe, deprivácia vitamínu D a slnečného žiarenia prispieva k prevalencii autoimunitných ochorení) [72]. Ochorenie postihuje dvakrát častejšie mužov ako ženy. Až 75 % výskytov sa spája so zápalovou chorobou čreva [73]. Toto progresívne ochorenie postihujúce intra- aj extrahepatálne žľčovody, vedie pomalým a irverzibilným spôsobom k biliárnej cirhóze. V súčasnej dobe neexistuje žiadna terapia ochorenia, jediná život predlžujúca liečba v posledných štádiách ochorenia je transplantácia pečene. Transplantovaní pacienti prežívajú dlhšie, avšak môže dojsť k recidíve ochorenia. Prevalencia ochorenia je 16,2 z 100 000 [72].

Zápal a fibrotizácia žľčovodov vedie k multifokálnym, krátkym, prestencovitým zúženiam žľčovodov, ktoré sa striedajú s normálnymi alebo jemne dilatovanými úsekmi, čo pripomína vzhľad korálikov na niti. Pri ochorení je navyše aj zvýšené riziko výskytu rakoviny, najčastejšie cholangiokarcinómu.

Diagnóza ochorenia nie je jednoznačná, príznaky sa často prekrývajú s inými ochoreniami. V skorších štádiách sú klinické príznaky asymptomatické. Symptómy zahŕňajú únavu, svrbenie, žltáčku, abdominálnu bolesť, stratu na váhe a horúčku. Z laboratórnych testov je pozorovaný cholestatický biochemický profil počas obdobia dlhšieho ako šesť mesiacov, ale nálezy nie sú špecifické. Pri sérologickom vyšetrení je najčastejšie zvýšená hodnota alkalickéj fosfatázy (avšak normálna hodnota nevylučuje ochorenie). Najpodstatnejší krok k diagnostikovaniu PSC je zobrazovanie rádiologickými

modalitami. Na konci 70. rokov minulého storočia bola zlatým štandardom ERCP (z angl. endoscopic retrograde cholangiography ) alebo PTC (z angl. percutaneous transhepatic cholangiography) [73], avšak invazivita týchto vyšetrení znížila vykonávanie vyšetrenia a v skorých štádiách bola diagnóza iba predpokladaná [74]. Dnes sa za zlatý štandard považuje MRCP (z angl. MR cholangiopancreaticography) [72], pričom sa pozoruje charakteristický vzhľad žlčovodov.

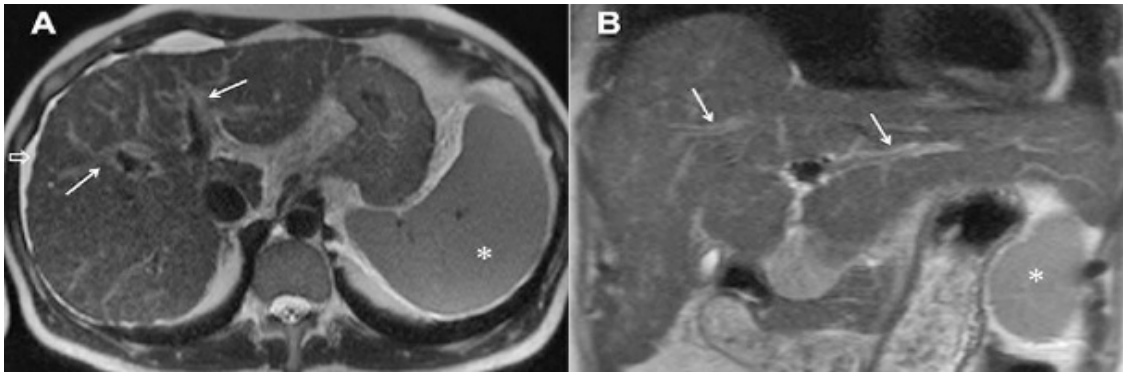
MRCP a ERCP sú diagnosticky porovnateľne presné metódy, avšak niektorí pacienti v skorých štádiách môžu byť nesprávne označení za negatívnych pri MRCP, alebo pri niektorých variantoch, keď sú postihnuté vývody príliš malé, aby boli zobrazené [73].

Senzitivita a špecificita MRCP je 80 a 87 %. V 25 % prípadov sú postihnuté iba intrahepatálne žlčovody a vzácne (5 %) sú postihnuté iba extrahepatálne žlčovody, príležitostne býva postihnutý aj žlčník, žlčníkový či pankreatický vývod [72]. Ostatné zobrazovacie modalitty, ako ultrasonografia a CT, sa na diagnostikovanie nepoužívajú.

#### *2.6.1.4 Biliárna cirhóza*

Biliárna cirhóza je chronická porucha dlho pretrvávajúcej cholestázy intrahepatálnych alebo extrahepatálnych žlčových ciest. Biliárnu cirhózu z hľadiska etiopatogenézy rozdeľujeme na dve formy:

- Primárna biliárna cirhóza (PBC) je koncové štádium chronickej nehnisavej cholangitídy, ktoré sa vyvíja niekoľko rokov. Toto ochorenie postihuje hlavne ženy, až 90 % medzi 40. a 60. rokom života. Prvým príznakom u väčšiny pacientov je svrbenie. Makroskopicky je pečeň zväčšená, tmavozelená, má hladký povrch a tuhú konzistenciu [75](Obrázok 32).
- Sekundárna biliárna cirhóza sa vyskytuje častejšie a vzniká hlavne pri ochoreniach extrahepatálnych žlčových ciest. Medzi hlavné príčiny vzniku tohto ochorenia patrí porucha odtoku žlče pri cholelitiáze, pri zjazvení, poruchách vývinu, zápale žlčovodov, nádorovej deštrukcii žlčových ciest, tlaku nádorov žlčových ciest na hlavu pankreasu. Makroskopicky je pečeň tuhá, zväčšená, intenzívne zelená a na reznej ploche má jemne zrnitý vzhľad. Na reze je vidieť sivo belavú sieť zmnoženého spojiva. Pri skorom odstránení príčiny sa môže pacient vyliečiť [75].



Obrázok 32 Primárna biliárna cirhóza. Axiálny obrázok s T<sub>2</sub> vážením zobrazuje periportálnu hyperintenzitu okolo stredne veľkých portálových triád (šípky) u 55-ročnej pacientky s mikronodulárnou cirhózou (otvorená šípka). Vidieť tiež splenomegáliu (hviezdička) a malé množstvo voľnej tekutiny okolo sleziny (A). Koronálny T<sub>2</sub> vážený MR obraz u ďalšieho 47-ročného pacienta s PBC ukazuje periportálnu hyperintenzitu (šípky) a difúziu hepatomegáliu ako najčastejšiu morfológickú zmenu pečene v PBC. Všimnite si tiež „znak bozkávania“ (hviezdička na slezine) (B). Reprodukované z [76].

## 2.6.2 Ochorenia žlčníka v MR obraze

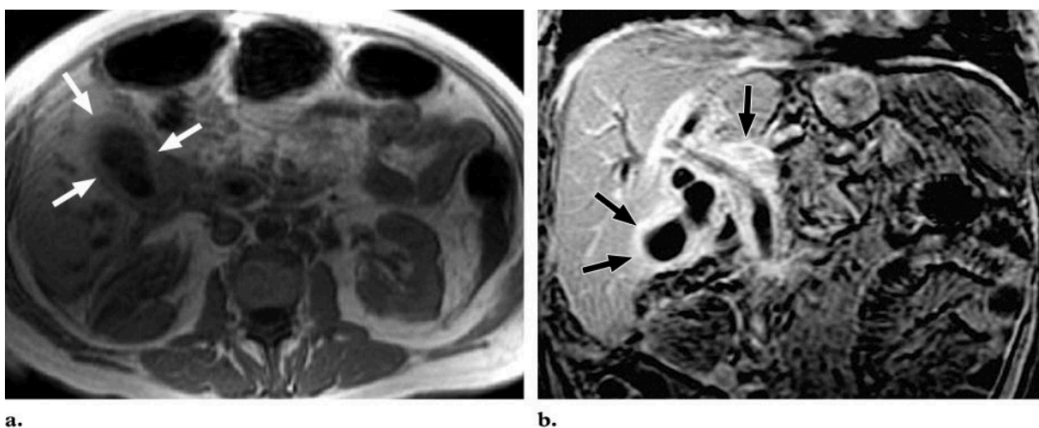
Medzi ochorenia žlčníka patria cholecystitídy, cholelitiáza a karcinóm žlčníka.

### 2.6.2.1 Cholecystitída

Zápal žlčníka alebo cholecystitída sa vyskytuje väčšinou u dospelých ľudí, častejšie u žien ako u mužov. Cholecystitídu rozdeľujeme na dve formy:

#### 2.6.2.1.1 Akútna cholecystitída

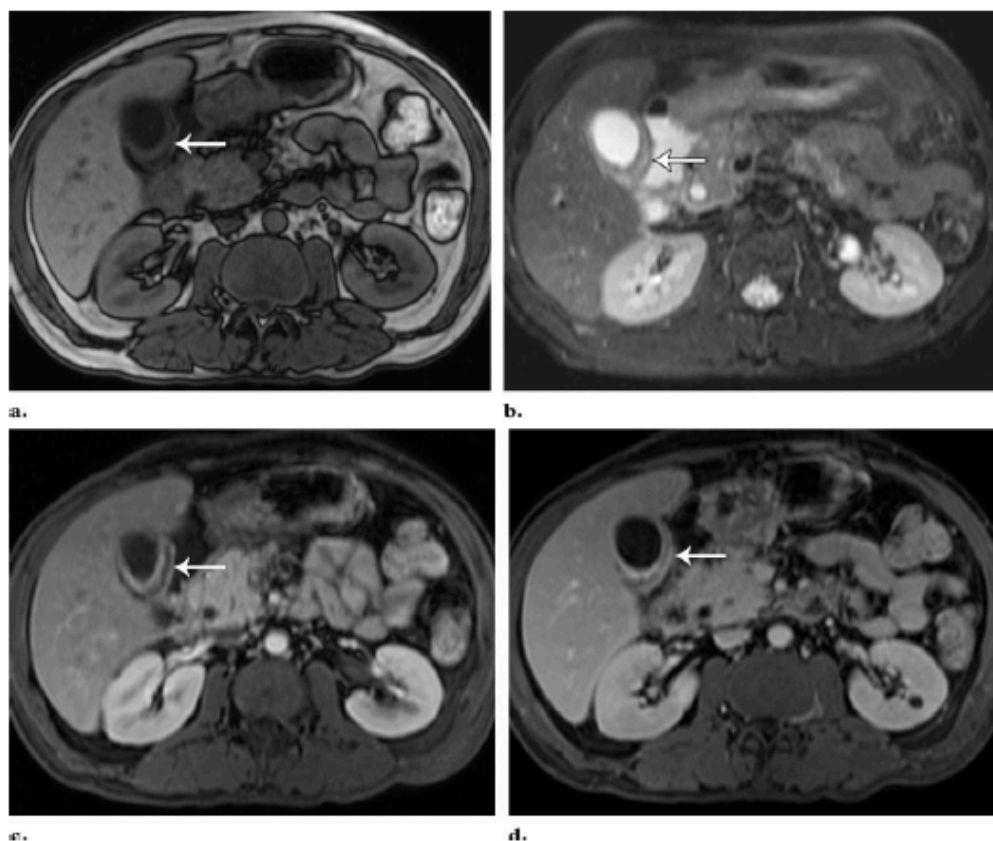
Akútna cholecystitída má znaky podobné brušnej príhode s bolesťou podobnou ako pri biliárnej kolike. Spravidla je sprevádzaná horúčkou, nauzeou a anorexiou. Najčastejšie je spôsobená obštrukciou kŕčku žlčníka alebo cystického vývodu žlčným kameňom (Obrázok 33). V iných prípadoch môže vzniknúť po predchádzajúcom nebiliárnom chirurgickom zákroku, pri šoku, sepse, dlhodobom hladovaní a pri diabetes mellitus [32].



Obrázok 33 Akútna cholecystitída s cholangitídou u 61-ročnej ženy s bolesťou pravého horného kvadranta, vracanie, nevoľnosť, horúčka a leukocytóza. a) Axiálny T<sub>1</sub>w MR obraz ukazuje difúzne zhrubnutie steny žlčníka (šípky). b) koronálny MR obraz s T<sub>1</sub>w a potlačeným tukom, post gadolinium ukazuje výrazné sýtenie stien žlčníka, intra- a extrahepatálnych žľových ciest a okolitého pečenevého tkaniva (šípky). Reprodukované z [77].

#### 2.6.2.1.2 Chronická cholecystitída

Chronická cholecystitída úzko súvisí s akútnou cholecystitídou a faktory, ktoré ju vyvolávajú, sú rovnaké. Žlčník má spravidla zhrubnutú a tuhú stenu, vzácne sa vytvára hydrob s žlčníka (Obrázok 34). Pri postihnutí susedných orgánov sa často vyskytujú sprievodné zápalové zmeny. Výsledkom môže byť sekundárna biliárna cirhóza [32].



Obrázok 34 Chronická cholecystitída u 47-ročnej ženy s bolesťou v pravom hornom kvadrante. Na axiálnom  $T_1W$  (a),  $T_2W$  s potlačeným tukom (b), arteriálna post-gadolinium fáza s potlačeným tukom (c) a portálna post-gadolinium žilová fáza s potlačeným tukom (d) MR stena žlčníka je zhrubnutá a stratifikovaná bez prerušenia alebo nepravidelnosti. Tunica muscularis sa javí ako hypointenzívna na obrázku s vážením  $T_1$  (šípka v a) a hyperintenzívna na obrázku s vážením  $T_2$  (šípka b) v dôsledku edému. Stena žlčníka sa homogénne a progresívne sýti z arteriálnej fázy do portálnej žilovej fázy. Tunica muscularis zostáva na obrázkoch s kontrastom relatívne slabosýtená (šípka v c a d). Reprodukované z [77].

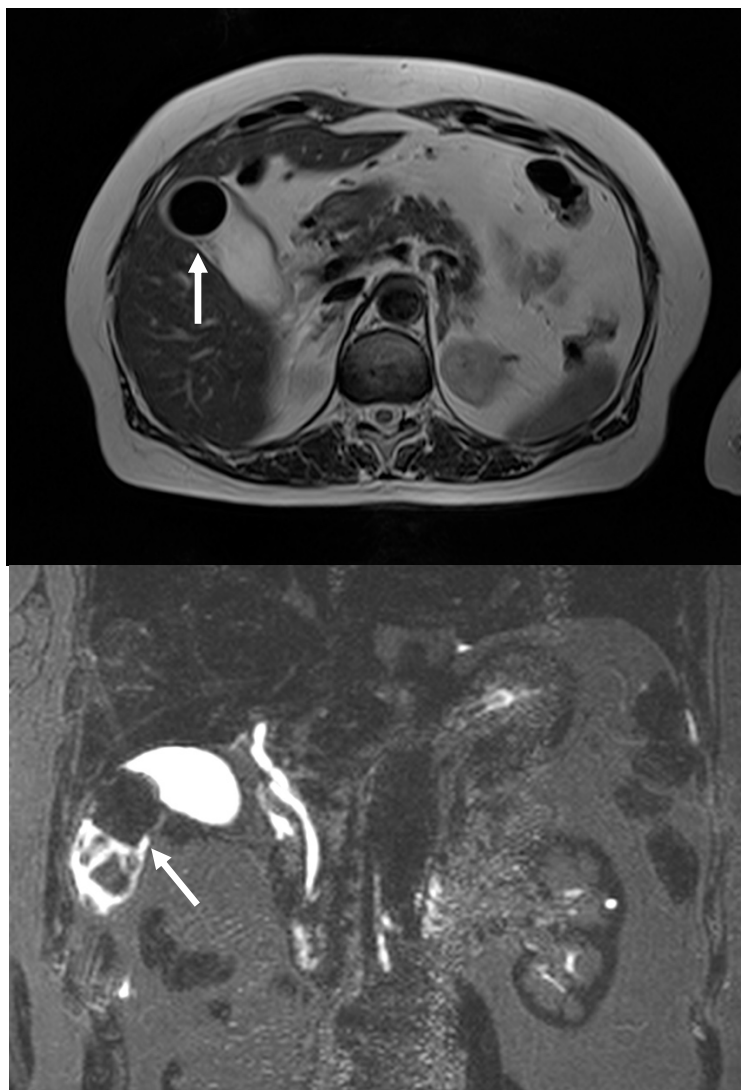
#### 2.6.2.2 Cholelitiáza

Žlčníkové kamene patria medzi najčastejšie ochorenia žlčníka, u žien sa vyskytujú dva až trikrát častejšie ako u mužov, častejšie u obéznych ľudí a diabetikov. Obvykle sa vytvárajú v žlčníku, niekedy v extrahepatálnych žľčových cestách a málokedy v intrahepatálnych žľčových vývodoch (Obrázok 35) [51].

Delenie žlčníkových kameňov:

- cholesterolové – obsahujú 60 % cholesterolu, vznikajú pri zvýšenej koncentrácii cholesterolu v žlči;
- pigmentové – môžu mať čiernu alebo hnedú farbu;
- zmiešané – vyskytujú sa predovšetkým pri chronicky zápalovo zmenenom žlčníku. Prítomnosť zmiešaných žlčníkových kameňov je považovaná za prekancerózu.

Ak sú žlčníkové kamene prítomné v odvodných žľčových cestách, zapríčiňujú rozšírenie žľčovodov a biliárnu koliku, ktoré sú typickými prejavmi cholelitiázy [32].



