

¹H IN VIVO MR SPEKTROSKOPIE V KLINICKÉ NEUROLOGII

Ing. Zenon Starčuk, DrSc.^{1,3}, doc. MUDr. Petr Krupa, CSc.², Ing. Zenon Starčuk jr., CSc.¹,
Ing. Jaroslav Horký¹

¹Ústav přístrojové techniky AV ČR, Brno

²Klinika zobrazovacích metod LF MU a FN u sv. Anny, Brno

³ÚPT AV ČR, Brno

V předloženém příspěvku jsou stručně popsány některé ze základních charakteristik in vivo protonové (¹H) MR spektroskopie zejména ve vztahu k jejímu využití v klinické neurologické praxi. Je posouzen vliv volby intenzity magnetického pole a akvizitní techniky na kvalitu získávaných protonových MR spekter. V závěru příspěvku jsou stručně uvedeny některé z nejdůležitějších klinických neurologických aplikací ¹H in vivo MRS.

Klíčová slova: magnetická rezonance, H-1 MR spektroskopie, jednovoxelové techniky MRS, spektroskopické zobrazování, klinické aplikace H-1 MRS.

Úvod

O čem informuje MR spektroskopie (1, 3, 10, 14, 18)

Jednou z MR modalit, která v posledním desetiletí stále rychleji proniká ze základního a klinického výzkumu do rutinní neurologické klinické praxe, je in vivo MR spektroskopie (MRS). MRS je metoda, která prostřednictvím in vivo měření NMR spekter některých izotopů (¹H, ¹³C, ³¹P) umožňuje získávat až donedávna nedostupné informace o řadě biochemických a metabolických procesů, probíhajících v lidském mozku, a tím výrazně přispívat k rozvoji moderní neinvazivní neurochemie.

Dominantní postavení zaujímá v současných neurologických in vivo MRS aplikacích izotop vodíku ¹H, který je přítomen ve všech biologicky významných molekulách a který, díky svému prakticky 100% výskytu a velké magnetogyrické konstantě, poskytuje největší NMR signál.

Molekuly pozorovatelné protonovou MR spektroskopií

V mozku je obsaženo velké množství metabolitů, z nichž však jen málo lze úspěšně měřit. Na obrázku 1 je uvedeno unikátní protonové MR spektrum zdravého mozku potkana naměřené v poli 9.4 T při použití ultrakrátkého echo-času (TE = 1 ms). V tomto spektru jsou dobře rozlišitelné tyto metabolity: N-acetylaspartát (NAA), N-acetylaspartátglutamát (NAAG), gama-aminomáselná kyselina (GABA), aspartát, glycin, cholinové sloučeniny (glycerofosforylcholin, fosforylcholin, kreatin (Cr), fosfokreatin (PCr), glutamát (Glu), glutamin (Gln), glutation, myo-inositol (ml) a scyllo-inositol (Ins), taurin (Tau), laktát (Lac), fosforyletanolamin, glukóza (Glc). Signály některých dalších metabolitů (etanolu, acetátu, alaninu, sukcinátu, fenyalaninu, histidinu, tuků apod.) se mohou v NMR spektrech

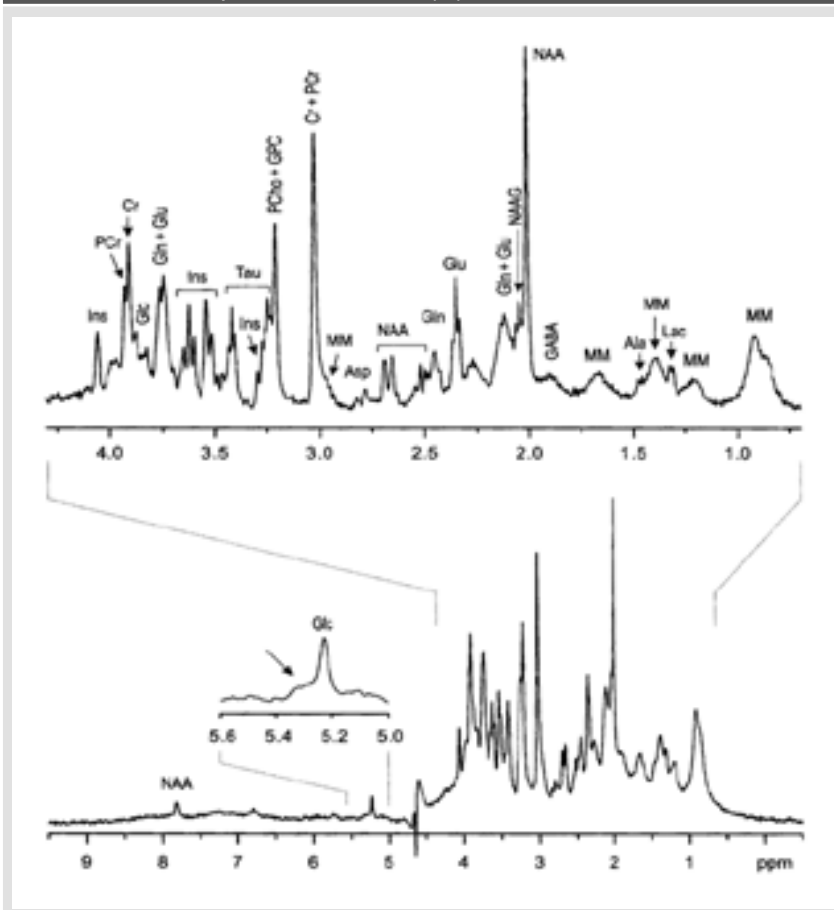
mozku objevit v důsledku patologických změn. Ve spektrech naměřených s krátkými echo-časy jsou v protonových spektrech přítomny relativně silné signály pohyblivých makromolekul (proteinů, peptidů, polypeptidů).

MRS v neurologii

K rostoucímu zájmu o využití protonové in vivo MRS v neurologii určitě napomáhá to, že

mozek je stále ještě relativně málo přístupný pro rychlé a účinné vyšetřování. Pro neurologické aplikace in vivo ¹H MRS je velmi důležité to, že vliv nehomogenity susceptibility mozkové hmoty a fyziologických pohybů na kvalitu MR spekter mozku je poměrně malý a že získávaná spektra jsou použitelná nejen pro kvalitativní, ale i pro kvantitativní chemickou analýzu.

