

¹H MR SPEKTROSKOPIE – II. STANOVENÍ TUKŮ A CITRÁTU

¹H MR SPECTROSCOPY – II. LIPIDS AND CITRATE

přehledový článek

Milan Hájek
Miloslav Drobný
Petr Šedivý
Monika Dezortová

Oddělení klinické a experimentální
 MR spektroskopie, Pracoviště
 radiodiagnostiky a intervenční
 radiologie, Institut klinické
 a experimentální medicíny

Přijato: 15. 11. 2017.

Korespondenční adresa:

Ing. Milan Hájek, DrSc.
 MR oddělení ZRIR
 IKEM
 Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4
 e-mail: miha@ikem.cz

Konflikt zájmů: žádný.

Podpořeno z programového pro-
 jektu Ministerstva zdravotnictví ČR
 s reg. č. 16-28427 A; MZ ČR – RVO
 (Institut klinické a experimentální
 medicíny – IKEM, IČ 00023001).
 Veškerá práva podle předpisů
 na ochranu duševního vlastnictví
 jsou vyhrazena.

Hlavní stanovisko práce

Stanovení obsahu tuků ve svaích a dalších
 orgánech se využívá pro stanovení stupně steatózy
 a studium metabolického syndromu. Editační spekt-
 roskopické techniky byly použity pro stanovení
 omega nenasycených mastných kyselin a pro
 studium věkových změn koncentrací metabolitů
 v prostatě.

SOUHRN

Hájek M, Drobný M, Šedivý P, Dezortová M. ¹H MR spektroskopie – II. stanovení tuků a citrátu

¹H MR spektroskopie je vhodnou metodou
 pro sledování zastoupení tuků v lidských
 tkáních. Umožňuje stanovit stupeň steatózy
 v játrech měřením poměrů intenzit signálů
 vody a signálů mastných kyselin. Spektro-
 skopické stanovení obsahu tuku dobře ko-
 reluje s histologickými vyšetřeními a vzhle-
 dem k neinvazivnosti je to metoda vhodná
 pro dlouhodobé sledování obsahu tuku
 v játrech. Obdobným způsobem lze stanovit
 obsah tuku v myokardu. V kosterních sva-
 lech je možné stanovovat intra- a extrace-
 lulární tuk a pro toto stanovení se využívají
 editační ¹H MRS techniky, které měří spek-
 tra s různým echo časem. Pokročilé editační
 techniky jako je oMEGA PRESS umožňují
 neinvazivní stanovení omega mastných ky-
 selin. Do skupiny vyšetřování, které využí-
 vají editační techniky, patří i stanovení kon-
 centrace metabolitů v prostatě. Koncentrace
 citrátu roste významně s věkem zdravých
 mužů. Pro dlouhodobé sledování anebo při
 vyšetřování pacientů je nezbytné tyto věkové
 závislosti brát do úvahy.

Klíčová slova: ¹H MR spektroskopie, lipi-
 dy, citrát, játra, srdce, sval, prostata.

Major statement

The measurement of fat content in muscles and
 other organs is used for the determination of
 steatosis and for the study of metabolic syndrome.
 Editing spectroscopic procedures were used to
 measure the content of omega unsaturated fatty
 acids and to study metabolite concentrations in
 prostate with aging.

SUMMARY

Hájek M, Drobný M, Šedivý P, Dezortová M. ¹H MR spectroscopy – II. lipids and citrate

¹H MR spectroscopy is a suitable method of
 fat evaluation in human body. It is possible
 to determine the level of liver steatosis using
 the measurement of water and fatty acids
 signal intensities. The results from spectro-
 scopy correlate well with the results of his-
 tology. The method is useful for long-term
 studies due to its non-invasive character.
 A similar examination procedure can be
 used for fat measurement in myocardium.
 Editing ¹H MRS techniques with different
 echo times are used to measure intra- and
 extracellular fat in muscles. Advanced edi-
 ting techniques such as oMEGA PRESS
 enable measuring the content of omega fatty
 acids. Editing techniques are also applied for
 the measurement of metabolite concentrati-
 ons in prostate. The concentration of citrate
 significantly increases with the age of heal-
 thy males. The age dependency of metabo-
 lite concentrations has to be considered in
 long-term studies as well as in the case of
 patients' examinations.

Key words: ¹H MR spectroscopy, lipids,
 citrate, liver, heart, muscle, prostate.