Obrázok 35 MRCP – cholelitiáza (archív Nemocnica Levoča - vlastné spracovanie)

### 2.6.2.3 Karcinóm žlčníka

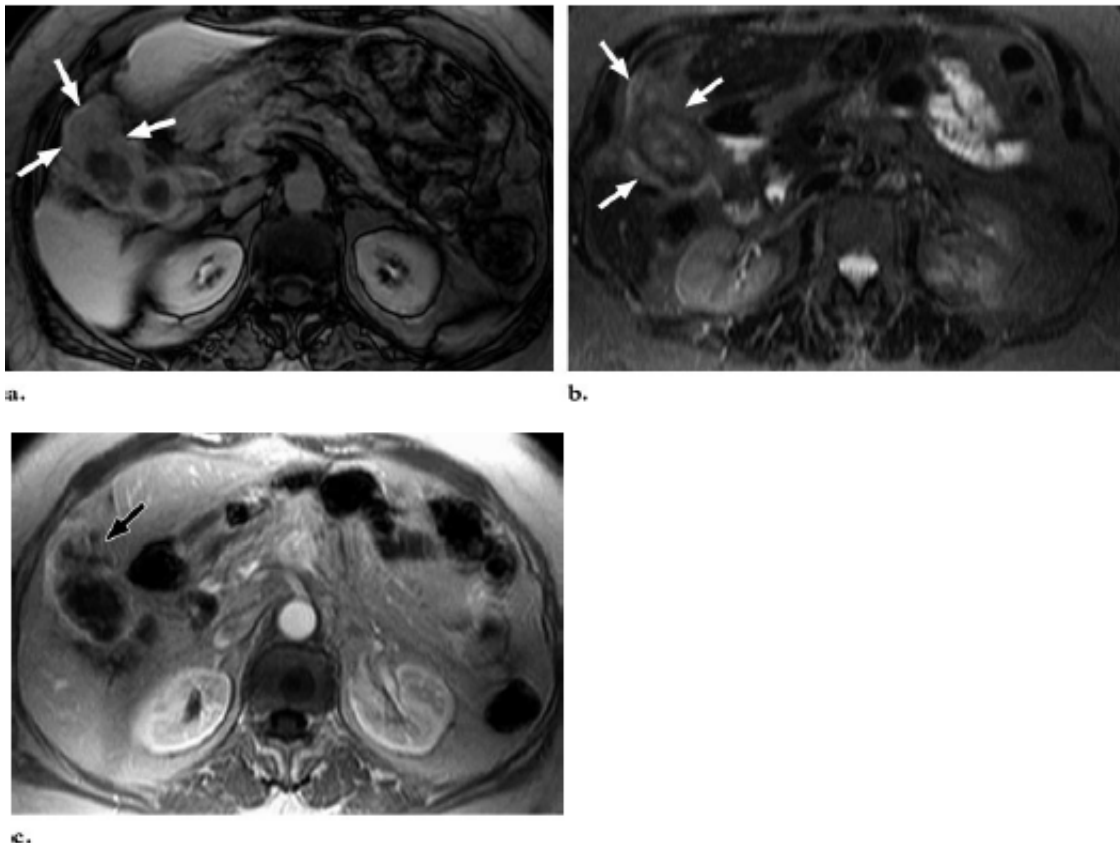
Primárny karcinóm žlčníka je najčastejšie sa vyskytujúcim nádorovým ochorením žlčníka a extrahepatálnych žlčových ciest. Tak ako cholecystitída a cholelitiáza, častejšie postihuje ženy ako mužov. Výskyt karcinómu žlčníka sa s pribúdajúcim vekom zvyšuje a vrchol jeho výskytu je v siedmej dekáde života. Často zostáva nezistený až do doby, kým sa rozšíri na susedné orgány a stáva sa inoperabilným [75].

Pri CT a MRI zobrazovaní je buď vidieť masu, ktorá nahrádza lôžko žlčníka, alebo masa



vyplňa väčšinu zväčšeného a zdeformovaného žlčníka. Často je pozorovaná invázia do okolitých štruktúr, najmä do pečene, hepatoduodenálneho väziva, pravej hepatálnej flexie alebo dvanástnika (Obrázok 36).

Lymfatické šírenie do regionálnych a vzdialených lymfatických uzlín je veľmi časté a karcinóm žlčníka hematogénne metastázuje do pečene, prítomne môže byť tiež intraduktálne šírenie nádoru, ako aj peritoneálny rozsev. Biliárnu obštrukciu možno pozorovať až u 50 % pacientov [62].



Obrázok 36 Karcinóm žlčníka 73-ročná žena s bolesťou pravého horného kvadrantu, stratou hmotnosti a hyperbilirubinémiou. (a) axiálny T1w FS s nerovnomerným zhrubnutím steny žlčníka a s fokálnou léziou (šípky). (b) Na T2w FS je lézia heterogénne hyperintenzívna (šípky). (c) Post kontrastné T1w zobrazuje léziu s heterogénnym syténím. Rozhranie tumoru a pečene nie je dobre definované, čo naznačuje infiltráciu tumoru do pečene. Reprodukované z [77].

## 3 Hepatobiliárna in vivo MR spektroskopia

### 3.1 Hepatobiliárna in vivo $^1\text{H}$ -MRS

Vodíkové jadro obsahujúce jeden protón je najštudovanejším jadrom v MR vedách ( $^1\text{H}$ , gyromagnetický pomer  $\gamma_{1\text{H}} = 42,476 \text{ MHz/T}$ ). Keďže ľudské telo pozostáva hlavne z vody a organických molekúl, ktoré obsahujú veľké množstvo atómov vodíka, je možné pomocou  $^1\text{H}$  magnetickej rezonančnej spektroskopie (MRS) získať prístup k značnému množstvu informácií. MR zobrazovanie (MRI) je navyše založené na signále  $^1\text{H}$  jadier, a preto je možné  $^1\text{H}$  MRS rutinne vykonávať na akomkoľvek klinickom skeneri MRI.

#### 3.1.1 Detekovateľné metabolity $^1\text{H}$ -MRS

V pečeni pomocou  $^1\text{H}$  MRS typicky pozorujeme okrem vodného signálu, ktorý je v spektre najvýraznejší (4,7 ppm), tri metabolické signály. Menšie signály pochádzajú zo zlúčenín obsahujúcich cholín (3,2 ppm) a glykogén (3,6 - 4 ppm). Tretí signál umožňuje podľa množstva tukov pozorovať signály pochádzajúce z pečňových lipidov, ktoré rezonujú v niekoľkých rôznych frekvenciách (5,3 - 0,9 ppm). Najdôležitejším prispievateľom k pozorovateľným lipidom sú intracelulárne lipidové kvapôčky [78]. In vivo  $^1\text{H}$  MRS obvykle pokrýva lipidové signály v rozsahu od 2,8 do 0,9 ppm.

V žlčníku je pomocou  $^1\text{H}$  MRS možné detekovať fosfolipidový signál obsahujúci cholín (CCPL, 3,22 ppm) [79]. Na vyšších poliach je možné pozorovať niekoľko ďalších zložiek žlče, vrátane taurínových a glycinových konjugovaných žľových kyselín (TCBA, 3,08 ppm a GCBA, 3,74 ppm) a nenasýtených lipidov a cholesterolu (5,35 ppm) [80].

#### 3.1.2 Sledovanie tukov v pečeni pomocou $^1\text{H}$ -MRS

Pečňová steatóza je charakteristická pre rad ochorení pečene ako: alkoholické a nealkoholické tukovatenie pečene (AFLD, NAFLD) a diabetes mellitus 2. typu (T2DM). Odhaduje sa, že až 30 % pacientov s NAFLD má vyššie riziko progresie do konečného štádia ochorenia pečene. NAFLD je druhou najbežnejšou indikáciou transplantácie pečene a predpokladá sa, že sa stane najbežnejšou indikáciou v priebehu nasledujúceho desaťročia. Niekoľko štúdií ukázalo, že zvýšený obsah tuku v pečeni je tiež spojený s úmrtnosťou a chorobnosťou nesúvisiacou s pečňou. Kritériom diagnostiky

NAFLD je akumulácia prebytočného tuku v pečeni, ktorá postihuje viac ako 5 % hepatocytov.

Hodnotenie obsahu hepatocelulárnych lipidov (HCL) pomocou  $^1\text{H}$  MRS je založené na relatívnej kvantifikácii signálov vody a tuku [81,82]. Odhad vodného signálu zo spektier je relatívne jednoduchý, pretože voda rezonuje na jednej frekvencii. Tuk sa odhaduje z najvýraznejšieho tukového píku (1,3 ppm), ktorý je priradený k metylénovej skupine, alebo zo všetkých detegovaných tukových píkov (Obrázok 37).

Detekcia a dekonvolúcia tukových píkov do značnej miery závisí od sily magnetického poľa, obsahu železa v pečeni a techník potláčania vody.

Okrem toho je potrebné signály vody a tuku korigovať na spin-mriežkovú relaxáciu ( $T_1$ ) a spin-spin relaxáciu ( $T_2$ ). To je zdôraznené skutočnosťou, že pečňové tkanivo je jedným z hlavných orgánov ukladajúcich železo [83]. Železo je paramagnetický prvok, ktorý spôsobuje relatívne rýchly pokles signálu. Voľba TR sa riadi relaxačným časom  $T_1$  vody, ktorá je dlhšia ako tuk [84]. Pretože protóny v molekulách tuku sú spin-spinovo viazané (J-coupling)[85], ich relaxácia  $T_2$  je J-modulovaná. Ak sú známe ich J-väzbové konštanty, relaxáciu  $T_2$  je možné merať pomocou viacerých časov echa ( $T_E$ ) pomocou monoexponenciálnej rovnice:

$$M(T_E) = M_0 \exp(-T_E/T_2) \quad (24)$$

kde  $M_0$  predstavuje magnetizáciu pri  $T_E = 0$  ms. V prípade, že modulácia J nie je známa, je možné použiť aproximáciu [84]:

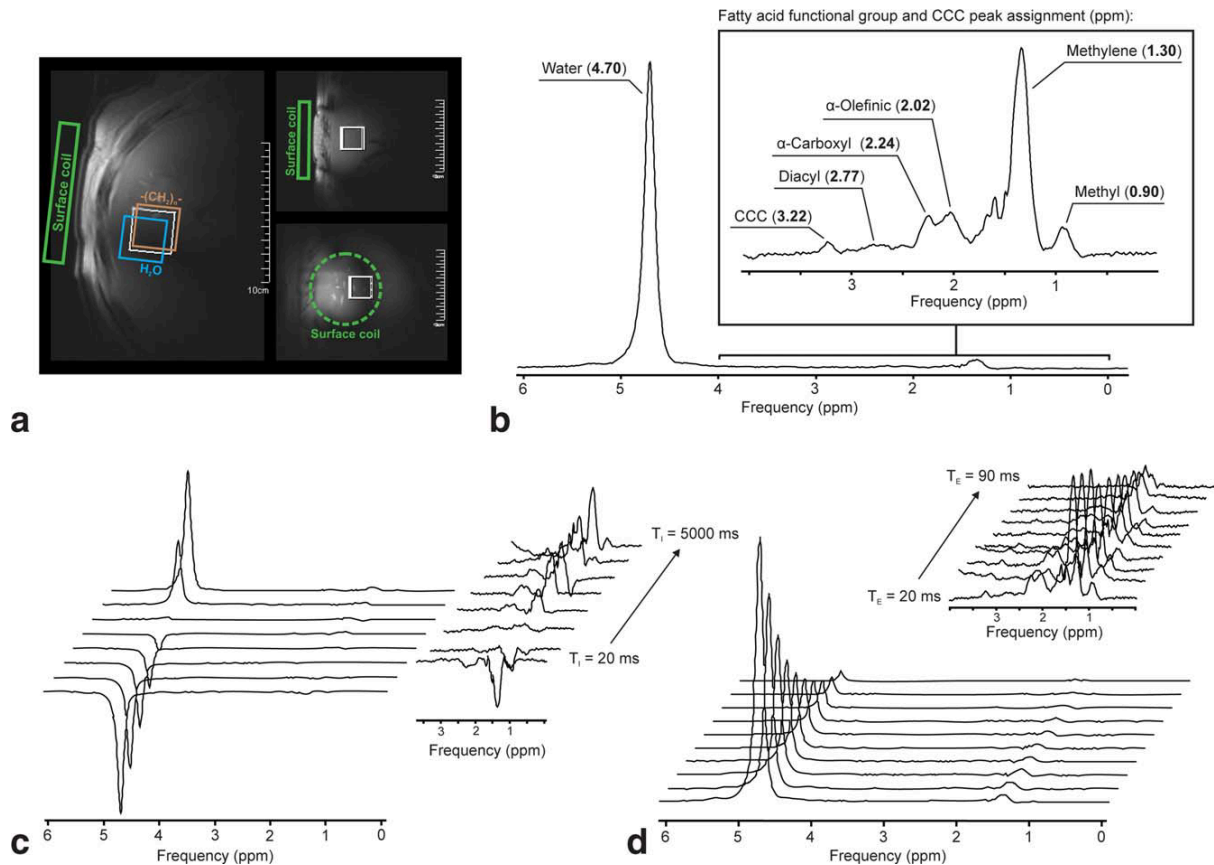
$$M(T_E) = M_0 \exp(-T_E/T_2) [\cos(\pi T_E j_E) + b] \quad (25)$$

kde  $j_E$  empiricky opisuje vývoj J-modulácie, hodnota  $b$  je komplementárne číslo k  $M_0$  v prípade, že  $j_E$  má nenulovú hodnotu.

J-modulácia sa viac prejavuje pri sekvenciách založených na spinovom echu [86], a preto tieto metódy nie sú často používané na meranie tuku v pečeni. Namiesto toho je preferovaná SVS sekvencia stimulovaného echa (STEAM).

Pretože obsah železa môže byť rozličný medzi subjektmi, je výhodné merať relaxačné časy  $T_2$  pre každého jednotlivca. Rýchla multi-echo MRS metóda, nazývaná HISTO [87], môže

merat' HCL s individuálnou korekciou relaxácie  $T_2$  vody a signálu hlavného tuku počas jediného zadržania dychu. Výhodou tejto metódy je jej rýchlosť a to, že je menej náchylná na chyby spôsobené dýchaním. Nevýhodou je, že používa iba jeden priemer na TE, ktorý v prípade nízkeho SNR a tuku v pečeni môže viesť k strate presnosti. Okrem toho neumožňuje skúmať rozdiely v  $T_2$  relaxácii iných tukových signálov a profil lipidov (saturáciu lipidov). Skrátenie relaxačných časov vody ( $T_2$ ,  $T_2^*$ ) sa tiež používa na nepriamy výpočet obsahu železa v pečeni pomocou MRS a MRI [10]. Kvantifikácia tuku v pečeni na základe multiecho  $^1\text{H}$  SVS MRS bola validovaná voči výsledkom histopatologickej analýzy pomocou biopsie [88,89]. Porovnanie s Dixonovou kvantifikáciou tukov založenou na MRI ukazuje výhody merania MRS, najmä v rozsahu nižších koncentrácií lipidov [90,91].



Obrázok 37 a: Lokalizačné snímky v troch ortogonálnych rovinách so zvoleným voxelom záujmu (biely rámček) a umiestnením povrchovej cievky (zelené pole a prerušovaný kruh). Modré a hnedé štvorce na priečnom obrázku znázorňujú chybu chemického posunu rezonancií vody a metylénu. b: Vzorové in vivo spektrum pečene s lipidovou oblasťou (0,50 - 3,50 ppm) vpravo hore podrobnejšie (32-násobné zväčšenie). c, d:  $T_1$  a  $T_2$  in vivo experimenty s lipidovou oblasťou podrobnejšie. Pre detailné spektrá boli apodizované pomocou 15-Hz Gaussovho filtra. Prevzaté z [92].

### 3.1.3 Sledovanie profilu tukov v pečeni pomocou $^1\text{H}$ -MRS

Lipidy sú definované ako „látky, ktoré obsahujú tuk a ktoré sú dôležitou súčasťou živých buniek“. Lipid však nemusí byť nevyhnutne tuk. Tuky, tiež známe ako triacylglyceridy

(TAG), sú estery troch reťazcov mastných kyselín (FA) a alkoholového glycerolu. TAG sa líšia od FA rôznymi dĺžkami a počtom dvojitých väzieb medzi atómami uhlíka. FA reťazce, ktoré neobsahujú žiadnu dvojitú väzbu, sa nazývajú nasýtené (saturated) FA (SFA). FA reťazce, ktoré obsahujú jednu a viac dvojitých väzieb, sa nazývajú mono- a polyneenasýtené FA (MUFA a PUFA). Kvalita FA závisí od počtu uhlíkov a počtu dvojitých väzieb v reťazci.

Olefinické a glycerolové signály rezonujú okolo vodného signálu (4,70 ppm) pri 5,29, respektíve 5,19 a 4,20 ppm. Pretože voda má relatívne kratší relaxačný čas  $T_2$ , jej široký a silný signál tieto vrcholy často pokrýva. Toto prekrytie je výraznejšie, ak sa používajú klinické magnetické polia ( $\leq 3T$ ) a/alebo je narušená homogenita  $B_0$ . Na charakterizáciu tuku v pečeni bol vyvinutý teoretický model triglyceridov [93,94], pričom sa používali iba pozorovateľné signály vo frekvenčnom rozsahu od 2,75 do 0,90 ppm.

Extrémne vysoké magnetické polia (napr. 7T) ponúkajú vyššie spektrálne rozlíšenie, čo pomáha pri charakterizácii všetkých lipidových pík (Obrázok 37). Vodný signál je možné bezpečne odstrániť buď offline v rámci post-processingu [95], alebo ho možno odstrániť počas akvizície dát konvenčným spôsobom potlačenia vody [96] alebo metódou metabolického cyklovania [97]. Všetky tieto techniky môžu detekovať olefinické a glycerolové píky, ktoré sa používajú na výpočet indexu nenasýtenosti (UI). Medzi UI a HCL bola zistená negatívna korelácia [95,97]. MRS meraná frakcia celkového HCL a SFA ukazujú silnú, negatívnu koreláciu s citlivosťou na pečennový inzulín [96,98], ktorý je jedným z charakteristických znakov T2DM.