Obrázek 1. In vivo ¹H MR spektrum mozku potkana. STEAM-SVS, B₀ = 9.4 T, TR = 4 s, TE = 1 ms, 320 skenů, VOI = 65 μl. Spektrum bylo změřeno na experimentálním MR tomografu na Universitě v Minneapolis, Minnesota, USA (17)



Faktory ovlivňující kvalitu spekter

Značným problémem všech NMR měření je jejich malá citlivost. V in vivo aplikacích, kde nelze provádět dlouhotrvající měření, je tento nedostatek NMR technik obzvlášť tíživý. Při hodnocení MR technik pro neurologické aplikace je jejich citlivost vždy základním hodnotícím kritériem.

Základem pro detekci přítomnosti patologických procesů v mozku je zjišťování většinou velmi malých odchylek koncentrací metabolitů od normálního stavu. Vzhledem k tomu, že koncentrace metabolitů v mozku se pohybují většinou v rozmezí desetin až jednotek mM, je měření jejich malých změn velmi obtížné. Kvantitativní vyhodnocování metabolitů z naměřených MR spekter je značně komplikováno tím, že intenzita MR signálů metabolitů je složitým způsobem ovlivňována řadou parametrů, determinovaných jednak vlastnostmi měřených tkání (spin-mřížkový a spin-spinový relaxační čas T_1 a T_2 , přenos magnetizace) a jednak použitými měřicími sekvencemi (excitačními vlastnostmi RF pulzů použitých v přípravných i čtecích periodách a časováním těchto period – volbou echo-časů (TE), opakovacích period (TR) apod.).

V mnoha případech jsou v in vivo ^1H MRS zdrojem kvantifikačních problémů při vyhodnocování naměřených spekter experimentální artefakty vyplývající z toho, že malé signály metabolitů jsou měřeny v přítomnosti o několik řádů větších signálů protonů vody a v některých případech i velmi silných signálů protonů podkožního tuku. Těmto artefaktům je nutné čelit účinným potlačením silných MR signálů vody a tuku.

Jednou z cest umožňujících zvětšit citlivost měření a usnadnit interpretaci naměřených MR spekter je přechod k silnějším základním magnetickým polím B_0 . V současné době je většina klinických MRS měření prováděna v poli 1.5 T. Teprve v posledních třech letech se do klinické praxe dostávají ve větší míře 3 T MR systémy. Typická 1.5 a 3.0 T ^1H MRS spektra naměřená v lidském mozku jsou uvedena na obrázku 2. Z těchto spekter je zřejmé, že počet metabolitů měřitelných v těchto polích je již velmi omezen. Při krátkých echo-časech (cca 30 ms) lze jak v 1.5, tak i 3 T měřit pouze alifatické protony metabolitů NAA, Cho, tCr (Cr + PCr), myo-inositolu a Glx (Glu + Gln). Při echo-časech delších než cca 100 ms lze pak měřit už jen úzké singlety metylových skupin obsažených v molekulách NAA, Cho a Cr/PCr. Teoreticky by citlivost MR měření měla růst lineárně s intenzitou základního magnetického pole B_0 . Vzhledem k tomu, že při zvětšování B_0 mírně narůstá spin-mřížkový relaxační čas T_1 a zkracuje se spin-spinový relaxační čas

T_2 a že úměrně s polem narůstají lokální nehomogenity pole vyvolané nehomogenitou magnetické susceptibility, však dochází při zvětšení magnetického pole z 1.5 na 3.0 T ke zvýšení citlivosti měření pouze o cca 30–40 %. Rovněž spektrální rozlišení neroste v důsledku působení několika faktorů lineárně s magnetickým polem, jak předpokládá teorie. Přestože příznivý efekt zvýšení magnetického pole z 1.5 T na 3.0 T je menší než efekt teoreticky předpokládáný, je přechod na silnější magnetická pole určitě přínosem pro další rozvoj jak in vivo MR spektroskopie, tak i některých dalších MR modalit.

Základní měřicí techniky protonové in vivo MRS

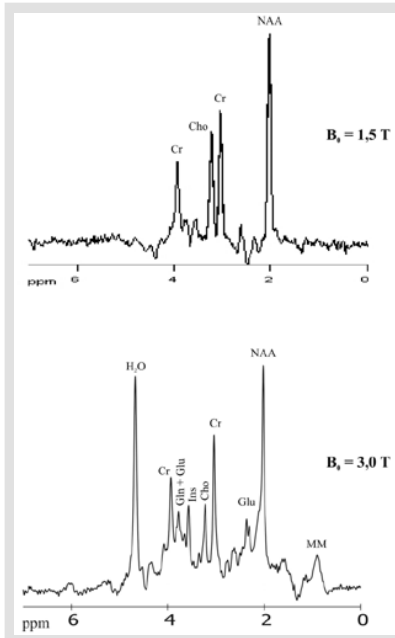
Základními dvěma spektroskopickými technikami používanými v in vivo MRS jsou jednovoxelová spektroskopie (single voxel spectroscopy – SVS) a spektroskopické zobrazování (spectroscopic imaging – SI, chemical shift imaging – CSI). Naprostá většina doposud publikovaných protonových in vivo MR spekter byla naměřena SVS metodou.

Jednovoxelová MR spektroskopie

Při měření technikou SVS jsou MR data snímána většinou z krychlí o objemu 2–8 ml. Tyto krychle, nazývané oblasti zájmu (volume of interest – VOI), jsou lokalizovány s využitím MRI navigace do požadované oblasti mozku. K lokalizaci VOI slouží již více než 20 let hlavně dvě metody, a to metoda STEAM (stimulated-echo acquisition mode) a metoda PRESS (point-resolved spectroscopy). Princip lokalizace je u obou těchto metod stejný. VOI je definován jako průsečík tří ortogonálních rovin vymezených třemi posobě jdoucími kmitočtově selektivními RF pulzy aplikovanými v přítomnosti příslušných gradientů magnetického pole. Metoda STEAM využívá k lokalizaci VOI tří kmitočtově selektivních 90° RF pulzů, metoda PRESS používá jeden selektivní excitační 90° pulz a dva selektivní 180° pulzy pro vytvoření spinového echa.