### **3.1.4 Cholín obsahujúce metabolity a glykogén**

Metabolity obsahujúce cholín (CCC) majú silný  $^1H$  signál poskytovaný deviatimi trimetylamínovými protónmi rôznych druhov cholínu rezonujúcimi pri 3,2 ppm. Koncentrácie CCC sa líšia v zdravých [99,100] a v neoplastických léziách pečene [101]. U pacientov s kolorektálnym karcinómom bol pozorovaný pokles CCC [102].

Lokalizovaná  $^1H$  MRS sa tiež používa na hodnotenie koncentrácie glykogénu v zdravom parenchýme pečene [99,100]. Avšak spektrálne prekrytie s glukózovými rezonanciami a pomerne krátke relaxačné časy glykogénu predstavujú prekážku jeho presnej kvantifikácie. Tieto merania poskytli koncentráciu nižšiu ako  $^{13}C$  MRS metóda, ktorá bola validovaná proti biochemickej analýze biopsie pečene [103].

## 3.2 Hepatobiliárna in vivo $^{31}\text{P}$ -MRS

Fosforová MRS ( $^{31}\text{P}$ -MRS) nemôže konkurovať  $^1\text{H}$ -MRS v citlivosti signálu; má však aj svoje výhody. Konkrétne  $^{31}\text{P}$ -MRS disponuje podstatne väčšou spektrálnou šírkou, čo vedie k lepšej separácii metabolitov. Signály v  $^{31}\text{P}$  spektre sú teda dobre definované, najmä na ultra vysokých poliach, t.j. 7T. V  $^{31}\text{P}$ -MR spektrách nie je prítomný žiadny dominantný signál vody alebo tuku, a preto nie sú potrebné techniky selektívneho potlačenia dominantného signálu.

Hlavný rozdiel však spočíva v jeho Larmorovej frekvencii ( $\omega_0$ ). Pretože sa všetky klinické systémy MR zameriavajú na použitie jadier  $^1\text{H}$  na klinické zobrazovanie, sú ladené na  $\omega_0$   $^1\text{H}$ . Aby bolo možné tieto systémy používať pre  $^{31}\text{P}$ -MRS, je nevyhnutný ďalší hardvér, to znamená širokopásmový vysielač a prijímač, ako aj špeciálne RF cievky.

### 3.2.1 $^{31}\text{P}$ in vivo spektrum

Pomocou vyššie spomínaných lokalizačných techník je možné získať  $^{31}\text{P}$  spektrum napr. zo svalu, pečene alebo mozgu. O tom, aké rezonančné čiary je možné pozorovať a akým metabolitom prislúchajú, hovorí nasledujúca kapitola.

V in vivo  $^{31}\text{P}$  spektre je možné pozorovať celkovo sedem rezonančných čiar (Obrázok 14). Fosfomonoestery (PME), anorganický fosfát (Pi), fosfokreatín (PCr), fosfodiester (PDE) a tri fosfátové skupiny ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) v nukleotid trifosfátoch (NTP). Fosforové jadro vo veľkých molekulách má zníženú pohyblivosť, a preto ich signál je nedetekovaný (napr. fosfolipidy v membránach).

Rezonančná čiara fosfomonoesterov v pečeni obsahuje najmenej 10 signálov. (napr. glukóza-6-fosfát, glycerol-3-fosfát, atď.). Pi signál pochádza približne z 40 % intracelulárneho Pi, zvyšok je pravdepodobne viazaný v mitochondriách. Signál fosfodiesterov sa skladá z troch príspevkov glycerofosfoetanolamín (GPE) a glycerofosfocholín (GPC) a fosfoenolpyruvátu (PEP), ktorý hoci nie je fosfodiester, rezonuje v tejto oblasti.

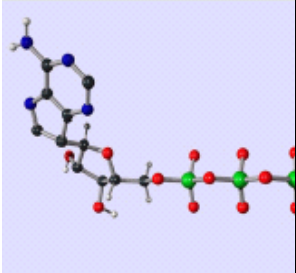
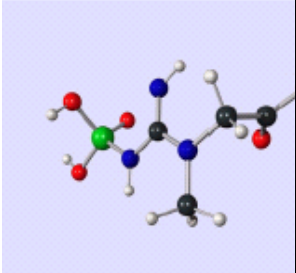
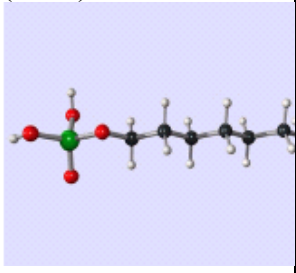
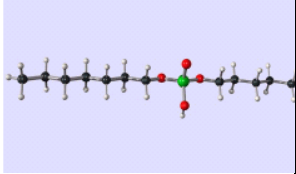
K signálu NTP dominantne prispieva adenzíntrifosfát (ATP), ale asi 10 - 20 % signálu môže pochádzať z guanozíntrifosfátu (GTP) a uridíntrifosfátu (UTP) [104].

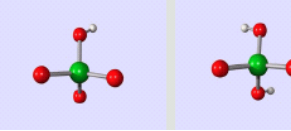
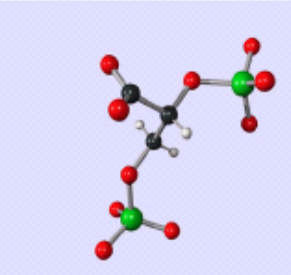
V tabuľke 2 sú vzorce  $^{31}\text{P}$  metabolitov, ich chemické posuny a stručná charakteristika.

Tabuľka 2 Vzorce  $^{31}\text{P}$  metabolitov, ich chemické posuny a stručná charakteristika.

Legenda k tabuľke: vzorce - uhlík - čierny, vodík - biely, kyslík - červený, dusík - modrý, fosfor- zelený

Signál - chemický posun v ppm, meno skupiny, štiepenie signálu (s-singlet, d-dublet, t-triplet). Prebrané z [104].

Vzorec	Signál	Charakteristika
Adenozintrifosfát (ATP) 	-2,7; $\gamma$ -ATP, d -7,8; $\alpha$ -ATP, d -16,5; $\beta$ -ATP, t	ATP je najdôležitejší nosič energie vo všetkých živých systémoch. V $^{31}\text{P}$ spektre sú dobre rozoznávané $\alpha$ -, $\beta$ - a $\gamma$ -ATP skupiny. Rezonancia ADP je prekrytá $\alpha$ - a $\gamma$ - signálmi ATP
Fosfokreatín (PCr) 	0, PCr, s	Fosfokreatín je najdôležitejšou zásobárňou chemickej energie v svalu. Môže rýchlo odovzdať vysokoenergetickú fosfátovú skupinu do ADP. Fosfokreatín sa nenachádza v pečeni. PCr signál v pečeni indikuje patologický nález.
Fosfomonoestery (PME) 	6-2, PMe, rôzne	PME sú charakteristické komponenty bunkovej membrány, ale patria sem napr. aj glukóza-6-fosfát, glycerol-3-fosfát. V iných častiach bunky sú prítomné len v malom množstve. Zvýšený výskyt PME je často detekovaný v tumoroch.
Fosfodiestery (PDE) 	2-0, PDE, rôzne	PDE sú charakteristické komponenty bunkovej membrány. V iných častiach bunky sú prítomné len v malom množstve.
Anorganický fosfát	5,0 (závisí od pH), Pi, s	Anorganický fosfát existuje vo fyziologic-

		<p>kom pH v dvoch formách <math>\text{H}_2\text{PO}_4^-</math> a <math>\text{HPO}_4^{2-}</math>. Tieto formy sa menia v rýchlej pH – závislej disociačnej reakcii. Ako výsledok, namiesto dvoch oddelených pík, sa tvorí len jeden ostrý pík, ktorého chemický posun závisí od pH. Preto sa vzdialenosť PCr píku a Pi píku môže použiť na neinvazívne určenie pH.</p>
<p>2,3-difosfoglycerát</p> 	<p>5,6; 2-DPG 6,7; 3-DPG</p>	<p>2,3-DPG sa nachádza vo veľkom množstve v erythrocytoch. Táto molekula má dôležitú podpornú funkciu v preprave kyslíka hemoglobínom. Jej signály sa objavujú hlavne pri in vivo spektroskopii srdca.</p>

### 3.2.1.1 $^1\text{H}$ decoupling a NoE

Mnoho in vivo  $^{31}\text{P}$  MRS štúdií bolo vykonaných na klinických MR skeneroch s  $B_0 \leq 3\text{T}$  aj napriek tomu, že vyššia sila statického magnetického poľa  $B_0$ , vedie k zvýšenej citlivosti MRS merania [28,29]. Nevýhoda nižšej citlivosti na týchto poliach je často kompenzovaná efektívnym širokopásmovým decouplingom  $^1\text{H}$  a/alebo jadrovým Overhauserovým efektom (nOe), ktoré sa na nich ľahšie dosahuje v povolených limitoch špecifickej miery absorpcie (SAR). Limity SAR komplikujú používanie týchto metód pri vyšších poliach  $B_0$ . Pokiaľ ide o decoupling, hodnotám presahujúcim limit SAR sa dá čiastočne vyhnúť tým, že sa medzi impulzmi nechajú dlhšie voľné periódy (nie je to možnosť pre nOe, ktorá vyžaduje iradiáciu počas niekoľkých časov  $T_1$ ), použitím dlhších časov opakovania (TR) alebo kratších, ale efektívnych RF impulzov.



### 3.2.2 Výhody in vivo $^{31}\text{P}$ MRS spektroskopie na 7T

Hlavná výhoda  $^{31}\text{P}$  MRS na 7T je zvýšený pomer signál/šum [17,27,105–107]. Metóda  $^{31}\text{P}$  MRS sa kvôli fyzikálnym vlastnostiam na rozdiel od  $^1\text{H}$  MRS nestretá s množstvom problémov na vysokých poliach. Potlačenie vody a tukov nie je potrebné. Väčší rozptyl chemických posunov v  $^{31}\text{P}$  spektre vedie k signifikantne zlepšenému spektrálnemu rozlíšeniu z 3T na 7T [17] (lepšia separácia signálov) a robí  $^{31}\text{P}$  MRS menej senzitivnou k nehomogenitám magnetického poľa  $B_0$ . Lepšie spektrálne rozlíšenie na 7T umožnilo detekciu alkalického inorganického fosfátu s krátkym  $T_1$  v ľudskom svalu [108]. Ďalším benefitom  $^{31}\text{P}$  MRS na ultra vysokých poliach (7T) sú kratšie  $T_1$  relaxačné časy, ktoré umožňujú rýchlejšie priemerovanie signálu s menšími saturačnými efektmi [17]. Toto vedie k viac ako lineárnemu nárastu SNR za jednotkový čas [27,106], ktorý môže byť použitý na lepšie priestorové [19,109,110] a/alebo časové rozlíšenie [105,111].

Na  $^{31}\text{P}$ -MRS sa najčastejšie používajú senzitivne povrchové cievky, ktoré poskytujú nehomogénnu  $B_1^+$  excitáciu a čiastočnú lokalizáciu kvôli ich  $B_1^+/B_1^-$  profilu. Avšak veľa klinických štúdií vyžaduje presnejšiu lokalizáciu MRS signálu. Veľmi krátke  $T_2$  relaxačné časy niektorých fosforových metabolitov, ktoré klesajú s vyšším  $B_0$  poľom [17], vyžadujú použitie metód, kde akvizícia free induction decay (FID) prebieha čo najskôr po excitačnom pulze (napr., FID-CSI [112,113] alebo ISIS [25]). Krátke  $T_2$  časy v prípade použitia lokalizačných techník založených na spinovom alebo stimulovanom echu vedú k signifikantnému poklesu signálu. Image-selected-in vivo-spectroscopy (ISIS) [25] lokalizácia je preferovaná, ak je potrebné MR spektrum z jedného objemu. V posledných rokoch skupina z MR Centre of Excellence vo Viedni ukázala (uchádzač o habilitáciu pôsobil v tejto skupine aktívne 13 rokov), že technické problémy, ako je lokalizačná chyba rozdielneho chemického posunu, kvôli selekcii vrstvy pomocou gradientu, môžu byť minimalizované použitím širokospektrálneho inverzného GOIA pulzu – E-ISIS [27]. Rovnaký pulz bol použitý v mnohovoxlovej lokalizačnej technike 2D  $^{31}\text{P}$  MR spektroskopickom zobrazovaní, prezentovanom vo štvrtej predkladanej práci. Metóda umožňuje 2D priestorové mapovanie  $^{31}\text{P}$  metabolitov v pečeni, ale aj v iných tkanivách (sval, mozog) za klinicky akceptovateľný čas. Navrhovaná metóda využíva kombináciu selekcie vrstvy pomocou ISIS techniky, ktorá je doplnená o fázové kódovanie v ďalších

dvoch rozmeroch. Táto metóda bola nazvaná goISICS [114]. Navrhovaná metóda profituje zo zvýšeného pomeru signál/šum a lepšieho spektrálneho rozlíšenia na 7T. Metóda vďaka použitiu adiabatického excitačného pulzu minimalizuje problémy nehomogénneho excitačného poľa. Kvalita lokalizácie goISICS bola porovnaná s konvenčným 2D spektroskopickým zobrazovaním, bežne používaným na MR skeneroch s nižším magnetickým poľom  $\leq 3T$ .

### 3.2.3 Informácie získané z $^{31}\text{P}$ MR spektra pečene

Dominantným metabolitovým signálom v  $^{31}\text{P}$ -MRS spektrách väčšiny orgánov je singlet fosfokreatínu (PCr). V zdravej pečeni však signál PCr nie je. Je to spôsobené tým, že za normálnych podmienok hepatocyty netvorí kreatínkinázu. Preto je dominantným metabolitom v pečenevom spektre  $^{31}\text{P}$  adenosín-trifosfát (ATP), ktorý obsahuje tri neekvivalentné fosfátové skupiny ( $\alpha$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ -), líšiac sa rezonančnými frekvenciami, ktoré poskytujú tri jednotlivé signály v  $^{31}\text{P}$ -MR spektrách.

Pretože fosfátové jadrá v ATP interagujú s inými blízkymi spinmi, t.j. sú viazané takzvanou homonukleárnou väzbou J, možno pozorovať štiepenie signálov ATP, ktoré vytvára dublety pre  $\alpha$ - a  $\gamma$ -ATP, a triplet pre  $\beta$ -ATP. Ďalším dôležitým metabolitom viditeľným v  $^{31}\text{P}$ -MRS spektre je anorganický fosfát (Pi), ktorý slúži ako substrát alebo produkt pri chemických reakciách energetického metabolizmu.

Medzi ďalšie detekovateľné metabolity  $^{31}\text{P}$  patria prekursori bunkových membrán, to znamená fosfomonoestery (PME) a produkty degradácie bunkových membrán, to znamená fosfodiastery (PDE). Hlavným prispievateľom k signálu PME in vivo sú fosfocholín (PC) a fosfoetanolamín (PE), zatiaľ čo hlavnými PDE sú glycerol-fosfocholín (GPC) a glycerol-fosfoetanolamín (GPE). PC, PE, GPC a GPE sú všetky zlúčeniny obsahujúce cholín, ktoré nie je možné rozlíšiť pomocou  $^1\text{H}$ -MRS in vivo, a preto sú akékoľvek zmeny v ich pomere jasne kvantifikovateľné pomocou  $^{31}\text{P}$ -MRS. Nedávno bol v spektrách ľudskej pečene rozpoznávaný ďalší fosfolipidový signál, t.j. fosfatidylcholín (PtdC), ktorý pochádza zo žlče a jeho hodnotenie by potenciálne mohlo mať diagnostickú hodnotu pre choroby žlčových ciest a pečene [115]. Nikotínamid adenín dinukleotid (NAD) v jeho oxidovanej a redukovanej forme ( $\text{NAD}^+$ , respektíve NADH) a uridíndifosfát glukóza (UDPG) možno tiež detekovať v pečeneových  $^{31}\text{P}$ -MR spektrách, najmä pri 7T (Obrázok 15).

Množstvo viditeľných metabolitov obsahujúcich fosfor predstavuje veľmi dôležitú, ale nie jedinou informáciu, ktorú je možné získať z analýzy pečeneových  $^{31}\text{P}$ -MR spektier. Pretože chemické prostredie jadier definuje ich rezonančné frekvencie v  $^{31}\text{P}$  MR spektrách, akékoľvek zmeny týchto rezonancií definujú skutočné fyziologické alebo patologické podmienky v tkanive. Mimoriadny význam má vplyv pH na presnú pozíciu spektrálnej rezonancie anorganického fosfátu (Pi) [116]. Rozdiel chemického posunu medzi Pi

a referenčným metabolitom ( $\delta$ ) možno použiť na neinvazívne odvodenie hodnôt pH pomocou Hendersonovej-Hasselbachovej rovnice:

$$\text{pH} = \text{pK}_A + \log \left[ \frac{(\delta - \delta_{HA})}{(\delta_A - \delta)} \right] \quad (26)$$

Zatiaľ čo v iných orgánoch sa ako referencia zvyčajne používa PCr, pre pečeň sa ako referenčná frekvencia môže použiť rezonančná frekvencia  $\alpha$ -ATP. Preto v tomto prípade  $\text{pK}_A$  (disociačná konštanta Pi) sa rovná 6,75  $\delta_{HA}$  (chemický posun protonovanej formy Pi) je 10,77 ppm a  $\delta_A$  (chemický posun neprotonovanej formy Pi) je 13,13 ppm. Ďalším fyziologickým stavom, ktorý môže ovplyvniť rezonančné polohy metabolitov  $^{31}\text{P}$ , je bunkový obsah voľného horčíka  $\text{Mg}^{2+}$ , ktorý hrá dôležitú úlohu v rôznych intracelulárnych biochemických reakciách. Najmä komplexy  $\text{Mg}^{2+}$  ADP a ATP pôsobia ako substráty pre ATPázy a kinázy. Množstvo voľného  $\text{Mg}^{2+}$  možno vypočítať z chemického posunu medzi  $\beta$ -ATP a  $\alpha$ -ATP ( $\delta\alpha - \beta$ ) [117]:

$$[\text{Mg}^{2+}] = k_d \frac{\delta_{ATP} - \delta\alpha - \beta}{\delta\alpha - \beta - \delta_{\text{MgATP}}} \quad (27)$$

kde  $k_d$  (účinná diassociačná konštanta MgATP) je 0,05 mM a  $\delta_{ATP}$  a  $\delta_{\text{MgATP}}$  (limitujúce konštanty chemického posunu) sú 10,82 ppm, respektíve 8,32 ppm.

### 3.2.3.1 Kvantifikácia $^{31}\text{P}$ MR spektra

Najčastejší kvantifikačný postup pre pečeňové  $^{31}\text{P}$  MR spektrá, ktorý predstavuje aplikáciu fitovacieho algoritmu v časovej doméne, zahŕňa vstupné informácie (prior knowledge) na zníženie stupňa voľnosti fitovania. Patrí sem hlavne pokročilá metóda pre presné, robustné a efektívne spektrálne fitovanie (AMARES) [118], voľne dostupná ako súčasť softvérov jMRUI [119] alebo OXSA [120]. Metóda ponúka vysokú flexibilitu fitovacích parametrov a je najčastejšie používaná.

Výsledky spektrálneho fitovania zahŕňajú informácie o amplitúde signálu, ktorá je úmerná ploche (integrálu) píku metabolitu. Bežnou praxou je uvádzať výsledky in vivo MRS, najmä v klinickej oblasti, ako pomery metabolitov. Pomery metabolitov však nemôžu poskytnúť jednoznačné informácie o metabolických zmenách, s ktorými sa stretávame

v mnohých štúdiách porúch a patológií pomocou in vivo MRS. Aby boli dosiahnuté spoľahlivé výsledky o metabolických zmenách, je nevyhnutné vypočítať koncentrácie metabolitov v  $\text{mmol L}^{-1}$  alebo  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  tkaniva in vivo. Spravidla existujú tri prístupy na získanie absolútnych koncentrácií [121–123]. Prvý prístup používa ako referenciu známu vnútornú koncentráciu, ktorú je možné stanoviť zo stabilného metabolitu, ktorý sa prirodzene vyskytuje v tkanive. Druhý prístup využíva externú referenciu koncentrácie umiestnenú mimo skúmaný objekt, ale v citlivej oblasti cievky. Tretí prístup, technika fantómovej náhrady, tiež používa externú referenčnú koncentráciu nameranú v samostatnom experimente.

V prípade pečenevej  $^1\text{H}$  MRS sa signály vzťahujú buď na samotný vnútorný signál vody, alebo na celkový signál MRS vrátane všetkých spektrálnych čiar pochádzajúcich z lipidov. V prípade  $^{31}\text{P}$ -MRS nie je tento prístup uskutočniteľný, pretože žiadny z metabolitov nemá stabilnú koncentráciu za patofyziologických podmienok. Koncentrácia ATP klesá u pacientov s difúznymi ochoreniami pečene alebo so všeobecnými systémovými metabolickými ochoreniami, ktoré postihujú aj pečeň, napr. obezita alebo diabetes 2. typu [124]. Pri ostatných dvoch prístupoch je zásadná dobrá znalosť vysielacieho poľa cievky a citlivosti príjmu [125].

### **3.2.4 $^{31}\text{P}$ -MRS pečene v pokoji**

Aby sa zabránilo nožnej kontaminácii spektier zo svalového tkaniva, žlčníka alebo susedného pečenevého tkaniva, musí sa dosiahnuť lokalizácia pečenevého signálu  $^{31}\text{P}$ -MRS. Za týmto účelom bola navrhnutá a implementovaná celá škála rôznych stratégií. Týmto technikám lokalizácie je venovaná kapitola 1.4. Celý zoznam možných klinických aplikácií a nálezov pečenevej  $^{31}\text{P}$ -MRS je mimo rozsahu tejto kapitoly a je možné ho nájsť na inom mieste [126]. V ďalších podkapitolách je uvedený iba krátky zoznam konsenzuálnych zistení.

#### *3.2.4.1 Homeostáza hepatálnej energie (ATP)*

Homeostázu hepatálnej energie je možné hodnotiť meraním hladiny ATP. Toto sa používalo na vyšetrenie životaschopnosti uskladnených a transplantovaných pečení [127,128]. Transplantácia pečene je bezpečná a účinná liečba zlyhania orgánov v konečnom štádiu. Ischemické poškodenie, ku ktorému dochádza pri skladovaní v chlade,

ovplyvňuje životaschopnosť transplantátu. Zistené množstvo ATP prítomného v transplantovanom pečevom tkanive odráža dĺžku skladovania v chlade [127].

#### 3.2.4.2 *Zmena metabolizmu bunkovej membrány (PME a PDE)*

Metóda  $^{31}\text{P}$ -MRS môže identifikovať zmeny metabolizmu bunkovej membrány, pretože fosfomonoestery (PME) sú prekurzory bunkových membrán a fosfodiester (PDE) sú produktmi degradácie bunkovej membrány. Zmeny pomeru PME/PDE boli napríklad publikované u pacientov s cirhózou pečene [8,28,129]

Neoplastické zmeny sú tiež spojené s reorganizáciou bunkových membrán, a preto najzrejmou a najkonzistentnejšou abnormalitou v spektre pečevých nádorov a metastáz je zvýšenie signálu PME, ktoré možno považovať za diagnostický diskriminátor [130]. Štúdie MRS po onkologickej liečbe ukázali zníženie hladín PME, čo naznačuje, že liečivá sa dostávajú do cieľových buniek a ovplyvňujú metabolizmus nádorových buniek. Po úspešnej terapii sa spektrá stali podobnými spektrám zdravých jedincov, čo demonštrovalo značný klinický význam hepatálnej  $^{31}\text{P}$ -MRS [130,131].

Nedávne pilotné merania na 7T navrhli použitie pečevých koncentrácií glycerofosfocholínu (GPC) a glycerofosfoetanolamínu (GPE) ako potenciálny biomarker účinku hormónov štítnej žľazy v pečeni [132].

#### 3.2.4.3 *Ďalšie potenciálne biomarkery*

Ďalšie štúdie poukázali na možný klinický význam niektorých  $^{31}\text{P}$  metabolitov. NADH - marker zápalu a fibrinogénnej aktivity je zvýšený u pacientov s NASH a u pacientov s cirhózou, ale nezvyšuje sa u pacientov s NAFLD [28]. Ukázalo sa tiež, že zvýšený príjem fruktózy počas obdobia štyroch týždňov zvyšuje obsah NADH u zdravých dobrovoľníkov [133]. Okrem toho bol identifikovaný PtdC - dominantná zložka signálu MRS ľudskej žlče - príspevok k pečevému signálu  $^{31}\text{P}$ -MRS in vivo [115].

### 3.2.5 **Dynamická $^{31}\text{P}$ -MRS metabolizmu pečene**

Ďalšou líniou výskumu sú štúdie dynamiky metabolizmu v pečeni, buď po metabolických zmenách spôsobených exogénnymi látkami, alebo poruchách magnetickej rovnováhy prenosom nasýtenia (Saturation transfer - ST). Infúzia bolusu L-alanínu alebo fruktózy

indukuje rýchle a konzistentné zmeny  $^{31}\text{P}$  MR spektier [134] a môže slúžiť ako nástroj na štúdium glukoneogenézy [135,136]. Injekcie acetaminofénu, t.j. samootrávenie, spôsobujú zníženie koncentrácie všetkých metabolitov fosforu súčasne s poklesom syntetickej schopnosti pečene. V závažných prípadoch hladiny ATP a PDE poklesli na  $\sim 20\%$  ich normálnych koncentrácií [137]. U pacientov s ochorením ukladania glykogénu pomohla dynamická  $^{31}\text{P}$  MRS po stimulácii glukagónom odhaliť hepatálne defekty metabolizmu glukózy pozorovaním koncentrácií glukóza-6-fosfátu [138].

### 3.2.5.1 Prenos saturácie v ľudskej pečeni - tok cez ATP syntázu

Ďalšia in vivo technika  $^{31}\text{P}$  MRS, ktorá poskytuje informácie o reakčnej kinetike energetického metabolizmu, sa nazýva magnetizačný prenos (magnetization transfer - MT). Jeho najbežnejšie používanou formou je saturačný prenos (saturation transfer - ST). ST využíva prenos magnetizácie medzi jadrami, ktoré sú spojené chemickou výmenou [139]. ST umožňuje neinvazívne meranie rýchlostných konštánt a metabolických tokov za ustálených podmienok. Rýchlosť chemickej reakcie medzi dvoma metabolitmi je možné študovať prostredníctvom  $^{31}\text{P}$ -MR selektívnej saturácie (magnetické značenie) jedného metabolitu zapojeného do reakcie, a potom sa zmeria vplyv na jej výmenného partnera. V štandardnom pečňovom experimente ST je rezonančná frekvencia  $\gamma$ -ATP selektívne saturevaná, čo má za následok zníženie signálu  $\text{P}_i$ . Nedostupnosť nenasýteného fosfátu na doplnenie  $\text{P}_i$  reverznou reakciou a skutočnosť, že výmenný pomer je dostatočne rýchlejší ako prirodzená  $T_1$  ( $T_1^{\text{int}}$ ) relaxácia, t.j.  $T_1$ , ktorý by sa meral pri absencii akejkoľvek chemickej výmeny [140], umožňuje toto nepriame MR meranie. Frakčné zníženie signálu  $\text{P}_i$  z jeho rovnováhy ( $M_0$ ) na ustálenú hodnotu ( $M_z$ ) sa potom rovná rýchlostnej konštante ( $k$ ) pseudo-prvého rádu, berúc do úvahy meranú  $T_1$  relaxáciu  $\text{P}_i$  ( $T_1^{\text{app}}$ ), meranú počas saturácie signálu  $\gamma$ -ATP [141]:

$$k = \frac{\left(1 - \frac{M_z}{M_0}\right)}{T_1^{\text{app}}} \quad (28)$$

Prirodzenú  $T_1^{\text{int}}$ , ak je predmetom záujmu, je možné vypočítať pomocou  $k$  a  $T_1^{\text{app}}$  nasledovne:

$$\frac{1}{T_1^{\text{int}}} = \frac{1}{T_1^{\text{app}}} - k \quad (29)$$

Pseudo alebo zjavné označenie rýchlostnej konštanty prvého rádu  $k$  sa používa, pretože študovaná reakcia je enzymatická a jej rýchlostná konštanta je vypočítaná z experimentu ST komplexnou funkciou reaktantov a produktov a ako taká nemá priamy význam ako pri neenzymatickej reakcii [140]. Metabolický tok ( $F$ ) je daný súčinom  $k$  a koncentrácie  $P_i$ :

$$F = k \cdot [P_i] \quad (30)$$

Pretože chemická výmena  $P_i - ATP$  v kostrovom svale sa líši od výmeny v pečeni [142], je potrebné použiť špeciálnu lokalizačnú techniku, aby sa zabránilo kontaminácii signálu z brušných svalov. Ďalej kvôli zvýšenej vzdialenosti od povrchu tela a relatívne nízkym koncentráciám metabolitov v pečeni vyžaduje úplné ST vyšetrenie v ľudskej pečeni rozsiahle priemerovanie signálov, a teda dlhú dobu vyšetrenia. Požadované doby merania na klinických MR systémoch (t.j. 3T) sú teda až 1,5 - 2 h [23,142]. Čas vyšetrenia je možné významne skrátiť cca na  $\sim 25$  minút, s relatívne vysokou opakovateľnosťou, ak sa pečňové merania  $^{31}P$ -MRS ST uskutočňujú na 7T [24,143]. Počiatočné štúdie u pacientov zaznamenali znížený metabolický tok  $P_i - ATP$  v pečeni spôsobený zníženými koncentraciami  $P_i$  u pacientov s diabetom typu II v porovnaní so zdravými kontrolami [144], ako aj u pacientov s nealkoholickou steatohepatitídou v porovnaní so zdravými kontrolami a pacientmi s jednoduchou steatózou [24,145].



### 3.3 Hepatálna in vivo $^{13}\text{C}$ -MRS

Veľká spektrálna disperzia, prítomnosť uhlíkových jadier v takmer každej organickej štruktúre a nenulový spin jadier uhlíka-13 ( $^{13}\text{C}$ ) robia zo spektroskopie  $^{13}\text{C}$  MRS vhodnú metódu na štúdium molekulárnej štruktúry a biochémie. Dynamické hodnotenie biochemických dráh metabolitov tvorí základ súčasnej aplikácie  $^{13}\text{C}$  MRS u ľudí.

Vzhľadom na rôzne magnetické vlastnosti  $^{13}\text{C}$  v porovnaní s protónmi ( $\gamma_{^{13}\text{C}} = 10,705 \text{ MHz/T}$ ) je rezonančná frekvencia  $^{13}\text{C}$  pri danom magnetickom poli približne štvrtinová k frekvencii protónov. Preto, podobne ako v prípade  $^{31}\text{P}$ , systém MRS používaný pre  $^{13}\text{C}$  MRS musí byť vybavený širokopásmovou rádiovfrekvenčnou (RF) elektronikou a dedikovanými  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  RF cievkami.

Druhým dôsledkom nižšieho gyromagnetického pomeru je nízka vnútorná citlivosť  $^{13}\text{C}$  MRS (približne 1,6 % v porovnaní s  $^1\text{H}$ ), čo v kombinácii s nízkym prirodzeným výskytom jadier  $^{13}\text{C}$  (1,1 %) brzdí priestorové a časové rozlíšenie experimentov  $^{13}\text{C}$  MRS. Na prekonanie tohto problému sa používa objem záujmu niekoľko stoviek mililitrov. Detekčný limit v  $^{13}\text{C}$  MR spektrách je asi 20 - 50 mmol /l tkaniva bez umelého obohatenia pozorovaných metabolitov. Medzi techniky na zvýšenie pomeru signálu k šumu (SNR)  $^{13}\text{C}$  MRS patrí: (i) použitie špeciálnych  $^1\text{H}$  (decoupling) cievok a impulzov na elimináciu interakcie spin-spinovej väzby medzi  $^{13}\text{C}$ -jadrami a okolitými protónmi; (ii) použitie interakcie  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  s technikami prenosu polarizácie na zosilnenie signálu; (iii) použitie systémov MRS s vyššou intenzitou poľa; (iv) spriemerovanie signálu MRS pomocou vysokého počtu opakovaní; (vii) zvýšenie nadbytku izotopu  $^{13}\text{C}$  systémovou infúziou metabolitov značených  $^{13}\text{C}$  a (viii) infúziou hyperpolarizovaných molekúl  $^{13}\text{C}$  (t.j. pyruvátu). Ďalší popis  $^{13}\text{C}$  MRS metód presahuje rámec tejto habilitačnej práce a môžu byť dohľadane napr. v [14].

## **4 Originálne peer-reviewed práce autora**

Nasledujúca časť prezentuje peer-review originálne práce autora, ktoré demonštrujú jeho vedecký prínos k prezentovanej problematike.

#### **4.1 Práca č. 1: Trojrozmerné vysoko rozlíšené spektroskopické zobrazovanie pre absolútnu kvantifikáciu <sup>31</sup>P metabolitov v ľudskej pečeni**

**IF=3,858**

**Chmelík M**, Schmid AI, Gruber S, Szendroedi J, Krššák M, Trattnig S, Moser E, Roden M. Three-dimensional high-resolution magnetic resonance spectroscopic imaging for absolute quantification of <sup>31</sup>P metabolites in human liver. *Magn Reson Med.* 2008;60(4):796-802. doi:10.1002/mrm.21762

**Full text link:** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrm.21762>

Prvá práca prezentuje metodológiu nového vylepšeného protokolu pre neinvazívnu in vivo absolútnu kvantifikáciu (stanovovanie koncentrácií metabolitov)  $^{31}\text{P}$  metabolitov v ľudskej pečeni. Protokol používa trojrozmerné (3D) spektroskopické zobrazenie (MRSI) s adiabatickým RF pulzom necitlivým na  $B_1$  nehomogenity, ktoré sú prítomné pri používaní povrchových excitačných cievok. Lokalizácia a absolútna kvantifikácia intracelulárnych koncentrácií metabolitov obsahujúcich  $^{31}\text{P}$  umožňuje sledovať regionálny metabolizmus v pečeni, ktorého zmeny korelujú s dysfunkciou pečene. Protokol umožňuje vysoké priestorové rozlíšenie  $17,8 \pm 0,22 \text{ cm}^3$  za 34 minút na 3 T. Geometria protokolu bola rovnaká pre všetky merania, takže rovnaké kalibračné dáta získané z merania na referenčnom fantóme boli použité pre všetky in vivo kvantifikácie.

Protokol bol testovaný na 10 mladých, zdravých dobrovoľníkoch. Koncentrácie na liter objemu pečene a reprodukovateľnosť (v zátvorkách) boli nasledovné: pre fosfomonoestery (PME)  $2,24 \pm 0,10 \text{ mmol / l}$  (1,8%),  $1,37 \pm 0,07 \text{ mmol / l}$  (7,9%) pre anorganický fosfát (Pi),  $11,40 \pm 0,96 \text{ mmol / l}$  (2,9%) pre fosfodiester (PDE) a  $2,14 \pm 0,10 \text{ mmol / l}$  (1,6%) adenoíntrifosfátu (ATP).

Tento prístup poskytuje rýchlu, jednoduchú a reprodukovateľnú in vivo kvantifikáciu koncentrácií a mapovanie priestorovej distribúcie  $^{31}\text{P}$  pečňových metabolitov. Táto metóda umožňuje skúmať regionálne odchýlky energetického metabolizmu pri ochoreniach pečene u ľudí, čo bolo demonštrované v druhej práci u pacientov s diabetom typu 2.