Při použití optimalizovaných RF pulzů umožňuje STEAM měření MR spekter při velmi krátkých echo-časech, což umožňuje měřit metabolity, jejichž rezonance se vyznačují krátkými relaxačními časy T_2 nebo multipletovou strukturou. Hlavními nevýhodami metody STEAM jsou jednak ztráta poloviny signálu, a tím teoreticky poloviční citlivost ve srovnání s metodou PRESS, a jednak větší citlivost k mikro- i makroskopickým pohybům. Metoda PRESS trpí používáním selektivních 180° pulzů pro generování spinového echa. Excitační profil těchto pulzů je horší než u 90° pulzů a pro dosažení stejné šířky

Obrázek 2. In vivo ^1H MR spektrum mozku dobrovolníka. (a) $B_0 = 1.5$ T, PRESS-SVS, TR = 1.5 s, TE = 80 ms, 128 skenů, VOI = 15 ml. Spektrum bylo změřeno autory článku na MR tomografu Siemens Symphony ve FN u sv. Anny, Brno. (b) $B_0 = 3.0$ T, STEAM-SVS, TM = 30 ms, TE = 7 ms, 256 skenů, VOI = 8 ml. Spektrum bylo změřeno autory článku na experimentálním MR tomografu Bruker Medspec v AKH Wien, Rakousko



vymezení jsou jejich výkonové nároky cca 10× větší. Ke komplikacím u metody PRESS dochází rovněž v důsledku kontaminace měřených dat signály z nežádoucích signálových stezek. PRESS se přednostně používá pro lokalizaci VOI v měřeních s dlouhými echo-časy.

Jednovoxelové MRS techniky jsou relativně jednoduché, ale z hlediska množství informací získávaných v daném měřicím čase jsou velmi neefektivní. Rovněž pravoúhlý tvar VOI a přesnost jeho vymezení nemusí být ideální, což vede k tomu, že výhod SVS při stanovování patologicky změněných míst nelze mnohdy plně využít. Sekvenční měření spekter z více voxelů metodami SVS je časově velmi náročné a jak z hlediska nežádoucích efektů na vyšetřované osoby, tak i z hlediska rostoucích finančních nákladů, není výhodné.

Spektroskopické zobrazování

Vzhledem k uvedeným problémům, spojeným s měřením protonových in vivo MR spekter metodami SVS, je stále větší pozornost věnována rozvoji technik spektroskopického zobrazování. In vivo spektroskopické zobrazování umožňuje získávat informace současně z mnoha voxelů. K dosažení tohoto efektu využívají SI techniky vhodné kombinace spektroskopických a zobrazovacích technik. Každý měřený signál přitom obsahuje infor-

mace ze všech voxelů, takže výsledný poměr signál/šum v zásadě odpovídá analogickému SVS měření s toutéž délkou měření a toutéž velikostí voxelu. Techniky SI jsou bohužel podstatně náročnější než techniky jednovoxelové jak z hlediska akvizice dat, tak i jejich interpretace. Vzhledem k tomu, že z hlediska uplatnění v klinické praxi má SI určitě daleko větší význam než SVS techniky, bude nutné, aby výrobci MR zařízení rychleji, než doposud pokračovali ve vývoji jak technických prostředků, tak i experimentálních technik pro získávání dat dostatečně kvalitních pro jejich solidní zpracování.

V případě SI je nutné provádět akvizici MR signálů z oblastí, které jsou mnohdy o dva až tři řády větší, než tomu je v případě SVS, a které zahrnují nejen centrální části mozku, ale i jeho okrajové části, zatížené mnohdy výraznými deformacemi magnetického pole vlivem velkých změn magnetické susceptibility na rozhraních vzduch–tkáň, kost–tkáň. Kromě toho se v těchto oblastech může RF pole značně odlišovat od nominálních hodnot. To, společně s efekty vířivých proudů, může značně komplikovat potlačování silných a mnohdy i silně deformovaných signálů vody a podkožního tuku. Z těchto důvodů byla až doposud naprostá většina SI měření prováděna při dlouhých echo-časech (delších než 100 ms), kdy jsou uvedené nežádoucí efekty potlačeny. V klinické rutině se SI měření s krátkými echo-časy začínají provádět v omezené míře teprve v posledních 2–3 letech.

S dalšími problémy se metody SI setkávají při snaze maximalizovat jak spektrální, tak i prostorové rozlišení. Pro dosažení dobrého spektrálního rozlišení je nutné dosáhnout toho, aby nehomogenita magnetického pole v každém voxelu byla co nejmenší. Tato nehomogenita je do značné míry určena nehomogenitou magnetické susceptibility, a ta bude tím menší, čím menší bude rozměr měřeného voxelu, tzn. čím větší bude prostorové rozlišení. Zvětšení prostorového rozlišení, tedy zmenšení voxelů, se dosáhne příslušným zvětšením počtu fázově kódovacích kroků pro daný rozměr VOI. Bohužel při zvětšování prostorového rozlišení rostou nároky na dobu měření. Při fázově kódovací matici $24 \times 24 \times 12$ je pro standardní akvizici dat při opakovací periodě 0.5 s a 25 % redukcí použitím váhování v k-prostoru zapotřebí cca 45 minut, což je doba pro klinické aplikace většinou naprosto nepřijatelná.

Zkrácení doby měření lze dosáhnout např. vhodným kódováním prostorové informace v průběhu akvizice. U MR skenerů s kvalitním gradientním systémem lze v současné době použít spektroskopické varianty techniky planárního echa – EPSI (echo planar spectroscopy), jímž lze snížit dimenzi fázového kódování, a tím délku měření zkrátit o řád (přirozeně při odpovídajícím snížení poměru signál/šum).

Jiné přístupy ke zkrácení doby měření nebo zvětšení rozlišení, využívající principů užívaných v dnešních rychlých zobrazovacích technikách (paralelní akvizice několika detekčními cívkami, pulsní sekvence s omezením saturace) jsou předmětem současného vývoje.

Výsledkem SI měření jsou obrovské objemy dat. Změříme-li například VOI s rozměry $12 \times 12 \times 6 \text{ cm}^3$ s rozlišením poskytujícím nominální objem voxelu $0,125 \text{ cm}^3$, získáme 6912 spekter. Interaktivní zpracování tak velkého počtu in vivo MR spekter nepřichází pro klinické aplikace v úvahu. Pro klinické aplikace je naprosto nezbytná robustní, spolehlivá a rychlá automatická analýza.