## **4.2 Práca č. 2: Abnormálna hepatálna energetická homeostáza u diabetu typu 2**

**IF=14,971**

**Szendroedi J\***, **Chmelik M\***, Schmid AI, Nowotny P, Brehm A, Krssak M, Moser E, Roden M. Abnormal hepatic energy homeostasis in type 2 diabetes. *Hepatology*. 2009;50(4):1079-1086. doi:10.1002/hep.23093

**\*rovnocenne prispievajúci prví autori**

**Full text link:** <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.23093>

Zvýšené hepatocelulárne lipidy súvisia s inzulínovou rezistenciou a sú typické pre jedincov s diabetes mellitus 2. typu (T2DM). Steatóza a T2DM boli navyše spojené so zhoršeným metabolizmom svalového adenosíntrifosfátu (ATP). V druhej práci sme testovali hypotézu, či by mohol byť narušený energetický metabolizmus v pečeni dokonca aj v metabolicky dobre kontrolovanom T2DM. Pomocou neinvazívnej  $^1\text{H}$  magnetickej rezonančnej spektroskopie (MRS) sme zmerali objemovú frakciu pečňových lipidov (HLVF) a pomocou  $^{31}\text{P}$  MRS absolútne koncentrácie ATP, anorganického fosfátu (Pi), fosfomonoesterov a fosfodiesterov osôb s T2DM ( $58 \pm 6$  rokov,  $27 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup>) a vekovo zhodných a BMI zhodných zdravých dobrovoľníkov (mCON;  $61 \pm 4$  roky,  $26 \pm 4$  kg/m<sup>2</sup>) a mladých štíhlych dobrovoľníkov (yCON;  $25 \pm 3$  roky,  $22 \pm 2$  kg/m<sup>2</sup>,  $P < 0,005$ ,  $P < 0,05$  verzus T2DM a mCON). Inzulínom riadená likvidácia celotelovej glukózy (M) a produkcia endogénnej glukózy (iEGP) sa hodnotili počas euglykemicko-hyperinzulinemických vynútených stavov. Jednotlivci s T2DM mali o 26 % a 23 % nižšiu ATP ( $1,68 \pm 0,11$ ;  $2,26 \pm 0,20$ ;  $2,20 \pm 0,09$  mmol/l;  $P < 0,05$ ) ako jednotlivci mCON a yCON. Ďalej mali o 28 % a 31 % nižšie Pi ako jednotlivci zo skupín mCON a yCON ( $0,96 \pm 0,06$ ;  $1,33 \pm 0,13$ ;  $1,41 \pm 0,07$  mmol/l;  $P < 0,05$ ). Fosfomonoestery, fosfodiestery a pečňové aminotransferázy sa nelíšili medzi skupinami. HLVF sa nelíšili od hodnôt T2DM a mCON skupiny, ale boli vyššie ( $P = 0,002$ ) ako v skupine yCON. T2DM mali 13-krát vyššiu iEGP ako mCON ( $P < 0,05$ ). Aj po úprave na HLVF, hepatický ATP a Pi mali negatívny vzťah k hepatickej inzulínovej senzitivite (iEGP) ( $r = 0,665$ ,  $P = 0,010$ ,  $r = 0,680$ ,  $P = 0,007$ ), ale nie k celotelovej senzitivite na inzulín.

Tieto údaje naznačujú, že zhoršený metabolizmus v pečeni a inzulínová rezistencia by mohli predchádzať rozvoju steatózy u jedincov s T2DM.

### **4.3 Práca č. 3: In vivo <sup>31</sup>P spektroskopia pomocou plne adiabatickej rozšírenej obrazom selektovanej in vivo spektroskopie: Porovnanie medzi 3T a 7T.**

**IF=3,858**

Bogner W, **Chmelik M**, Andronesi OC, Sorensen AG, Trattnig S, Gruber S. In vivo <sup>31</sup>P spectroscopy by fully adiabatic extended image selected in vivo spectroscopy: A comparison between 3 T and 7 T. *Magn Reson Med.* 2011;66(4):923-930. doi:10.1002/mrm.22897

**Full text link:** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrm.22897>

V tejto práci prezentujeme nový inovatívny protokol obrazom selektovanej in vivo spektroskopie (ISIS) pre lokalizovanú (jednovoxlovú)  $^{31}\text{P}$  magnetickú rezonančnú spektroskopiu na 7 T. Pre zníženie chyby v presnosti lokalizácie sme použili adiabatickú excitáciu a „gradient offset“ nezávislé adiabatické inverzné pulzy (GOIA) a špeciálnu rozšírenú ISIS schému. Presnosť lokalizácie bola skúmaná vo fantómoch. Kvalita spektroskopie a reprodukovateľnosť boli testované in vivo u dobrovoľníka (mozog, sval a pečeň). Porovnanie medzi 3 T a 7 T sa uskutočnilo u piatich dobrovoľníkov. Adiabatický rozšírený ISIS poskytol vysokú spektrálnu kvalitu a presnú lokalizáciu, kontaminácia pri fantómových experimentoch bola iba  $\sim 5\%$ , aj keď bola vybraná doba pulzného opakovania  $\text{TR} \sim 1,2 T_1$  na maximalizáciu pomeru signálu k šumu za jednotku času. Vysoká reprodukovateľnosť bola nájdená lítkovom svale pre 2,5 cm izotropické voxely pri 7 T. V porovnaní s 3 T, lokalizovaná  $^{31}\text{P}$  MR spektroskopia v lítkovom svale človeka pri 7 T poskytla  $\sim 3,2$ -násobne vyšší pomer signálu k šumu (podľa hodnotenia fosfokreatínu). Pri 7 T a veľkosti izotropických voxlov  $\sim 2,5$  až 3 cm umožnil rozšírený ISIS vysoko kvalitnú lokalizovanú  $^{31}\text{P}$  MR spektroskopiu za krátky čas merania ( $\sim 3$  až 4 minúty). S takýmito krátkymi časmi merania, má lokalizovaná  $^{31}\text{P}$  MR spektroskopia potenciál byť aplikovaná nielen na výskumné účely, ale aj pre rutinnú klinickú prax.



#### **4.4 Práca č. 4: Plne adiabatické <sup>31</sup>P 2D-CSI zobrazovanie s redukovanou lokalizačnou chybou chemického posunu na 7T — GOIA-1D-ISIS/2D-CSI**

**IF=3,858**

**Chmelík M**, Just Kukurová I, Gruber S, Krššák M, Valkovič L, Trattnig S, Bogner W. Fully adiabatic <sup>31</sup>P 2D-CSI with reduced chemical shift displacement error at 7 T - GOIA-1D-ISIS/2D-CSI. *Magn Reson Med.* 2013;69(5):1233-1244. doi:10.1002/mrm.24363

**Full text link:** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrm.24363>

Štvrtá práca prezentuje novú inovatívnu mnohovoxelovú lokalizačnú techniku 2D  $^{31}\text{P}$  MR spektroskopického zobrazovania (MRSI). Podobne ako v tretej práci, na prekonanie technických problémov, ako je lokalizačná chyba rozdielneho chemického posunu kvôli selekcii vrstvy pomocou gradientu, bol použitý širokospektrálny inverzný GOIA pulz.

Metóda umožňuje 2D priestorové mapovanie  $^{31}\text{P}$  metabolitov v pečeni, ale aj v iných tkanivách (sval, mozog) za klinicky akceptovateľný čas. Navrhovaná metóda využíva kombináciu selekcie vrstvy pomocou ISIS techniky, ktorá je doplnená o fázové kódovanie v ďalších dvoch rozmeroch. Túto metódu sme nazvali goISICS. Navrhovaná metóda profituje zo zvýšeného pomeru signál/šum a lepšieho spektrálneho rozlíšenie na 7T. Metóda vďaka použitiu adiabatického excitačného pulzu minimalizuje problémy nehomogénneho excitačného poľa spojeného s používanými povrchovými RF cievkami. Kvalita lokalizácie goISICS bola porovnaná s konvenčným 2D spektroskopickým zobrazovaním, bežne používaným na MR skeneroch s nižším magnetickým poľom  $\leq 3\text{T}$ .

#### **4.5 Práca č. 5: Mapovanie sklápacieho uhla $^{31}\text{P}$ RF cievok pomocou ustáleného MR spektroskopického zobrazovania.**

**IF=3,732**

**Chmelík M**, Považan M, Jírů F, Kukurová IJ, Dezortová M, Krššák M, Bogner W, Hájek M, Trattinig S, Valkovič L. Flip-angle mapping of  $^{31}\text{P}$  coils by steady-state MR spectroscopic imaging. *J Magn Reson Imaging*. 2014;40(2):391-397. doi:10.1002/jmri.24401

**Full text link:** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmri.24401>

Piata práca prezentuje dizajn novej jednoduchej, rýchlej a univerzálnej metódy mapovania  $B_1$  polí  $^{31}\text{P}$  rádionfrekvenčných (RF) cievok. Spektroskopické zobrazovanie fosforových metabolitov ( $^{31}\text{P}$ -MRSI) sa primárne používa s citlivými povrchovými RF cievkami, ktoré poskytujú nehomogénne excitačné RF pole ( $B_1^+$ ) a hrubú lokalizáciu kvôli ich senzitívnemu profilu ( $B_1^-$ ). Precízne a časovo náročné nastavenie pulzu a presná znalosť sklápacích uhlov (FA) sú nutné pre korekcie v rámci kvantifikácie MRS.

Navrhnutá metóda mapovania využíva rýchle MRSI v ustálenom stave steady state (zvyčajne jedna šestina normálneho času merania), ktoré sa meria navyše k obvyklému MRSI v rámci bežného meracieho protokolu. FA mapy sa vypočítajú z pomeru intenzít signálu získaného týmito dvoma meraniami a môžu byť použité na korekciu nehomogenít  $B_1$ .

Metóda bola testovaná na dvoch skeneroch (3 a 7 Tesla) pomocou povrchovej a objemovej cievky. Vypočítané FA mapy boli v dobrej zhode s nastavenými nominálnymi FA a teoretickými výpočtami pomocou Biot-Savartovho zákona. Táto metóda bola úspešne otestovaná in vivo v lýtkovom svale a mozgu zdravých dobrovoľníkov (N=4). Korigované mapy metabolitov vykazujú vyššiu homogenitu v porovnaní s ich neopravenými verziami. Vypočítané mapy FA pomohli s korekciami nehomogenity získaných dát in vivo a môžu byť užitočné aj pri optimalizácii a nových RF pulzov alebo pri testoch kvality konštrukcie nových dvojkanálových  $^1\text{H}$  /  $^{31}\text{P}$  cievok.

#### **4.6 Práca č. 6: In vivo <sup>31</sup>P magnetická rezonančná spektroskopia ľudskej pečene na 7T: Úvodné skúsenosti.**

**IF=3,414**

**Chmelik M**, Považan M, Krššák M, Gruber S, Tkačov M, Trattnig S, Bogner W. In vivo <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy of the human liver at 7T: An initial experience. *NMR Biomed.* 2014;27(4):478-485. doi:10.1002/nbm.3084

**Full text link:**

<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/nbm.3084>

Šiesta práca demonštruje použitie nových techník prezentovaných v tretej a štvrtej práci a dvoch konvenčných  $^{31}\text{P}$  MRS lokalizačných techník na 7T v pečeniach deviatich dobrovoľníkov (selekcia vrstvy - 1D-ISIS a trojrozmerné spektroskopické zobrazovanie). Jednotlivé techniky snímajú rôzne veľké objemy tkaniva pečene a trvajú rozlične dlhý čas. Techniky po normalizácii objemov a snímacích časov poskytli porovnateľný pomer signál - šum za jednotkový čas. Práca tiež prezentuje merania  $T_1$  relaxačných časov pečenejších  $^{31}\text{P}$  metabolitov na 7T, ktoré sú potrebné pre optimalizáciu meracích protokolov a korekcie potrebné pre kvantifikáciu dát.

Zlepšené spektrálne rozlíšenie na 7T umožňuje lepšiu separáciu signálov monoesterov a diesterov a tiež umožňuje pozorovanie ďalšieho metabolitu, ktorý bol v minulosti považovaný za fosfoenolpyruvát. Dôkaz o tom, že tento signál pochádza z fosfatidylcholínu je prezentovaný v siedmom článku tejto práce.

#### **4.7 Práca č. 7: Fosfatidylcholín prispieva k in vivo <sup>31</sup>P MRS signálu z ľudskej pečene.**

**IF=4,027**

**Chmelík M**, Valkovič L, Wolf P, Bogner W, Gajdošík M, Halilbasic E, Gruber S, Trauner M, Krebs M, Trattnig S, Krššák M. Phosphatidylcholine contributes to in vivo <sup>31</sup>P MRS signal from the human liver. *Eur Radiol.* 2015;25(7):2059-2066. doi:10.1007/s00330-014-3578-y

**Full text link:** <https://link.springer.com/article/10.1007/s00330-014-3578-y>

Siedma práca prináša prvý dôkaz o výraznom signále fosfatidylcholínu zo žlče v pečňových  $^{31}\text{P}$  MRS spektrách. Tento signál bol doteraz považovaný za signál fosfoenolpyruvátu. Naše *in vitro* dáta získané z chemických roztokov ukázali závislosť chemického posunu (polohy signálu v spektre) fosfoenolpyruvátu od pH a tiež možný prekryv signálov fosfoenolpyruvátu a fosfatidylcholínu pri fyziologickom pH. Retrospektívna analýza *in vivo* dát z 7T ukázala dominantný signál na polohe 2.06 ppm, ktorý pochádza zo žlčníka a teda z fosfatidylcholínu v žlči. Tento signál sme pozorovali aj v spektrách z pečene, kde predpokladáme, že signál môže reprezentovať aj fosfatidylcholín v žľčovodoch a aj fosfoenolpyruvát. Väčší príspevok by mal byť z fosfatidylcholínu kvôli jeho väčšej koncentrácii.

*In vivo*  $^{31}\text{P}$  MRS má potenciál neinvazívne monitorovať vnútro pečňový fosfatidylcholín a určovať jeho koncentráciu.



**4.8 Práca č. 8: Aplikácia lokalizovaného saturačného transferu na 7T pre meranie ATP metabolizmu v pečeni. Reproducibilita a počiatková klinická aplikácia u pacientov s nealkoholickou tukovou pečeňou.**

**IF=4,027**

Valkovič L, Gajdošík M, Traussnigg S, Wolf P, **Chmelík M**, Kienbacher C, Bogner W, Krebs M, Trauner M, Trattnig S, Trattnig S, Krššák M. Application of localized <sup>31</sup>P MRS saturation transfer at 7 T for measurement of ATP metabolism in the liver: Reproducibility and initial clinical application in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Eur Radiol.* 2014;24(7):1602-1609. doi:10.1007/s00330-014-3141-x

**Full text link:** <https://link.springer.com/article/10.1007/s00330-014-3141-x>

Ôsma práca sa zaoberá využitím  $^{31}\text{P}$ -MRS saturačného prenosu (ST), ktorý umožňuje in vivo pohľad na energetický metabolizmus, ktorým by sa mohli identifikovať v súčasnosti biopsiou diagnostikované ochorenia pečene. Táto štúdia hodnotila reprodukovateľnosť lokalizovaného  $^{31}\text{P}$ -MRS ST v pečeni na 7 T a testoval sa jej potenciál pre neinvazívne diferencovanie nealkoholickej tukovej pečene (NAFL) a nealkoholickej steatohepatitídy (NASH).

Reprodukovateľnosť metódy lokalizovaného  $^{31}\text{P}$ -MRS ST na 7 T a biologická variácia získaných metabolických parametrov pečene boli hodnotené u zdravých dobrovoľníkov a následne u 16 podozrivých z NAFL / NASH. Pacienti sa podrobili meraniam MRS a diagnostickej biopsii pečene. Porovnali sa parametre chemickej výmeny Pi-ATP medzi skupinami pomocou testu Mann – Whitney U a vzťahnuté na obsah tuku v pečeni stanoveným  $^1\text{H}$  MRS na 3T.

Priemerná rýchlostná konštanta ( $k$ ) u zdravých dobrovoľníkov bola  $0,31 \pm 0,03 \text{ s}^{-1}$  s variačným koeficientom 9,0 %. Výrazne nižšie konštanty  $k$  ( $p < 0,01$ ) boli zistené u pacientov s NASH ( $k = 0,17 \pm 0,04 \text{ s}^{-1}$ ) pri porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi a pacientami s NAFL ( $k = 0,30 \pm 0,05 \text{ s}^{-1}$ ). Významná korelácia bola zistená medzi hodnotou  $k$  a obsahom pečenevého tuku ( $r = 0,824$ ,  $p < 0,01$ ).

Záver tejto práce naznačujú, že technika  $^{31}\text{P}$ -MRS ST je nástrojom na získanie pohľadu do ATP metabolizmu v pečeni a mohla by prispieť k neinvazívnej diferenciacii NAFL a NASH.

#### **4.9 Práca č. 9: In-vivo <sup>31</sup>P MRS kostrového svalstva a pečene: cesta k neinvazívnemu hodnoteniu ich metabolizmu.**

**IF=2,507 Review**

Valkovič L, **Chmelík M**, Krššák M. In-vivo <sup>31</sup>P-MRS of skeletal muscle and liver: A way for non-invasive assessment of their metabolism. *Anal Biochem.* 2017;529:193-215. doi:10.1016/j.ab.2017.01.018

**Full text link:**

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269717300398?via%3Dihub>

Deviata práca je review článok, v ktorom sme zosumarizovali aktuálne možnosti využitia in vivo  $^{31}\text{P}$  MRS pre základný fyziologický a klinický výskum ľudských kostrových svalov a pečene. Okrem priameho hodnotenia vysoko energetických fosforových metabolitov v tkanivách, fosforová magnetická rezonančná spektroskopia ( $^{31}\text{P}$ -MRS) poskytuje možnosti na meranie fosfolipidových metabolitov a bunkového pH, ako aj kinetiku chemických reakcií energetického metabolizmu in vivo.