Analýza protonových in vivo MR spekter

Požadavky na primární kvalitu spekter

Kvantifikace protonových in vivo MR spekter je velmi komplikovaný problém i u relativně jednoduchých SVS experimentů, a tím spíše u SI experimentů, produkujících obrovská množství dat, která mohou být, zejména v experimentech s krátkými echo-časy, v daleko větší míře, než tomu je v SVS, zatížena celou řadou nežádoucích experimentálních artefaktů. Má-li mít vyhodnocování SI dat smysl, je nutné, aby primárně byla zajištěna co nejvyšší kvalita časových signálů z VOI, a to volbou optimálních akvizčních parametrů (echo-čas, prostorová lokalizace), potlačením zdrojů deformací měřených signálů (minimalizací pohybů a dalších nestabilit), požadovaným potlačením silných signálů vody a podkožních tuků.

Korekce

Při zpracování experimentálních časových dat hraje v SI významnou roli korigování primárně získaných spekter. Hlavní význam má korekce nehomogenity základního pole, tj. chemického posunu a tvaru spektrálních čar, jejímž cílem je upravit měřená data do snáze analyzovatelné podoby. K tomuto účelu může být využit interní referenční signál – většinou signál vody. Ten lze takto použít tehdy, není-li kontaminován signály z okolí ani deformován nedokonalou spinovou manipulací. Nesplňují-li spektra v některých voxidech ani po provedené korekci požadovaná kritéria, je nutné je vyloučit z dalšího vyhodnocování.

Analýza

Získaná kmitočtová spektra jsou podrobována analýze s cílem získat biochemické

informace umožňující detekovat a vyhodnocovat případná onemocnění. Je žádoucí, aby analýza pro účely rutinní klinické praxe byla co nejjednodušší, robustní, co nejvíce automatizovaná a přitom umožňovala získat dostatečné množství požadovaných informací. Dominantní význam pro analýzu MR spekter má stanovení integrálních intenzit všech jednotlivých v nich obsažených signálů (singletů i multipletů). Tyto integrální intenzity kromě koncentrace příslušného typu molekul závisí na mnoha parametrech (relaxačních časech, parametrech měřících sekvencí, přístrojových artefaktech apod.), jejichž vliv je v některých případech znám pouze s omezenou přesností a někdy není znám vůbec. Vzhledem k této skutečnosti nemá smysl snažit se s dnešními prostředky v případě rutinních klinických aplikací metody SI o absolutní kvantifikaci naměřených MR spekter. Jako nejvhodnější se pro vyhodnocování těchto spekter jeví stanovení relativních intenzit signálů metabolitů, získávaných v případě SI z mnoha oblastí mozku, tedy z oblastí zdravých i patologicky změněných. Podle požadavků lze měřit MR spektra lišící se použitými echo-časy anebo opakovacími periodami TR. K vyhodnocování jsou k dispozici jak softwarové nástroje dodávané výrobcí MR systémů, tak nezávislé programy. Důležitou informací, kterou některé z nich poskytují, jsou údaje o spolehlivosti kvantifikace (konfidenčních oblastech kvantitativních údajů), s jejichž pomocí lze hodnověrnost jednotlivých kvantitativních parametrů posoudit objektivněji než např. prostým zobrazením reziduí (rozdílů skutečných a modelových spekter). Tuto informaci nelze nahradit ani dodatečně provedeným statistickým vyhodnocením aplikovaným bez znalosti matematického modelu a mechanismu stanovení parametrů.

Prezentace dat

Data získaná v SI experimentech mohou být prezentována různým způsobem. Základní způsob prezentace spočívá v zobrazování spekter v polohách jednotlivých voxelů. Druhým způsobem je zobrazování prostorových map jednotlivých metabolitů na základě naměřených integrálních intenzit. Třetím základním způsobem je zobrazování prostorových poměrů integrálních intenzit dvou metabolitů. Uvedené způsoby zobrazování mohou být dále vhodným způsobem modifikovány. Současně s SI obrazy jsou většinou zobrazovány i anatomické struktury mozku, získané pomocí MRI s lepším prostorovým rozlišením. Příklady prezentace MR dat jsou uvedeny na obrázku 3 a 4. Srozumitelné zapojení informace o spolehlivosti dat do jejich vizuální prezentace je problematické.

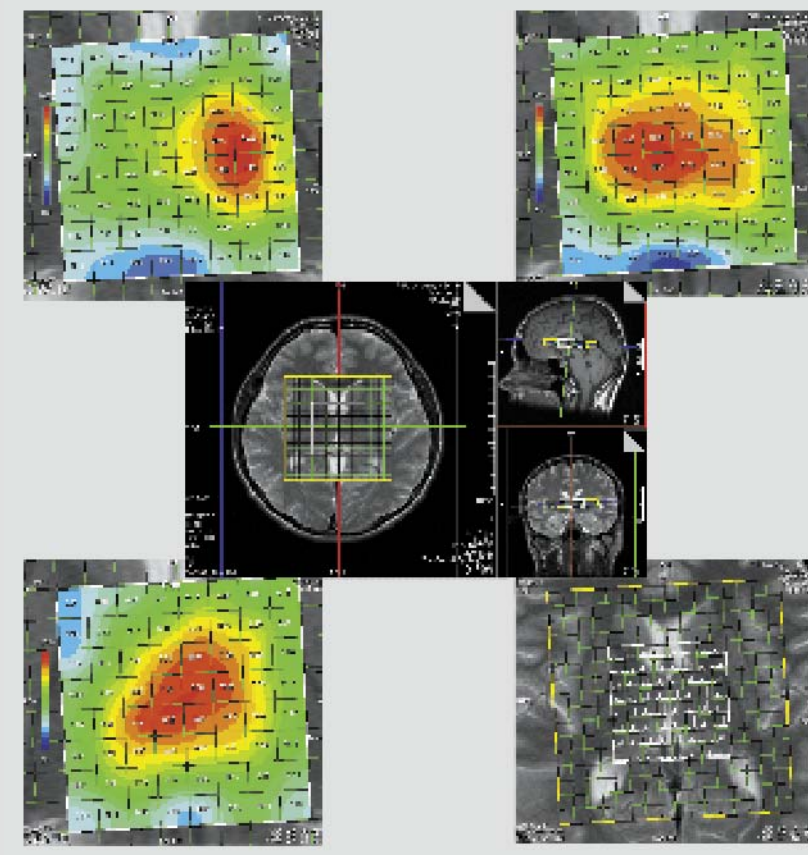
Aplikace

Chemické posuny metabolitů a jejich průměrné fyziologické koncentrace

Chemické posuny (chemical shift, CS) rezonančního kmitočtu atomového jádra vypovídají o molekule, jejíž jsou součástí. Metabolity jsou identifikovány na základě chemických posunů jejich rezonančních čar vzhledem ke známému standardu – tetrametylsilanu (TMS) a udávají se v relativních jednotkách ppm (miliontinách rezonančního kmitočtu), jejichž výhodou je nezávislost na intenzitě magnetického pole. Osa chemických posunů se ve spektrech tradičně orientuje tak, že hodnoty posunu rostou zprava doleva.