Aj keď veľký potenciál  $^{31}\text{P}$ -MRS bol uznaný pred viac ako 30 rokmi, moderné systémy MR, rovnako ako nové špecializované hardvérové a meracie techniky, poskytujú ďalšie príležitosti na výskum ľudskej biochémie. Tento review článok predstavuje metodický prehľad techník  $^{31}\text{P}$ -MRS, ktoré sa dajú použiť na základný fyziologický alebo klinický výskum ľudských kostrových svalov a pečene in vivo. Poskytnuté sú aj praktické informácie o experimentoch  $^{31}\text{P}$ -MRS a príklady potenciálnych aplikácií.

Keďže lokalizácia signálu je nevyhnutná pre pečeň (kvôli kontaminácii signálu inými tkanivami ako sval a žľezník) a je dôležitá pre dynamické vyšetrenie svalov, v práci sú tiež opísané typické lokalizačné stratégie pre  $^{31}\text{P}$ -MRS.

**4.10 Práca č. 10: Absolútna kvantifikácia fosfor obsahujúcich metabolitov v pečeni s použitím <sup>31</sup>P MRSI a korekcia na objem hepatálneho tuku na 7T nenaznačuje závislosť od BMI a veku.**

**IF=3,732**

Pfleger L, Gajdošík M, Wolf P, Smajis S, Fellingner P, Kuehne A, Krumpolec P, Trattnig S, Winhofer Y, Krebs M, Krššák M, **Chmelík M**. Absolute Quantification of Phosphor-Containing Metabolites in the Liver Using <sup>31</sup>P MRSI and Hepatic Lipid Volume Correction at 7T Suggests No Dependence on Body Mass Index or Age. *J Magn Reson Imaging*. 2019;49(2):597-607. doi:10.1002/jmri.26225

**Full text link:** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmri.26225>

Desiata práca predstavuje implementáciu metódy kvantifikácie koncentrácií metabolitov fosforu na MRI skeneri s magnetickým poľom 7T. Ich hodnoty sú často zmenené pri ochoreniach pečene. Absolútna kvantifikácia ponúka spôsob, ako priamo hodnotiť tieto metabolity, no jej použitie pri vyšších intenzitách magnetického poľa ( $B_0 \geq 7T$ ) je komplikované viacerými prekážkami. Cieľom tejto práce bolo zaviesť uskutočniteľnú metódu pre absolútnu kvantifikáciu pečňových metabolitov  $^{31}P$  in vivo a vyhodnotiť jej klinickú hodnotu zisťovaním rozdielov týkajúcich sa veku dobrovoľníka a indexu telesnej hmotnosti (BMI).

Do štúdie reprodukovateľnosti sme zaradili štyroch zdravých dobrovoľníkov. 19 zdravých jedincov bolo rozdelených do troch podskupín podľa BMI a veku na sledovanie ich rozdielov. Fantómy obsahujúce roztok  $^{31}P$  boli použité na korekcie a validáciu metódy. Použili sme 7T MR skener, 3D spektroskopické zobrazovanie pre  $^{31}P$  a jednu objemovú  $^1H$  spektroskopiu na stanovenie obsahu hepatocelulárnych lipidov. Pre kvantifikáciu boli použité kalibračné dáta získané z fantómu známej koncentrácie. Spektrá nachádzajúce sa v pečeni s dostatočným pomerom signálu k šumu a žiadnou kontamináciou svalovým tkanivom sa použili na výpočet nasledujúcich koncentrácií metabolitov: adenzíntrifosfáty ( $\gamma$ - a  $\alpha$ -ATP); glycerofosfocholín (GPC); glycerofosfoetanolamín (GPE); anorganický fosfát (Pi); fosfocholín (PC); fosfoetanolamín (PE); uridín difosfát-glukóza (UDPG); nikotínamid adenín dinukleotid-fosfát (NADH); a fosfatidylcholín (PtdC). Výsledky boli korigované podľa objemovej frakcie pečňových lipidov (HLVF). Rozdiely boli vyhodnotené analýzou rozptylu s Bonferroniho korekciou pre viacnásobné porovnanie a v prípade potreby študentovým t-testom. Koncentrácie pre skupinu mladých chudých dobrovoľníkov korigované na HLVF boli  $2,56 \pm 0,10$  mM pre  $\gamma$ -ATP (stredná  $\pm$  štandardná odchýlka),  $\alpha$ -ATP:  $2,42 \pm 0,15$  mM, GPC:  $3,31 \pm 0,27$  mM, GPE:  $3,38 \pm 0,87$  mM, Pi:  $1,42 \pm 0,20$  mM, PC:  $1,47 \pm 0,24$  mM, PE:  $1,61 \pm 0,20$  mM, UDPG:  $0,74 \pm 0,17$  mM, NADH:  $1,21 \pm 0,38$  mM a PtdC:  $0,43 \pm 0,10$  mM.

Rozdiely zistené v hladinách ATP medzi chudými a obéznymi dobrovoľníkmi sa stratili po korekcii HLVF.

#### **4.11 Práca č. 11: Koncentrácia fosfatidylcholínu v žlčníku pri cholangiopatiách: <sup>31</sup>P MRS Pilotná štúdia.**

**IF=3,732**

Pfleger L, Halilbasic E, Gajdošík M, Benčíková D, **Chmelík M**, Scherer T, Trattnig S, Krebs M, Trauner M, Krššák M. Concentration of Gallbladder Phosphatidylcholine in Cholangiopathies: A Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopy Pilot Study. *J Magn Reson Imaging*. 2022 Feb;55(2):530-540. doi: 10.1002/jmri.27817.

**Full text link:** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmri.27817>

Cieľom jedenástej práce bolo porovnanie hladín biliárneho fosfatidylcholínu (PtdC) skupín cholangiopatických pacientov s kontrolnou skupinou zdravých jedincov. Práca vychádza z metódy popísanej v siedmom článku tejto habilitačnej práce. Vychádza z predpokladov, že koncentrácia biliárneho fosfatidylcholínu hrá úlohu v patogenéze ochorení žlčových ciest a in vivo  $^{31}\text{P}$ -MRS pri 7 T ponúka možnosť stanoviť jeho koncentráciu neinvazívne s vysokým spektrálnym rozlíšením a intenzitou signálu.

Porovnané boli dve skupiny pacientov s primárnou sklerotizujúcou cholangitídou (PSC, 2f/3 m; vek:  $43 \pm 7$  rokov) a primárnou biliárnou cholangitídou (PBC, 4f/2 m; vek:  $57 \pm 6$  rokov) a zdravá kontrolná skupina (CON, 2f/3 m; vek:  $38 \pm 7$  rokov). Desať zdravých jedincov bolo meraných na určenie relaxačného času  $T_1$  PtdC.

Využitá bola 3D fázovo kódovaná pulzná sekvencia  $^{31}\text{P}$ -MRSI na kvantifikáciu PtdC a 1D ISIS in vivo  $^{31}\text{P}$  spektroskopie pre odhad  $T_1$  na 7 T a  $T_2$  vážená HASTE MRI sekvencia pre volumetriu na 3 T. Bol realizovaný výpočet objemov žlčníka a koncentrácie PtdC v skupinách s použitím signálu gama-adenozíntrifosfátu v pečeni ako internej referencie a korekcie na nedostatočnú relaxáciu PtdC s hodnotou  $T_1$  získanou zo zdravých jedincov.

Obsah PtdC a objem žlčníka boli porovnané pomocou Studentových t-testov s hladinou významnosti 5 %.

Zistená bola hodnota PtdC  $T_1$   $357 \pm 85$  ms v žlčníku, významne nižší obsah PtdC pre skupinu PSC a pre ženskú podskupinu skupiny PBC v porovnaní so skupinou CON (PSC/CON:  $5,74 \pm 0,73$  mM oproti  $9,64 \pm 0,97$  mM, PBC(f)/CON:  $5,77 \pm 1,44$  mM oproti  $9,64 \pm 0,97$  mM). Významne vyššie objemy žlčníka v skupinách pacientov v porovnaní so skupinou CON (PSC/CON:  $66,3 \pm 15,8$  ml vs.  $20,9 \pm 2,2$  ml, PBC/CON:  $49,8 \pm 18,2$  ml vs.  $20,9 \pm 2,2$  ml).

Táto štúdia demonštrovala aplikáciu protokolu  $^{31}\text{P}$ -MRSI na kvantifikáciu PtdC v ľudskom žlčníku na 7 T. Pozorované rozdiely v koncentrácii PtdC naznačujú, že tento metabolit by mohol slúžiť ako biomarker pre špecifické hepatobiliárne poruchy.



## 5 Záver

Predkladaná habilitačná práca sumarizuje implementáciu a využitie *in vivo*  $^{31}\text{P}$  MR spektroskopie v ľudskom hepatobiliárnom systéme na 3T a 7T.

Autorov prínos k téme je dokumentovaný 11 peer-reviewed prácami. Prezentované sú technické špecifiká *in vivo* MRS na ultravysokom magnetickom poli 7T a aj spôsob, ako je potrebné lokalizačné MRS sekvencie upraviť. Zmeny v dizajne lokalizačných sekvencií sú potrebné, aby benefity 7T prevýšili problémy, ktoré *in vivo* aplikácie na takýchto MRI skeneroch prinášajú. Správne implementované MR techniky na 7T benefitujú z ultravysokého magnetického poľa zvýšenou senzitivitou a signálovou špecifitou. Tieto výhody sú zvyčajne premenené na lepšiu lokalizáciu spektroskopického objemu [105,146,147] a/alebo na lepšie experimentálne časové rozlíšenie [105,146]. Kratšie meracie časy môžu viesť k zložitejším kombináciám MRS meraní. Príkladom takéhoto merania môže byť meranie chemickej výmeny medzi Pi a ATP pomocou techniky magnetického transferu. Aplikácia tejto metódy ukázala spojitosť medzi zníženou výmenou a zvýšenou akumuláciou pečeňového tuku u pacientov s nealkoholickou steatózou pečene – NAFLD [24].

Predkladané práce spolu s technickými novinkami, ako sú napr. mnohokanálové cievky s ešte lepším pomerom signál/šum a s lepším pokrytím celého hepatobiliárneho systému [148,149] budú slúžiť ako základ pre ďalšie neinvazívne štúdie metabolizmu hepatobiliárneho systému pomocou  $^{31}\text{P}$  MRS na vysokých a ultra-vysokých magnetických poliach a prinesú nové odpovede na otázky spojené s jeho metabolizmom.

## 6 Zoznam použitej literatúry

1. McRobbie DW, Moore EA, Graves MJ. MRI from picture to proton. Cambridge: Cambridge University Press; 2017. doi: 10.2214/ajr.182.3.1820592.
2. Szendroedi J, Chmelik M, Schmid AI, Nowotny P, Brehm A, Krssak M, Moser E, Roden M. Abnormal hepatic energy homeostasis in type 2 diabetes. *Hepatology* 2009;50:1079–1086. doi: 10.1002/hep.23093.
3. Meyerspeer M, Boesch C, Cameron D, et al. 31P magnetic resonance spectroscopy in skeletal muscle: Experts' consensus recommendations. *NMR Biomed.* 2020. doi: 10.1002/nbm.4246.
4. Gupta RK, Benovic JL, Rose ZB. The determination of the free magnesium level in the human red blood cell by 31P NMR. *J. Biol. Chem.* 1978;253:6172–6176. doi: 10.1016/s0021-9258(17)34595-7.
5. Arias-Mendoza F, Payne GS, Zakian KL, et al. In vivo 31 P MR spectral patterns and reproducibility in cancer patients studied in a multi-institutional trial. *NMR Biomed.* 2006;19:504–512. doi: 10.1002/nbm.1057.
6. Ackerstaff E, Glunde K, Bhujwala ZM. Choline phospholipid metabolism: A target in cancer cells? *J. Cell. Biochem.* 2003;90:525–533. doi: 10.1002/jcb.10659.
7. Klomp DWJ, van de Bank BL, Raaijmakers A, Korteweg MA, Possanzini C, Boer VO, van de Berg CAT, van de Bosch MAAJ, Luijten PR. 31P MRSI and 1H MRS at 7T: Initial results in human breast cancer. *NMR Biomed.* 2011;24:1337–1342. doi: 10.1002/nbm.1696.
8. Dezortova M, Taimr P, Skoch A, Spicak J, Hajek M. Etiology and functional status of liver cirrhosis by 31P MR spectroscopy. *World J. Gastroenterol.* 2005;11:6926–6931. doi: 10.3748/wjg.v11.i44.6926.
9. Forlenza O V., Wacker P, Nunes P V., Yacubian J, Castro CC, Otaduy MCG, Gattaz WF. Reduced phospholipid breakdown in Alzheimer's brains: A 31P spectroscopy study. *Psychopharmacology (Berl).* 2005;180:359–365. doi: 10.1007/s00213-005-2168-8.
10. Lauterbur PC. Image formation by induced local interactions: Examples employing nuclear magnetic resonance. *Nature* 1973;242:190–191. doi: 10.1038/242190a0.
11. Mansfield P, Maudsley AA. Medical imaging by NMR. *Br. J. Radiol.* 1977;50:188–194. doi: 10.1259/0007-1285-50-591-188.
12. Weis J, Bořuta P. Úvod do magnetickej rezonancie. Bratislava: DATEX; 1998.
13. Graaf RA de. *In Vivo NMR Spectroscopy – 2nd Edition: Principles and Techniques.* Wiley; 2007.
14. Graaf RA de. *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques, 3rd Edition.* Wiley; 2019.
15. Hanson LG. Is quantum mechanics necessary for understanding magnetic resonance? *Concepts Magn. Reson. Part A Bridg. Educ. Res.* 2008;32:329–340. doi: 10.1002/cm.r.a.20123.
16. Atkins P.W. *Fyzikálna chémia.* STU Bratislava; 1999.
17. Bogner W, Chmelik M, Schmid AI, Moser E, Trattinig S, Gruber S. Assessment of <sup>31</sup>P relaxation times in the human calf muscle: A comparison between 3 T and 7 T in vivo. *Magn.*

Reson. Med. 2009;62:574–582. doi: 10.1002/mrm.22057.

18. Chmelík M, Považan M, Jírů F, Kukurová IJ, Dezortová M, Krššák M, Bogner W, Hájek M, Trattnig S, Valkovič L. Flip-angle mapping of  $^{31}\text{P}$  coils by steady-state MR spectroscopic imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 2014;40:391–397. doi: 10.1002/jmri.24401.

19. Chmelik M, Považan M, Krššák M, Gruber S, Tkačov M, Trattnig S, Bogner W. *In vivo*  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy of the human liver at 7 T: an initial experience. *NMR Biomed.* 2014;27:478–485. doi: 10.1002/nbm.3084.

20. Bogner W, Chmelik M, Andronesi OC, Sorensen AG, Trattnig S, Gruber S. *In vivo*  $^{31}\text{P}$  spectroscopy by fully adiabatic extended image selected in vivo spectroscopy: A comparison between 3 T and 7 T. *Magn. Reson. Med.* 2011;66:923–930. doi: 10.1002/mrm.22897.

21. Befroy DE, Perry RJ, Jain N, Dufour S, Cline GW, Trimmer JK, Brosnan J, Rothman DL, Petersen KF, Shulman GI. Direct assessment of hepatic mitochondrial oxidative and anaplerotic fluxes in humans using dynamic  $^{13}\text{C}$  magnetic resonance spectroscopy. *Nat. Med.* 2014;20:98–102. doi: 10.1038/nm.3415.

22. Chmelik M, Považan M, Krššák M, Gruber S, Tkačov M, Trattnig S, Bogner W. *In vivo*  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy of the human liver at 7T: An initial experience. *NMR Biomed.* 2014;27:478–485. doi: 10.1002/nbm.3084.

23. Schmid AI, Chmelík M, Szendroedi J, Krššák M, Brehm A, Moser E, Roden M. Quantitative ATP synthesis in human liver measured by localized  $^{31}\text{P}$  spectroscopy using the magnetization transfer experiment. *NMR Biomed.* 2008;21:437–443. doi: 10.1002/nbm.1207.

24. Valkovič L, Gajdošík M, Traussnigg S, et al. Application of localized  $^{31}\text{P}$  MRS saturation transfer at 7 T for measurement of ATP metabolism in the liver: Reproducibility and initial clinical application in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Eur. Radiol.* 2014;24:1602–1609. doi: 10.1007/s00330-014-3141-x.

25. Ordidge RJ, Connelly A, Lohman JAB. Image-selected in Vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatially selective nmr spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 1986;66:283–294. doi: 10.1016/0022-2364(86)90031-4.

26. Ljungberg M, Starck G, Vikhoff-Baaz B, Alpsten M, Ekholm S, Forssell-Aronsson E. Extended ISIS sequences insensitive to T1 smearing. *Magn. Reson. Med.* 2000;44:546–555. doi: 10.1002/1522-2594(200010)44:4<546::aid-mrm8>3.0.co;2-7.

27. Bogner W, Chmelik M, Andronesi OC, Sorensen AG, Trattnig S, Gruber S. *In vivo*  $^{31}\text{P}$  spectroscopy by fully adiabatic extended image selected in vivo spectroscopy: A comparison between 3 T and 7 T. *Magn. Reson. Med.* 2011;66:923–930. doi: 10.1002/mrm.22897.

28. Sevastianova K, Hakkarainen A, Kotronen A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: Detection of elevated nicotinamide adenine dinucleotide phosphate with *in vivo* 3.0-T  $^{31}\text{P}$  MR spectroscopy with proton decoupling. *Radiology* 2010;256:466–473. doi: 10.1148/radiol.10091351.

29. Laufs A, Livingstone R, Nowotny B, Nowotny P, Wickrath F, Giani G, Bunke J, Roden M, Hwang JH. Quantitative liver  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy at 3T on a clinical scanner. *Magn. Reson. Med.* 2014;71:1670–1675. doi: 10.1002/mrm.24835.

30. Bogner W, Otazo R, Henning A. Accelerated MR spectroscopic imaging—a review of current and emerging techniques. *NMR Biomed.* 2021;34. doi: 10.1002/nbm.4314.

31. Vidya Shankar R, Chang JC, Hu HH, Kodibagkar VD. Fast data acquisition techniques in magnetic resonance spectroscopic imaging. *NMR Biomed.* 2019;32. doi: 10.1002/nbm.4046.

32. Mohan H. *Patológia. Balneotherma*; 2011.

33. Mráz P, Belej K, Beňuška J, Holomáňová A, Macková M, Šteňová J. *Anatómia ľudského tela 2*. Slovak Academic Press, s.r.o.; 2016.
34. Hlinková E, Nemcová J, Balková M, et al. *Multimediálna e-učebnica Ošetrovateľské postupy v špeciálnej chirurgii*. Univerzita Komenského Bratislava, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, 2015.; 2015.
35. Mellová Y, Hešková G, Výbohová D. *Anatómia človeka pre nelekárske študijné programy*. Bratislava: Osveta; 2011.
36. Hoodeshenas S, Yin M, Venkatesh SK. Magnetic resonance elastography of liver current update. *Top. Magn. Reson. Imaging* 2018;27:319–333. doi: 10.1097/RMR.000000000000177.
37. Hodler J, Kubik-Huch DRA, Schulthess PDGK von. *Diseases of the Abdomen and Pelvis 2018–2021*. (Hodler J, Kubik-Huch RA, von Schulthess GK, editors.). Cham: Springer; 2018. doi: 10.1007/978-88-470-5659-6.
38. Kužela L. *CHOROBY PEČENE*. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave,; 2013.
39. Schima W, Koh D-M, Baron R. *Focal Liver Lesions*. Springer; 2018. doi: 10.1007/978-3-319-75019-4\_17.
40. Lehotská V, Berecová Z. *MOŽNOSTI MR V DIFERENCIÁLNEJ DIAGNOSTIKE PEČEŇOVÝCH LÉZIÍ (2. časť)*. *Onkologie* 2008;2:110–116.
41. Semelka RC, Brown ED, Ascher SM, Patt RH, Bagley AS, Li W, Edelman RR, Shoenut JP, Brown JJ. Hepatic hemangiomas: A multi-institutional study of appearance on T2-weighted and serial gadolinium-enhanced gradient-echo MR images. *Radiology* 1994;192:401–406. doi: 10.1148/radiology.192.2.8029404.
42. Mathieu D, Kobeiter H, Maison P, Rahmouni A, Cherqui D, Zafrani ES, Dhumeaux D. Oral contraceptive use and focal nodular hyperplasia of the liver. *Gastroenterology* 2000;118:560–564. doi: 10.1016/S0016-5085(00)70262-9.
43. Lee MH, Kim SH, Park MJ, Park CK, Rhim H. Gadoteric acid-enhanced hepatobiliary phase MRI and high-b-value diffusion-weighted imaging to distinguish well-differentiated hepatocellular carcinomas from benign nodules in patients with chronic liver disease. *Am. J. Roentgenol.* 2011;197. doi: 10.2214/AJR.10.6237.
44. Lee MJ, Saini S, Compton CC, Malt RA. MR demonstration of edema adjacent to a liver metastasis: Pathologic correlation. *Am. J. Roentgenol.* 1991;157:499–501. doi: 10.2214/ajr.157.3.1872235.
45. Vilgrain V, Esvan M, Ronot M, Caumont-Prim A, Aubé C, Chatellier G. A meta-analysis of diffusion-weighted and gadoteric acid-enhanced MR imaging for the detection of liver metastases. *Eur. Radiol.* 2016;26:4595–4615. doi: 10.1007/s00330-016-4250-5.
46. Morteale KJ, Ros PR. Imaging of diffuse liver disease. *Semin. Liver Dis.* 2001;21:195–212. doi: 10.1055/s-2001-15496.
47. Ros PR. Imaging of Diffuse and Inflammatory Liver Disease. In: Hodler J., Kubik-Huch R., von Schulthess G. (eds) *Diseases of the Abdomen and Pelvis 2018-2021*. IDKD Springer Series. Springer, Cham.; 2018. pp. 237–246. doi: 10.1007/978-3-319-75019-4\_22.
48. Ghadimi M, Habibabadi RR, Hazhirkarzar B, Shaghghi M, Ameli S, Khoshpouri P, Ghasabeh MA, Gurakar A, Pawlik TM, Kamel IR. Advances in imaging of diffuse parenchymal liver disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 2020;54:682–695. doi: 10.1097/MCG.0000000000001380.

49. Chundru S, Kalb B, Arif-Tiwari H, Sharma P, Costello J, Martin DR. MRI of diffuse liver disease: Characteristics of acute and chronic diseases. *Diagnostic Interv. Radiol.* 2014;20:200–208. doi: 10.5152/dir.2014.13170.
50. Beyoğlu D, Idle JR. The metabolomic window into hepatobiliary disease. *J. Hepatol.* 2013;59:842–858. doi: 10.1016/J.JHEP.2013.05.030.
51. Mačák J. JMJD. Patologie - 2., doplněné vydání. Grada; 2012.
52. Plank L, Hanáček J. Patologická anatomia a patologická fyziológia. Osveta; 2007.
53. Schawkat K, Reiner CS. Diffuse Liver Disease: Cirrhosis, Focal Lesions in Cirrhosis, and Vascular Liver Disease. In: Springer; 2018. pp. 229–236. doi: 10.1007/978-3-319-75019-4\_21.
54. Kang BK, Yu ES, Lee SS, et al. Hepatic fat quantification: A prospective comparison of magnetic resonance spectroscopy and analysis methods for chemical-shift gradient echo magnetic resonance imaging with histologic assessment as the reference standard. *Invest. Radiol.* 2012;47:368–375. doi: 10.1097/RLI.0b013e31824baff3.
55. Queiroz-Andrade M, Blasbalg R, Ortega CD, Rodstein MAM, Baroni RH, Rocha MS, Cerri GG. MR imaging findings of iron overload. *Radiographics* 2009;29:1575–1589. doi: 10.1148/rg.296095511.
56. Wood JC, Ghugre N. Magnetic resonance imaging assessment of excess iron in thalassemia, sickle cell disease and other iron overload diseases. In: Hemoglobin. Vol. 32. Hemoglobin; 2008. pp. 85–96. doi: 10.1080/03630260701699912.
57. Queiroz-Andrade M, Blasbalg R, Ortega CD, Rodstein MAM, Baroni RH, Rocha MS, Cerri GG. MR imaging findings of iron overload. *Radiographics* 2009;29:1575–1589. doi: 10.1148/rg.296095511.
58. Cheon JE, Kim IO, Seo JK, Ko JS, Lee JM, Shin C Il, Kim WS, Yeon KM. Clinical application of liver MR imaging in Wilson's disease. *Korean J. Radiol.* 2010;11:665–672. doi: 10.3348/kjr.2010.11.6.665.
59. Ros PR, Sobin LH. Amyloidosis: The same cat, with different stripes. *Radiology* 1994;190:14–15. doi: 10.1148/radiology.190.1.8259392.
60. Marmolya G, Karlins NL, Petrelli M, McCullough A. Unusual computed tomography findings in hepatic amyloidosis. *Clin. Imaging* 1990;14:248–250. doi: 10.1016/0899-7071(90)90084-O.
61. Dravecká R. Diabetes mellitus a ochorenia pečene. *Diab Obez* 2020;20:22–27.
62. Lee JM, Boll DT. Disease of the Gallbladder and Biliary Tree. In: Springer; 2018. pp. 49–56. doi: 10.1007/978-3-319-75019-4\_5.
63. Mortelé KJ, Rocha TC, Streeter JL, Taylor AJ. Multimodality imaging of pancreatic and biliary congenital anomalies. *Radiographics* 2006;26:715–731. doi: 10.1148/rg.263055164.
64. Yeh BM, Liu PS, Soto JA, Corvera CA, Hussain HK. MR imaging and CT of the biliary tract. *Radiographics* 2009;29:1669–1688. doi: 10.1148/rg.296095514.
65. Lee NK, Kim S, Lee JW, Kim CW, Kim GH, Kang DH, Jo HJ. Discrimination of suppurative cholangitis from nonsuppurative cholangitis with computed tomography (CT). *Eur. J. Radiol.* 2009;69:528–535. doi: 10.1016/j.ejrad.2007.11.031.
66. Bader TR, Braga L, Beavers KL, Semelka RC. MR imaging findings of infectious cholangitis. *Magn. Reson. Imaging* 2001;19:781–788. doi: 10.1016/S0730-725X(01)00401-5.
67. Seo N, Kim SY, Lee SS, Byun JH, Kim JH, Kim HJ, Lee MG. Sclerosing cholangitis: Clinicopathologic features, imaging spectrum, and systemic approach to differential diagnosis.

- Korean J. Radiol. 2016;17:25–38. doi: 10.3348/kjr.2016.17.1.25.
68. Heffernan EJ, Geoghegan T, Munk PL, Ho SG, Harris AC. Recurrent pyogenic cholangitis: From imaging to intervention. *Am. J. Roentgenol.* 2009;192. doi: 10.2214/AJR.08.1104.
69. Katabathina VS, Dasyam AK, Dasyam N, Hosseinzadeh K. Adult bile duct strictures: Role of MR imaging and MR cholangiopancreatography in characterization. *Radiographics* 2014;34:565–586. doi: 10.1148/rg.343125211.
70. Kim JH, Kim TK, Eun HW, Byun JY, Lee MG, Ha HK, Auh YH. CT findings of cholangiocarcinoma associated with recurrent pyogenic cholangitis. *Am. J. Roentgenol.* 2006;187:1571–1577. doi: 10.2214/AJR.05.0486.
71. Al-Sukhni W, Gallinger S, Pratzner A, et al. Recurrent pyogenic cholangitis with hepatolithiasis-the role of surgical therapy in North America. *J. Gastrointest. Surg.* 2008;12:496–503. doi: 10.1007/s11605-007-0398-2.
72. Saadi M, Yu C, Othman MO. A review of the challenges associated with the diagnosis and therapy of primary sclerosing cholangitis. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2014;2:45–52. doi: 10.14218/JCTH.2013.00021.
73. Portincasa P, Vacca M, Moschetta A, Petruzzelli M, Palasciano G, van Erpecum KJ, van Berge-Henegouwen GP. Primary sclerosing cholangitis: Updates in diagnosis and therapy. *World J. Gastroenterol.* 2005;11:7–16. doi: 10.3748/wjg.v11.i1.7.
74. PC van de M, P P, FH W, KJ van E, GP V-H. Increased gall bladder volume in primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1996;39:594–599. doi: 10.1136/GUT.39.4.594.
75. Dvořáčková J. *Patologie v kostce : učební texty pro studenty bakalářského studia LF OU.* 2012.
76. Kovač JD, Weber MA. Primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis: An update on MR imaging findings with recent developments. *J. Gastrointest. Liver Dis.* 2016;25:517–524. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.254.vac.
77. Catalano OA, Sahani D V., Kalva SP, Cushing MS, Hahn PF, Brown JJ, Edelman RR. MR imaging of the gallbladder: A pictorial essay. In: *Radiographics*. Vol. 28. Radiological Society of North America; 2008. pp. 135–155. doi: 10.1148/rg.281065183.
78. Hakumäki JM, Kauppinen RA. 1H NMR visible lipids in the life and death of cells. *Trends Biochem. Sci.* 2000;25:357–362. doi: 10.1016/S0968-0004(00)01614-5.
79. Prescott AP, Collins DJ, Leach MO, Dzik-Jurasz ASK. Human gallbladder bile: noninvasive investigation in vivo with single-voxel 1H MR spectroscopy. *Radiology* 2003;229:587–592. doi: 10.1148/radiol.2292021156.
80. Gajdošík M, Chmelík M, Halilbasic E, Pflieger L, Klepochová R, Trauner M, Trattng S, Krššák M. In Vivo 1H MR Spectroscopy of Biliary Components of Human Gallbladder at 7T. *J. Magn. Reson. Imaging* 2020. doi: 10.1002/jmri.27207.
81. Thomsen C, Becker U, Winkler K, Christoffersen P, Jensen M, Henriksen O. Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy. *Magn. Reson. Imaging* 1994;12:487–495. doi: 10.1016/0730-725X(94)92543-7.
82. Longo R, Ricci C, Masutti F, Vidimari R, Crocé LS, Bercich L, Tiribelli C, Palma LD. Fatty infiltration of the liver: Quantification by 1h localized magnetic resonance spectroscopy and comparison with computed tomography. *Invest. Radiol.* 1993;28:297–302. doi: 10.1097/00004424-199304000-00006.
83. D H, YS L, CB S, SB R. Quantification of liver iron with MRI: state of the art and remaining

- challenges. *J. Magn. Reson. Imaging* 2014;40:1003–1021. doi: 10.1002/JMRI.24584.
84. Chmelík M, Valkovič L, Wolf P, et al. Phosphatidylcholine contributes to in vivo <sup>31</sup>P MRS signal from the human liver. *Eur. Radiol.* 2015;25:2059–2066. doi: 10.1007/s00330-014-3578-y.
85. Yahya A, Tessier AG, Fallone BG. Effect of J-coupling on lipid composition determination with localized proton magnetic resonance spectroscopy at 9.4 T. *J. Magn. Reson. Imaging* 2011;34:1388–1396. doi: 10.1002/jmri.22792.
86. Hamilton G, Middleton MS, Bydder M, Yokoo T, Schwimmer JB, Kono Y, Patton HM, Lavine JE, Sirlin CB. Effect of PRESS and STEAM sequences on magnetic resonance spectroscopic liver fat quantification. *J. Magn. Reson. Imaging* 2009;30:145–152. doi: 10.1002/jmri.21809.
87. Pineda N, Sharma P, Xu Q, Hu X, Vos M, Martin DR. Measurement of Hepatic Lipid: High-Speed T2-Corrected Multiecho Acquisition at 1 H MR Spectroscopy—A Rapid and Accurate Technique. *Radiology* 2009;252:568–576. doi: 10.1148/radiol.2523082084.
88. Krššák M, Hofer H, Wrba F, Meyerspeer M, Brehm A, Lohninger A, Steindl-Munda P, Moser E, Ferenci P, Roden M. Non-invasive assessment of hepatic fat accumulation in chronic hepatitis C by 1H magnetic resonance spectroscopy. *Eur. J. Radiol.* 2010;74. doi: 10.1016/j.ejrad.2009.03.062.
89. Hájek M, Dezortová M, Škoch A, Voska L, Hejlová I, Truněcka P. MR spectroscopy as a tool for in vivo determination of steatosis in liver transplant recipients. *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med.* 2011;24:297–304. doi: 10.1007/s10334-011-0264-9.
90. Kim H, Taksali SE, Dufour S, Befroy D, Goodman TR, Petersen KF, Shulman GI, Caprio S, Constable RT. Comparative MR study of hepatic fat quantification using single-voxel proton spectroscopy, two-point Dixon and three-point IDEAL. *Magn. Reson. Med.* 2008;59:521–527. doi: 10.1002/mrm.21561.
91. Livingstone RS, Begovatz P, Kahl S, Nowotny B, Straßburger K, Giani G, Bunke J, Roden M, Hwang JH. Initial clinical application of modified Dixon with flexible echo times: hepatic and pancreatic fat assessments in comparison with 1H MRS. *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med.* 2014;27:397–405. doi: 10.1007/s10334-013-0421-4.
92. Gajdošík M, Chmelík M, Just-Kukurová I, Bogner W, Valkovič L, Trattnig S, Krššák M. In vivo relaxation behavior of liver compounds at 7 Tesla, measured by single-voxel proton MR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Imaging* 2014;40:1365–1374. doi: 10.1002/jmri.24489.
93. Hamilton G, Yokoo T, Bydder M, Cruite I, Schroeder ME, Sirlin CB, Middleton MS. In vivo characterization of the liver fat 1H MR spectrum. *NMR Biomed.* 2011;24:784–790. doi: 10.1002/nbm.1622.
94. Johnson NA, Walton DW, Sachinwalla T, Thompson CH, Smith K, Ruell PA, Stannard SR, George J. Noninvasive assessment of hepatic lipid composition: Advancing understanding and management of fatty liver disorders. *Hepatology* 2008;47:1513–1523. doi: 10.1002/hep.22220.
95. Gajdošík M, Chadzynski GL, Hangel G, et al. Ultrashort-TE stimulated echo acquisition mode (STEAM) improves the quantification of lipids and fatty acid chain unsaturation in the human liver at 7T. *NMR Biomed.* 2015;28:1283–1293. doi: 10.1002/nbm.3382.
96. Roumans KHM, Lindeboom L, Veeraiyah P, et al. Hepatic saturated fatty acid fraction is associated with de novo lipogenesis and hepatic insulin resistance. *Nat. Commun.* 2020;11. doi: 10.1038/s41467-020-15684-0.