Nejbližší k TMS leží signál aminokyseliny N-acetylaspartátu – NAA. NAA s chemickým posunem 2,02 ppm a koncentrací 8–9 mM je neuronový marker. Jeho koncentrace klesá při velkoobjemových lézích, demenci apod. Několik menších signálů ležících vlevo od maxima jsou jednak rovněž signály NAA (2,5 a 2,6 ppm) a jednak signály glutamátu – Glu (aminokyselina) a glutaminu – Gln (amin). V poli 1,5 T nejsou spektra Glu a Gln rozlišitelná (obě složky jsou pak souhrnně označovány jako Glx), v poli 3 T je rozlišení částečné. Poměr Glu/Gln je cca 5. V poloze 3,03 ppm je rezonanční čára (pík) metylové skupiny kreatinu – Cr/PCr; druhý pík – metylénový – je v poloze 3,9 ppm. Kreatin je amin a je marker energetického metabolismu. Jeho koncentrace se mění i při různých onemocněních poměrně málo, a proto slouží často jako vnitřní standard při porovnávání relativních koncentrací metabolitů. V poloze 3,22 ppm je signál látek obsahujících cholin – Cho. Tento signál je považován za nejvýznamnější signál v MRS mozku. Je markerem porušování buněčných membrán a jeho koncentrace se zvyšuje zejména při nádorových onemocněních. „Higher grade“ nádory jsou obvykle provázeny výrazným zvýšením koncentrace Cho. Zvyšování koncentrace Cho však není příliš specifické. Dochází k němu např. i při akutní demyelinaci, a proto při hodnocení změn Cho je vždy nutné pečlivě sledovat změny koncentrací i dalších metabolitů. V poloze 3,56 ppm se nachází první multiplot myo-inositolu – mI; jeho druhý multiplot je v poloze 4,06 ppm. Myo-inositol je cukr a je to základní osmolyt. Jeho koncentrace se zvyšuje např. při gliových nádorech a Alzheimerově chorobě. Vzhledem k multiplotové struktuře signálu a krátkému relaxačnímu času T2 může být myo-inositol detekován pouze při použití krátkých echo-časů. Při některých onemocněních se v 1H MR spektrech objevují signály tuků v polohách 0,9 a 1,2–1,5 ppm. Jsou markéry destrukce buněčných membrán, koncentrace tuků se zvyšuje zejména při nádorových onemocněních, abscesech, radiční

Obrázek 3. In vivo 1H MR spektra mozku (talampus) pacienta s idiopatickou generalizovanou epilepsií. PRESS-SI, TR = 1.36 s, TE = 80 ms, 12 skenů, VOI = 40×40×10 mm, obrazová matice 16×16, velikost voxelu 0.25 ml (5×5×10 mm), celková doba měření 7:53 min. Mapy koncentrací jednotlivých metabolitů (NAA, Cr, Cho), MR spektra VOI, lokalizace VOI (bílý čtverec). Spektrum bylo změněno a zpracováno autory článku na MR tomografu Siemens Symphony (1.5 T) ve FN u sv. Anny, Brno



nekróze. V poloze 1,33 ppm se nachází dublet laktátu. Koncentrace laktátu jsou zvýšeny při akutní mozkové mrtvici, „high grade“ nádorech, např. glioblastomech, jako důsledek anaerobní glykolýzy.

Při vyhodnocování změn koncentrací metabolitů je nutné brát v úvahu všechny postižitelné vazby. U „low grade“ gliomů, stejně jako u akutní demyelinace, se zvyšuje Cho a klesá NAA a Cr. „High grade“ nádory jsou provázeny většinou zvýšením koncentrace tuků, laktátu i cholinu. U abscesů dochází ke zvýšení koncentrací tuků a aminokyselin (0,9 ppm), ale nikoliv Cho. Toho lze využít k rozlišení nekrotických tumorů od abscesů. Obdobně lze navzájem odlišit recidivující multiformní glioblastom od radiční nekrózy, ve které je koncentrace Cho nezvýšena.

Značnou předností 1H MRS je, že mnohé z uvedených patologických změn nelze zjistit, zejména v raném stadiu, jinými metodami, včetně MRI.

Klinické neurologické aplikace in vivo 1H MRS

Klinické aplikace MRS v neurologii vycházejí ze skutečnosti, že MR spektra zdravého