97. Xavier A, Arteaga de Castro C, Andia ME, Luijten PR, Klomp DW, Fillmer A, Prompers JJ. Metabolite cycled liver 1H MRS on a 7 T parallel transmit system. *NMR Biomed.* 2020;33. doi: 10.1002/nbm.4343.
98. Krssak M, Brehm A, Bernroider E, et al. Alterations in postprandial hepatic glycogen metabolism in type 2 diabetes. *Diabetes* 2004;53:3048–3056. doi: 10.2337/diabetes.53.12.3048.
99. Ouwerkerk R, Pettigrew RI, Gharib AM. Liver metabolite concentrations measured with 1H MR spectroscopy. *Radiology* 2012;265:565–575. doi: 10.1148/radiol.12112344.
100. Weis J, Kullberg J, Ahlström H. Multiple breath-hold proton spectroscopy of human liver at 3T: Relaxation times and concentrations of glycogen, choline, and lipids. *J. Magn. Reson. Imaging* 2018;47:410–417. doi: 10.1002/jmri.25734.
101. Fischbach F, Schirmer T, Thormann M, Freund T, Ricke J, Bruhn H. Quantitative proton magnetic resonance spectroscopy of the normal liver and malignant hepatic lesions at 3.0 Tesla. *Eur. Radiol.* 2008;18:2549–2558. doi: 10.1007/s00330-008-1040-8.
102. ter Voert EEGW, Heijmen L, van Asten JJA, Wright AJ, Nagtegaal ID, Punt CJA, de Wilt JHW, van Laarhoven HWM, Heerschap A. Levels of choline-containing compounds in normal liver and liver metastases of colorectal cancer as recorded by 1H MRS. *NMR Biomed.* 2019;32. doi: 10.1002/nbm.4035.
103. Gruetter R, Magnusson I, Rothman DL, Avison MJ, Shulman RG, Shulman GI. Validation of 13C NMR measurements of liver glycogen in vivo. *Magn. Reson. Med.* 1994;31:583–588. doi: 10.1002/mrm.1910310602.
104. Menon DK, Sargentoni J, Taylor-Robinson SD, Bell JD, Cox IJ, Bryant DJ, Coultas GA, Rolles K, Burroughs AK, Margan MY. Effect of functional grade and etiology on in vivo hepatic phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy in cirrhosis: Biochemical basis of spectral appearances. *Hepatology* 1995;21:417–427. doi: 10.1002/hep.1840210224.
105. Valkovič L, Chmelík M, Just Kukurova I, Krššák M, Gruber S, Frollo I, Trattinig S, Bogner W. Time-resolved phosphorous magnetization transfer of the human calf muscle at 3 T and 7 T: A feasibility study. *Eur. J. Radiol.* 2013;82:745–751. doi: 10.1016/j.ejrad.2011.09.024.
106. Rodgers CT, Clarke WT, Snyder C, Vaughan JT, Neubauer S, Robson MD. Human cardiac 31P magnetic resonance spectroscopy at 7 tesla. *Magn. Reson. Med.* 2014;72:304–315. doi: 10.1002/mrm.24922.
107. Qiao H, Zhang X, Zhu XH, Du F, Chen W. In vivo 31P MRS of human brain at high/ultrahigh fields: a quantitative comparison of NMR detection sensitivity and spectral resolution between 4 T and 7 T. *Magn. Reson. Imaging* 2006;24:1281–1286. doi: 10.1016/j.mri.2006.08.002.
108. Kan HE, Klomp DWJ, Wong CS, Boer VO, Webb AG, Luijten PR, Jeneson JA. In vivo 31P MRS detection of an alkaline inorganic phosphate pool with short T1 in human resting skeletal muscle. *NMR Biomed.* 2010;23:995–1000. doi: 10.1002/nbm.1517.
109. Parasoglou P, Xia D, Chang G, Regatte RR. 3D-mapping of phosphocreatine concentration in the human calf muscle at 7 T: Comparison to 3 T. *Magn. Reson. Med.* 2013;70:1619–1625. doi: 10.1002/mrm.24616.
110. Steinseifer IK, Wijnen JP, Hamans BC, Heerschap A, Scheenen TWJ. Metabolic imaging of multiple X-nucleus resonances. *Magn. Reson. Med.* 2013;70:169–175. doi: 10.1002/mrm.24456.
111. Parasoglou P, Xia D, Chang G, Regatte RR. Dynamic three-dimensional imaging of



phosphocreatine recovery kinetics in the human lower leg muscles at 3T and 7T: A preliminary study. *NMR Biomed.* 2013;26:348–356. doi: 10.1002/nbm.2866.

112. Brown TR, Kincaid BM, Ugurbil K. NMR chemical shift imaging in three dimensions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1982;79:3523–3526. doi: 10.1073/pnas.79.11.3523.

113. Maudsley AA, Hilal SK, Perman WH, Simon HE. Spatially resolved high resolution spectroscopy by “four-dimensional” NMR. *J. Magn. Reson.* 1983;51:147–152. doi: 10.1016/0022-2364(83)90113-0.

114. Chmelík M, Just Kukurová I, Gruber S, Krššák M, Valkovič L, Trattinig S, Bogner W. Fully adiabatic 31P 2D-CSI with reduced chemical shift displacement error at 7 T - GOIA-1D-ISIS/2D-CSI. *Magn. Reson. Med.* 2013;69:1233–1244. doi: 10.1002/mrm.24363.

115. Chmelík M, Valkovič L, Wolf P, et al. Phosphatidylcholine contributes to in vivo 31P MRS signal from the human liver. *Eur. Radiol.* 2015;25:2059–2066. doi: 10.1007/s00330-014-3578-y.

116. Moon RB, Richards JH. Determination of Intracellular pH by 31P Magnetic Resonance. *J. Biol. Chem.* 1973;248:7276–7278. doi: 10.1016/S0021-9258(19)43389-9.

117. Malloy CR, Cunningham CC, Radda GK. The metabolic state of the rat liver in vivo measured by 31P-NMR spectroscopy. *BBA - Mol. Cell Res.* 1986;885:1–11. doi: 10.1016/0167-4889(86)90032-7.

118. Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J. Magn. Reson.* 1997;129:35–43.

119. Naressi A, Couturier C, Castang I, De Beer R, Graveron-Demilly D. Java-based graphical user interface for MRUI, a software package for quantitation of in vivo/medical magnetic resonance spectroscopy signals. *Comput. Biol. Med.* 2001;31:269–286. doi: 10.1016/S0010-4825(01)00006-3.

120. Purvis LAB, Clarke WT, Biasioli L, Valkovič L, Robson MD, Rodgers CT. OXSA: An open-source magnetic resonance spectroscopy analysis toolbox in MATLAB. *PLoS One* 2017;12. doi: 10.1371/journal.pone.0185356.

121. Roth K, Hubesch B, Meyerhoff DJ, Naruse S, Gober JR, Lawry TJ, Boska MD, Matson GB, Weiner MW. Noninvasive quantitation of phosphorus metabolites in human tissue by NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 1989;81:299–311. doi: 10.1016/0022-2364(89)90062-0.

122. Buchli R, Boesiger P. Comparison of methods for the determination of absolute metabolite concentrations in human muscles by 31P MRS. *Magn. Reson. Med.* 1993;30:552–558. doi: 10.1002/mrm.1910300505.

123. Kreis R, Ernst T, Ross BD, Kreis R, Ernst T, Ross BD. Absolute Quantitation of Water and Metabolites in the Human Brain. II. Metabolite Concentrations. *JMRB* 1993;102:9–19. doi: 10.1006/JMRB.1993.1056.

124. Szendroedi J, Chmelik M, Schmid AI, Nowotny P, Brehm A, Krssak M, Moser E, Roden M. Abnormal hepatic energy homeostasis in type 2 diabetes. *Hepatology* 2009;50:1079–1086. doi: 10.1002/hep.23093.

125. Pflieger L, Gajdošík M, Wolf P, et al. Absolute Quantification of Phosphor-Containing Metabolites in the Liver Using <sup>31</sup>P MRSI and Hepatic Lipid Volume Correction at 7T Suggests No Dependence on Body Mass Index or Age. *J. Magn. Reson. Imaging* 2019;49. doi: 10.1002/jmri.26225.

126. Valkovič L, Chmelík M, Krššák M. In-vivo 31 P-MRS of skeletal muscle and liver: A

- way for non-invasive assessment of their metabolism. *Anal. Biochem.* 2017;529:193–215. doi: 10.1016/j.ab.2017.01.018.
127. Wolf RF, Kamman RL, Mooyaart EL, Haagsma EB, Bleichrodt RP, Slooff MJ. 31P magnetic resonance spectroscopy of the isolated human donor liver--feasibility in routine clinical practice and preliminary findings. *Transplantation* 1993;55:949–951.
128. Changani KK, Fuller BJ, Bell JD, Taylor-Robinson SD, Moore DP, Davidson BR. Improved preservation solutions for organ storage: A dynamic study of hepatic metabolism. *Transplantation* 1999;68:345–355. doi: 10.1097/00007890-199908150-00005.
129. Changani KK, Jalan R, Cox IJ, Ala-Korpela M, Bhakoo K, Taylor-Robinson SD, Bell JD. Evidence for altered hepatic gluconeogenesis in patients with cirrhosis using in vivo 31-phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Gut* 2001;49:557–564. doi: 10.1136/gut.49.4.557.
130. Negendank W. Studies of human tumors by MRS: A review. *NMR Biomed.* 1992;5:303–324. doi: 10.1002/nbm.1940050518.
131. Dixon RM, Angus PW, Rajagopalan B, Radda GK. Abnormal phosphomonoester signals in 31p mr spectra from patients with hepatic lymphoma. A possible marker of liver infiltration and response to chemotherapy. *Br. J. Cancer* 1991;63:953–958. doi: 10.1038/bjc.1991.208.
132. Beiglböck H, Wolf P, Pflieger L, et al. Effects of thyroid function on phosphodiester concentrations in skeletal muscle and liver: An in vivo nmrs study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2020;105. doi: 10.1210/clinem/dgaa663.
133. Gajdosik M, Krssak M. Localized 31P MRS reveals increased hepatic NADPH following 4 weeks of oral fructose challenge in healthy volunteers. 2015. In: 32nd Annual Scientific Meeting of the ESMRMB. Edinburgh, UK.; 2015.
134. Dagnelie PC, Menon DK, Cox IJ, Bell JD, Sargentoni J, Coutts GA, Urenjak J, Iles RA. Effect of L-alanine infusion on 31P nuclear magnetic resonance spectra of normal human liver: Towards biochemical pathology in vivo. *Clin. Sci.* 1992;83:183–190. doi: 10.1042/cs0830183.
135. Dufour J -F, Stoupis C, Lazeyras F, Vock P, Terrier F, Reichen J. Alterations in hepatic fructose metabolism in cirrhotic patients demonstrated by dynamic 31phosphorus spectroscopy. *Hepatology* 1992;15:835–842. doi: 10.1002/hep.1840150515.
136. Oberhaensli RD, Taylor DJ, Rajagopalan B, Radda GK, Collins JE, Leonard J V., Schwarz H, Herschkowitz N. STUDY OF HEREDITARY FRUCTOSE INTOLERANCE BY USE OF 31P MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY. *Lancet* 1987;330:931–934. doi: 10.1016/S0140-6736(87)91419-X.
137. RM D, PW A, B R, GK R. 31P magnetic resonance spectroscopy detects a functional abnormality in liver metabolism after acetaminophen poisoning. *Hepatology* 1992;16:943–948. doi: 10.1002/HEP.1840160415.
138. Weghuber D, Roden M, Franz C, et al. Vascular function in obese children with non-alcoholic fatty liver disease. *Int. J. Pediatr. Obes.* 2011;6:120–127. doi: 10.3109/17477161003792580.
139. Brindle KM, Blackledge MJ, John Challiss RA, Radda GK. 31P NMR Magnetization-Transfer Measurements of ATP Turnover during Steady-State Isometric Muscle Contraction in the Rat Hind Limb in Vivo. *Biochemistry* 1989;28:4887–4893. doi: 10.1021/bi00437a054.
140. From AHL, Ugurbil K. Standard magnetic resonance-based measurements of the pi;ATP rate do not index the rate of oxidative phosphorylation in cardiac and skeletal muscles. *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* 2011;301. doi: 10.1152/ajpcell.00345.2010.

141. Bottomley PA, Hardy CJ. Mapping creatine kinase reaction rates in human brain and heart with 4 tesla saturation transfer  $^{31}\text{P}$  NMR. *J. Magn. Reson.* 1992;99:443–448. doi: 10.1016/0022-2364(92)90201-H.
142. Buehler T, Kreis R, Boesch C. Comparison of  $^{31}\text{P}$  saturation and inversion magnetization transfer in human liver and skeletal muscle using a clinical MR system and surface coils. *NMR Biomed.* 2015;28:188–199. doi: 10.1002/nbm.3242.
143. Valkovič L, Bogner W, Gajdošík M, Považan M, Kukurová IJ, Krššák M, Gruber S, Frollo I, Trattnig S, Chmelík M. One-dimensional image-selected in vivo spectroscopy localized phosphorus saturation transfer at 7T. *Magn. Reson. Med.* 2014;72:1509–1515. doi: 10.1002/mrm.25058.
144. Schmid AI, Szendroedi J, Chmelik M, Krššák M, Moser E, Roden M. Liver ATP synthesis is lower and relates to insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:448–453. doi: 10.2337/dc10-1076.
145. Traussnigg S, Kienbacher C, Gajdošík M, et al. Ultra-high-field magnetic resonance spectroscopy in non-alcoholic fatty liver disease: Novel mechanistic and diagnostic insights of energy metabolism in non-alcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis. *Liver Int.* 2017;37:1544–1553. doi: 10.1111/liv.13451.
146. Valkovič L, Ukropcová B, Chmelík M, et al. Interrelation of  $^{31}\text{P}$ -MRS metabolism measurements in resting and exercised quadriceps muscle of overweight-to-obese sedentary individuals. *NMR Biomed.* 2013;26:1714–1722. doi: 10.1002/nbm.3008.
147. Parasoglou P, Xia D, Chang G, Convit A, Regatte RR. Three-dimensional mapping of the creatine kinase enzyme reaction rate in muscles of the lower leg. *NMR Biomed.* 2013;26:1142–1151. doi: 10.1002/nbm.2928.
148. Panda A, Jones S, Stark H, Raghavan RS, Sandrasegaran K, Bansal N, Dydak U. Phosphorus liver MRSI at 3 T using a novel dual-tuned eight-channel  $^{31}\text{P}/^1\text{H}$  coil. *Magn. Reson. Med.* 2012;68:1346–1356. doi: 10.1002/mrm.24164.
149. Löring J, van der Kemp WJM, Almujaayaz S, van Oorschot JWM, Luijten PR, Klomp DWJ. Whole-body radiofrequency coil for  $^{31}\text{P}$  MRSI at 7T. *NMR Biomed.* 2016;29:709–720. doi: 10.1002/nbm.3517.

## 7 Zoznam priložených originálnych vedeckých prác

**Chmelík M**, Schmid AI, Gruber S, Szendroedi J, Krššák M, Trattnig S, Moser E, Roden M. Three-dimensional high-resolution magnetic resonance spectroscopic imaging for absolute quantification of  $^{31}\text{P}$  metabolites in human liver. *Magn Reson Med.* 2008;60(4):796-802. doi:10.1002/mrm.21762

**Szendroedi J\***, **Chmelik M\***, Schmid AI, Nowotny P, Brehm A, Krssak M, Moser E, Roden M. Abnormal hepatic energy homeostasis in type 2 diabetes. *Hepatology.* 2009;50(4):1079-1086. doi:10.1002/hep.23093

### \*rovnocenne prispievajúci prví autori

Bogner W, **Chmelik M**, Andronesi OC, Sorensen AG, Trattnig S, Gruber S. In vivo  $^{31}\text{P}$  spectroscopy by fully adiabatic extended image selected in vivo spectroscopy: A comparison between 3 T and 7 T. *Magn Reson Med.* 2011;66(4):923-930. doi:10.1002/mrm.22897

**Chmelík M**, Just Kukurová I, Gruber S, Krššák M, Valkovič L, Trattnig S, Bogner W. Fully adiabatic  $^{31}\text{P}$  2D-CSI with reduced chemical shift displacement error at 7 T - GOIA-1D-ISIS/2D-CSI. *Magn Reson Med.* 2013;69(5):1233-1244. doi:10.1002/mrm.24363

**Chmelík M**, Považan M, Jírů F, Kukurová IJ, Dezortová M, Krššák M, Bogner W, Hájek M, Trattnig S, Valkovič L. Flip-angle mapping of  $^{31}\text{P}$  coils by steady-state MR spectroscopic imaging. *J Magn Reson Imaging.* 2014;40(2):391-397. doi:10.1002/jmri.24401

**Chmelik M**, Považan M, Krššák M, Gruber S, Tkačov M, Trattnig S, Bogner W. In vivo  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy of the human liver at 7T: An initial experience. *NMR Biomed.* 2014;27(4):478-485. doi:10.1002/nbm.3084

**Chmelík M**, Valkovič L, Wolf P, Bogner W, Gajdošík M, Halilbasic E, Gruber S, Trauner M, Krebs M, Trattnig S, Krššák M. Phosphatidylcholine contributes to in vivo  $^{31}\text{P}$  MRS signal from the human liver. *Eur Radiol.* 2015;25(7):2059-2066. doi:10.1007/s00330-014-3578-y

Valkovič L, Gajdošík M, Traussnigg S, Wolf P, **Chmelík M**, Kienbacher C, Bogner W, Krebs M, Trauner M, Trattnig S, Krššák M. Application of localized  $^{31}\text{P}$  MRS saturation transfer at 7 T for measurement of ATP metabolism in the liver: Reproducibility and initial clinical application in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Eur Radiol.* 2014;24(7):1602-1609. doi:10.1007/s00330-014-3141-x

Valkovič L, **Chmelík M**, Krššák M. In-vivo  $^{31}\text{P}$ -MRS of skeletal muscle and liver: A way for non-invasive assessment of their metabolism. *Anal Biochem.* 2017;529:193-215. doi:10.1016/j.ab.2017.01.018

Pfleger L, Gajdošík M, Wolf P, Smajis S, Fellingner P, Kuehne A, Krumpolec P, Trattnig S, Winhofer Y, Krebs M, Krššák M, **Chmelík M**. Absolute Quantification of Phosphor-

Containing Metabolites in the Liver Using  $^{31}\text{P}$  MRSI and Hepatic Lipid Volume Correction at 7T Suggests No Dependence on Body Mass Index or Age. *J Magn Reson Imaging*. 2019;49(2):597-607. doi:10.1002/jmri.26225

Pfleger L, Halilbasic E, Gajdošik M, Benčíková D, **Chmelík M**, Scherer T, Trattnig S, Krebs M, Trauner M, Krššák M. Concentration of Gallbladder Phosphatidylcholine in Cholangiopathies: A Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopy Pilot Study. *J Magn Reson Imaging*. 2022 Feb;55(2):530-540. doi: 10.1002/jmri.27817.