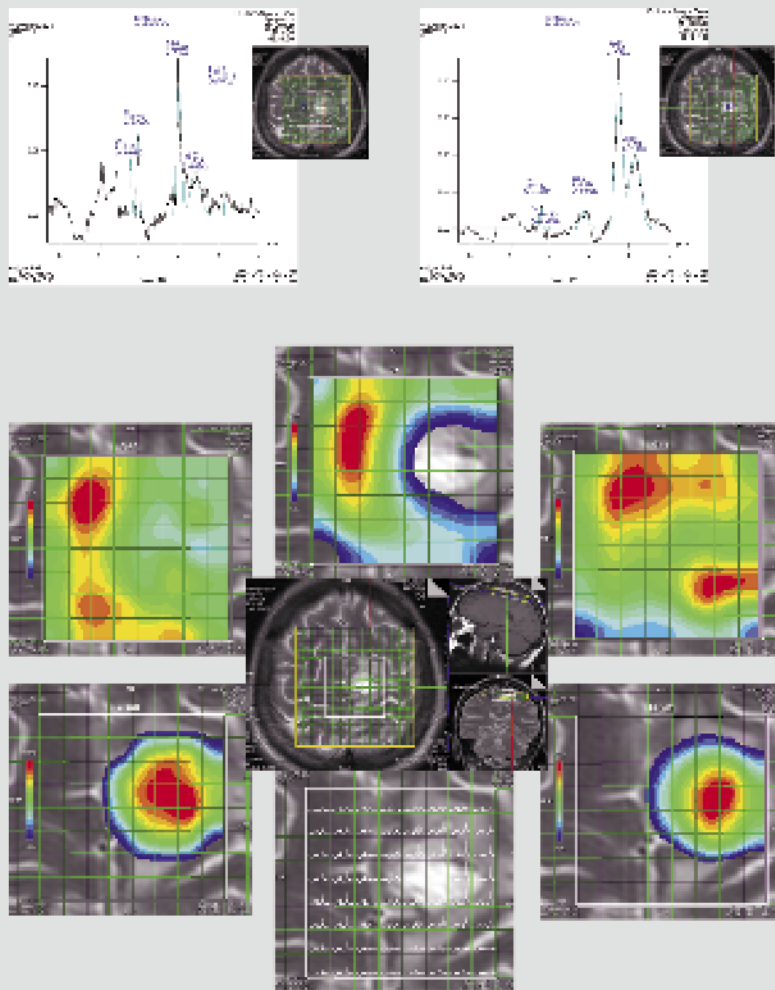
mozku jsou velmi konstantní a že k jejich změně dochází většinou v důsledku nežádoucích biochemických procesů. Tyto biochemické procesy předcházejí většinou makroskopické strukturální změny, takže MRS může rychleji než MRI detekovat různé patologie. Tyto patologie se mohou projevovat buď kvantitativními změnami signálů metabolitů normálně přítomných v mozku nebo objevením signálů, které v normálním mozku nejsou pozorovatelné.

Klinická neurospektroskopie má dva základní cíle:

- stanovit biochemické charakteristiky poskytující hlubší informace o patofyziologii onemocnění, a tím přispět ke zkvalitnění léčebných postupů
- získat diagnostické informace rozšiřující informace poskytované jinými klinickými vyšetřeními, laboratorními testy a konvenčním zobrazováním struktur mozku.

Při hodnocení spekter se nejdříve hodnotí signály čtyř základních metabolitů, a to: NAA (pokles signálů svědčí o procesech vedoucích ke ztrátě neuronů), tCr (pokles svědčí o energetickém deficitu), tCho (změny indikují změny probíhající v buněčných membránách), mI

Obrázek 4. In vivo ^1H MR spektra mozku pacienta s glioblastomem. PRESS-SI, TR = 1.36 s, TE = 30 ms, 12 skenů, VOI = $40 \times 40 \times 10$ mm, obrazová matice 16×16 , velikost voxelu 0.25 ml ($5 \times 5 \times 10$ mm), celková doba měření 7:53 min. Nahoře MR spektrum z oblasti mimo tumor a z oblasti postižené tumorem. Dole mapy koncentrací jednotlivých metabolitů (NAA, Cr, Cho, lipidy), MR spektra uvnitř VOI, lokalizace VOI (bílý čtverec). Spektrum bylo změřeno a zpracováno autory článku na MR tomografu Siemens Symphony (1.5 T) ve FN u sv. Anny, Brno



(změny indikují patologické změny astrocytů). V dalším kroku se vyhodnocují zejména signály laktátu, tuků, makromolekul (proteinů) a některých aminokyselin.

Doposud nejvíce klinických aplikací in vivo ^1H MRS se týkalo epilepsie a různých mozkových nádorů.

Epilepsie (2, 7, 9, 12, 20)

Na pokroku dosaženém při studiu etiologie epilepsie mají značný podíl moderní zobrazovací metody a zejména MRI. Bohužel však u značného procenta pacientů, trpících epileptickými záchvaty, nejsou v MRI obrazech viditelné žádné morfologické změny mozkového parenchymu. Na rozdíl od toho byly u epileptiků pozorovány signifikantní abnormality v ^1H MR spektrech, svědčící o přítomnosti patologických metabolických procesů. Největší pozornost je v současné době soustředěna na mezeitemporální epilepsii, která je nejčastěji indikována k epileptochi-

rurgickým řešením. MRI neposkytuje mnohdy dostatek potřebných informací. Ukázalo se, že ^1H MRS může velmi účinně přispět k lateralizaci epileptogenních zón před zvažováním chirurgickými zákroky. Nejvýznamnějším nálezem je u těchto nemocných pokles signálu NAA, odrážející buď úbytek nebo dysfunkci neuronů. ^1H MRS umožnila zjistit bilaterální abnormality u řady nemocných, nezaznamenaných jinými metodami. Informace o bilaterálních abnormalitách mohou být přitom důležité pro zvažované epileptochirurgické zákroky. Někdy je pozorováno zvětšení signálu Cr a Cho v epileptogenních zónách. Nárůst Cho bývá připisován glióze. Změny Cr a Cho, a tedy i poměry NAA/Cr a NAA/Cho, však nemusí poskytovat spolehlivé informace, a proto je nutné postupovat při jejich hodnocení velice opatrně. Sledování změn koncentrací neurotransmiterů glutamátu, glutaminu a zejména GABA, které je z hlediska studia etiologie epilepsie velmi zajímavé, je

bohužel, vzhledem k nízkým koncentracím těchto metabolitů a multipletové struktuře jejich spekter, realizovatelné v klinických podmínkách jen ve velmi omezené míře. V tkáních, které se bezprostředně podílejí na procesech vedoucích k záchvatům, se může někdy objevit signál laktátu jako důsledek aktivované anaerobní glykolýzy. Tento laktátový signál může sloužit jako přímý marker aktivity epileptických záchvatů.

Využití ^1H MRS u extratemporálních epilepsií je problematictější než u mezeitemporální epilepsie. Hlavní problémy spočívají v tom, že epileptická ložiska mohou být u extratemporálních epilepsií velmi rozsáhlá a špatně definovaná.

Mozkové nádory (4, 5, 6, 8, 11, 13, 15, 16, 19)

Počet mozkových nádorů celosvětově stále narůstá. Odhaduje se, že v současné době tvoří intrakraniální nádory 5–10 % všech primárních nádorových onemocnění. Jejich včasná a přesná diagnóza je základním předpokladem úspěšné terapie. Základní metodou pro stanovení typu a stupně malignity (WHO grade) je stále ještě histopatologické vyhodnocování biopsií. Vzhledem k rizikovosti konvenční biopsie a doposud dosaženým výsledkům se postupně zvětšuje význam ^1H MRS jako neinvazivní „biopsie“ pro přípravu neurochirurgických zákroků, monitorování odezvy nádorů na neurochirurgickou léčbu, včasnou detekci recidivujícího nádorového bujení apod.

Většinu intrakraniálních nádorů vyskytujících se v dospělosti tvoří gliomy (z nich nejčastější jsou astrocytomy s řadou histologických forem), meningeomy a metastázy. Na diagnostiku těchto nádorů a jejich diferenciaci je proto soustředěna největší pozornost in vivo ^1H MRS. Dosavadní poznatky lze shrnout přibližně takto:

A) **Astrocytomy:** hladina NAA klesá ve všech typech astrocytomů v důsledku náhrady zdravých neuronů infiltrujícími nádorovými buňkami. Koncentrace tCho v nádorech se zvyšuje hlavně v důsledku probíhající syntézy buněčných membrán a nárůstu počtu buněk. Současné zvyšování koncentrace ml a tCho je markérem low-grade astrocytomů. Koncentrace tCho narůstá s malignitou nenekrotických nádorů (charakterizovaných nízkou hladinou tuků). V high-grade nádorech přítomnost nekrózy zmenšuje absolutní koncentrace metabolitů (ředění), a proto je spolehlivější vyhodnocovat tyto nádory ze změn poměrů integrálů signálů metabolitů. Koncentrace tCr se v astrocytech mění většinou málo (mírný pokles byl zaznamenán v low-grade gliomech).

Poměr tCr-tCho naměřený při dlouhém echo-času se proto jeví jako dobré kritérium pro odlišení grade (a tedy malignity) astrocytomů. S malignitou astrocytomů se zvětšuje koncentrace tuků a laktátu, což svědčí o nárůstu podílu nekrotických a kyslíkem nedostatečně zásobených tkání. Kombinovaný signál mezi 1,2 a 1,6 ppm, obsahující signály alaninu, laktátu a tuků, byl nalezen jako vhodný pro určování grade astrocytomů. Nádorová tkáň je většinou velmi nehomogenní, což značně komplikuje vyhodnocování změn koncentrací metabolitů. Ukazuje se stále více, že údaje o koncentracích tuků a makromolekul (proteinů) mohou dobře charakterizovat jak stádium růstu, tak i malignity nádorů. Důležitým úkolem je odlišení astrocytomů od nenádorových lézí. Abscesy lze odlišit od high-grade astrocytomu (např. multiforního glioblastomu) tím, že hladina tCho je nízká (stejně jak tomu je v nekrotických a cystických oblastech high-grade astrocytomu). Radiační nekróza lze odlišit znatelným poklesem koncentrací nejen NAA a tCr, ale i tCho a širokým signálem mezi 0 a 2 ppm, zahrnujícím signály pohyblivých tuků, aminokyselin a laktátu.

- B) **Metastázy:** solitární metastázy nelze odlišit od primárních mozkových nádorů běžně používanými zobrazovacími technikami. Bohužel velmi obtížné se tyto metastázy rozlišují od primárních high-grade nádorů i pomocí ¹H MRS.
- C) **Meningeomy:** v diagnostice meningeomů hraje ¹H MRS menší roli, než tomu je u astrocytomů. Zejména snížené hladiny ml a tCr a vyšší hladina alaninu jsou uváděny jako indikátory meningeomu. Další diagnostické aplikace (1, 3, 14, 18).

Roztroušená skleróza (RS)

Roztroušená skleróza je nejčastější závažná demyelinizační choroba centrálního nervového systému. Postižena je hlavně bílá hmota mozku. V počáteční fázi vývoje RS, které je charakterizováno střídáním období relapsů a remisí, nemusí MRI vykazovat žádné změny v bílé hmotě mozku. Na rozdíl od toho v MR spektrech mohou být se značným předstihem viditelné zřetelné změny koncentrací zejména NAA (zvětšování koncentrace jako odraz destrukce nebo ztráty funkčnosti axonů), ml a celkového Cho (zvětšování koncentrací jako odraz zánetů anebo demyelinizace). Plaky, objevující se v chronickém stadiu RS, vykazují větší změny koncentrací metabolitů. V důsledku zvětšující se demyelinizace se zvyšuje koncentrace Cho, lipidů, makromolekul, volných

aminokyselin. Glióza a hyperplazie astrocytů vede ke zvýšení koncentrace ml. Ztráty neuronů způsobují pokles koncentrace glutamátu a glutaminu. Pro získání co největšího množství informací o typu a průběhu RS je žádoucí měřit MR spektra z co největšího objemu mozku při použití MRS techniky s velmi krátkým echo-časem. Získané MRS informace mohou významně přispět k volbě vhodných léčebných postupů, přihlížejících k převládajícímu typu RS.

Traumatická poranění mozku (traumatic brain injury-TBI)

Protonová in vivo MR spektroskopie má hlavní význam pro vyšetřování pacientů, kteří se po úrazu mozku nacházejí ve stabilizovaném stavu. Hlavní pozornost je soustředěna na stanovení hladiny NAA, charakterizujícího stupeň axonového a neuronového poškození, a na měření koncentrací Cho a glutamátu. Zvýšená hladina tCho svědčí o destrukci nebo naopak nebo rychlé obnově membrán anebo o přítomnosti zánetlivých procesů. Z hlediska prognostického je obvykle velmi nepříznivá přítomnost laktátu anebo tuků ve spektrech. MRS může účinně přispět zejména k monitorování průběhu poúrazové terapie a indikování jejich případných změn.

Infekční choroby

Ve vztahu k infekčním chorobám byla až doposud největší pozornost neurologických aplikací protonové in vivo MRS zaměřena na zjišťování metabolických změn, ke kterým v mozku dochází v důsledku HIV infekce. Jedná se o zjišťování metabolických změn, ke kterým dochází jednak působením samotné HIV infekce a jednak působením HIV/AIDS stimulovaných lézí, kterými jsou hlavně mozková toxoplazmóza, progresivní fokální leukoencefalopatie (PML) a primární mozkový lymfom. Pro každou z těchto lézí je vhodná jiná terapie. Měření biochemických změn v mozku pomocí MRS může přispět ke stanovení správné diagnózy, a tím ke správné volbě terapie. Protonové MRS profily uvedených lézí jsou přibližně charakterizovány takto: Toxoplazmóza (absces) – velký signál

lipidů a laktátu. PML – průměrně zvětšený signál tuků a laktátu, snížený signál NAA a (možná) Cr, normální nebo mírně zvýšený Cho, měnící se ml. Lymfom – zvětšený signál lipidů a laktátu, podstatně zmenšený signál NAA, zmenšený signál Cr, zvětšený signál Cho, velmi malý signál ml.

Protonová MRS může rovněž přispět k diagnostikování infekční encefalitidy (snížený NAA, zvětšený Cho a ml).

Degenerativní choroby

Za klinicky velmi slibné je považováno uplatnění MRS při monitorování progresu anebo odezvy na terapii v případě neurodegenerativní Alzheimerovy demence (AD). V případě této demence dochází, obdobně jako u dalších typů demencí, k poklesu NAA. AD však lze od jiných demencí odlišit díky tomu, že protonová MR spektra se v případě AD vyznačují výrazně zvětšeným signálem ml.

Protonová MRS byla v omezené míře aplikována rovněž při diagnostikování dalších degenerativních chorob, jako např. Parkinsonovy, Huntingtonovy a Creutzfeldt-Jakobovy choroby.

Ischemie / mozková hypoxie

MRS vykazuje poměrně dobrou citlivost k poškozením mozkových tkání vedoucím k hypoxii. Charakteristickým rysem hypoxie je pokles NAA. V návaznosti na příčinu hypoxie se mohou měnit koncentrace všech dalších metabolitů, Cho, Cr, ml, Glx, laktátu, lipidů.

Kromě uvedených aplikací se protonová in vivo MRS uplatnila rovněž při diagnostikování vrozených poruch metabolismu, různých psychiatrických chorob, některých celkových onemocnění apod.

Závěrem lze konstatovat, že uplatňování in vivo ¹H MRS v klinické praxi je i nadále provázáno řadou problémů a zdaleka ještě nedosahuje očekávané úrovně. Lze však předpokládat, že díky dalšímu zkvalitňování MR přístrojové techniky, experimentálních metod, programového vybavení, nových matematických vyhodnocovacích metod apod. dojde určitě v dohledné době ke zlepšení tohoto stavu.

Literatura

1. Burtcher IM, Holtas S. Proton MR spectroscopy in clinical routine. J Magn Reson Imaging 2001; 13: 560–567.
2. Chu WJ, Kuzniecky RI, Hugg JW, et al. Statistically driven identification of focal metabolic abnormalities in temporal lobe epilepsy with corrections for tissue heterogeneity using ¹H spectroscopic imaging. Magn Reson Med 2000; 47: 195–200.
3. Danielsen ER, Ross B. Magnetic resonance spectroscopy of neurological diseases. New York: Marcel Dekker, 1999.
4. Devos A, Lukas L, Suykens JAK, Vanhamme L, et al. Classification of brain tumors using short echo time ¹H MR spectra. J Magn Reson 2004; 170: 164–175.

5. Dowling C, Bollen AW, Noworolski SM, et al. Preoperative proton MR spectroscopic imaging of brain tumors: correlation with histopathological analysis of resection specimens. *American Journal of Neurology* 2001; 22: 604–612.
6. Hagberg G, Burlina AP, Mader I, Roser W, et al. In vivo proton MR spectroscopy of human gliomas; definition of metabolic coordinates for multi-dimensional classification. *Magn Reson Med* 1995; 34: 242–252.
7. Hammen T, Stefan H, et al. Clinical applications of 1H-MR spectroscopy in the evaluation of epilepsies – What do pathological spectra stand for with regard to current results and what answers do they give to common clinical questions concerning the treatment of epilepsies? *Acta Neurol Scand* 2003; 108: 223–238.
8. Howe FA, Barton SJ, Cudlip SA, Stubbs M, et al. Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo 1H magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med* 2003; 49: 223–232.
9. Jackson JD, Connely A. New NMR measurements in epilepsy. T2 relaxometry and magnetic resonance spectroscopy. *Adv Neurol* 1999; 79: 931–937.
10. Kreis R. Quantitative localized 1H-MR spectroscopy for clinical use. *Prog. NMR Spectroscopy* 1997; 31: 155–195.
11. Kugel H, Heindel W et al. Human brain tumors: spectral patterns detected with localized H-1 MR spectroscopy. *Radiology* 1992; 186: 701–709.
12. Kuzniecky R, Hugg JW, Abou-Khalil B, et al. Predictive value of 1H MRSI for outcome in temporal lobectomy. *Ann Neurol* 1999; 53: 694–698.
13. Law M, Cha S, Knopp EA, Johnson G, Arnett J, Litt AW. High-grade gliomas and solitary metastases: differentiation by using perfusion and proton spectroscopic MR imaging. *Radiology* 2002; 222: 715–721.
14. Mukherji SK. *Clinical applications of MR spectroscopy*. New York: Wiley-Liss 1998. 317 s.
15. Schlemmer HP, Bachert P, Henze M, Buslei R et al. Differentiation of radiation necrosis from tumor progression using proton magnetic resonance spectroscopy. *Neuroradiology* 2002; 44: 216–222.
16. Tate AR, Majos C, Moreno A, et al. Automated classification of short echo time in vivo 1H MR brain tumor spectra: a multicenter study. *Magn Reson Med* 2003; 49: 29–36.
17. Tkáč I, Starčuk Z, Choi IY, Gruetter R. In vivo 1H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. *J Magn Reson* 1999; 41: 649–656.
18. Tofts PS. Spectroscopy: 1H metabolite concentrations, in quantitative MRI of the brain. John Wiley & Sons 2003; 299–339.
19. Tong Z, Yamaki T, Harada K, Houkin K. In vivo quantification of the metabolites in normal brain and brain tumors by proton MR spectroscopy using water as an internal standard. *Magn Reson Imaging* 2004; 22: 1017–1024.
20. Vermathen P, Laxer KD, Matson GB, Weiner MW. Hippocampal structures: antero-posterior N-acetylaspartate differences in patients with epilepsy and control subjects as shown with with proton MR spectroscopic imaging. *Radiology* 2000; 214: 403–410.