ÚVOD

V souvislosti se studiem metabolického syndromu se ukázalo, že *in vivo* ^1H MR spektroskopická analýza tkání obsahujících tuk umožňuje stanovit jeho množství a složení. To bylo už od devadesátých let 20. století využíváno pro stanovení koncentrace tuků v játrech a později i v myokardu. S rozvojem nových pulzních MR technik byly navrženy postupy stanovení intra- a extracelulárního tuku ve svalectech anebo stanovení omega mastných kyselin v tukové tkáni.

Na obrázcích 1 a 2 jsou ^1H MR spektra jater a srdce získaná měřením bez potlačení signálu vody. Editační techniky s potlačením vody umožňují stanovení intra- a extracelulárního tuku v lýtkových svalectech anebo stanovení koncentrace omega mastných kyselin v tukové tkáni tak, jak je demonstrováno na obrázcích 3 a 4.

Tuková tkáň představuje podstatnou energetickou zásobu lidského organismu. Tato zásoba je uložena v tukových buňkách s tukovými kapénkami, které tvoří polotekutá směs sloučenin dlouhých mastných kyselin (C15–C20) s glycerolem a cholesterolem. Z hlediska *in vivo* MR spektroskopie jsou to právě jen signály těchto sloučenin, které jsou pozorovatelné v ^1H MR spektrech společně se signálem vody o různé intenzitě v závislosti na sledovaném kompartmentu. Další důležité sloučeniny produkované a obsažené v tucích, jako jsou adipokiny, hormony aj., nejsou vzhledem k nízké koncentraci v *in vivo* MR spektrech viditelné.

Charakteristickým znakem *in vivo* MR spekter tukové tkáně jsou poměrně široké signály v důsledku krátkých T_2 relaxačních časů a velkého množství skupin s podobným chemickým složením. Z chromatografických analýz se ukazuje, že tuky jsou kombinací esterů nejméně 20 mastných kyselin. Ve spektrech proto můžeme identifikovat jen omezenou skupinu několika typů vodíkových skupin, jejichž chemické posuny jsou uvedeny v tabulce 1. Dominantními signály (kromě signálu vody) v ^1H MR spektrech těchto látek jsou signály CH_3 a CH_2 alifatických skupin. Pro popis struktury mastných kyselin se dále využívají intenzity signálů dvojných vazeb, signály CH_2 skupin sousedících s dvojnou, karbonylovou nebo esterovou vazbou. Jejich intenzity se obvykle vztahují k intenzitě signálu vody. Tak se vypočítává tzv. index nenasytenosti nebo obsah hepatocelulárních lipidů pro stanovení stupně steatózy. Pokročilými editačními technikami lze identifikovat omega-3 mastné kyseliny.

Všechny tyto metody byly v IKEM ověřeny, v některých případech doplněny a zavedeny pro výzkumné i klinické použití.

STANOVENÍ STUPNĚ JATERNÍ STEATÓZY

V případě jaterních onemocnění se metabolický syndrom projevuje jaterní steatózou, tzn. zvýšeným množstvím tuku v játrech. Zvyšování množství tuku v játrech od běžné nealkoholické jaterní choroby (NAFLD) k nealkoholické steatohepatitidě (NASH) může vést přes fibrózu a cirhózu někdy až k hepatocelulárnímu karcinomu. Samotné zjištění steatózy nepředstavuje pro moderní radiologické zobrazovací metody, jako je ultrasonografie, výpočetní tomografie (CT) nebo mag-

netická rezonance (MR), velký problém. Problémem však je kvantifikace tuku v játrech a jeho průběžné sledování v průběhu léčby. Jaterní biopsie, která je považována za nejlepší způsob zjištění tuku v játrech, je invazivní metoda a nedá se opakovat příliš často. Jejím omezením je také relativně velmi malý vzorek tkáně, který nemusí být reprezentativní pro celá játra. Proto je lokalizovaná *in vivo* MR spektroskopie jater dobrou alternativní metodou stanovení tuku v játrech a také standardem pro kalibraci MR zobrazovacích technik stanovení steatózy.

Základním postupem při stanovení obsahu tuku je naměření spektra v malém objemu jater – kolem 27 ml (single voxel technikou PRESS nebo STEAM) s co nejdelším repetičním a co nejkratším echo časem bez potlačení vody a při zadržném dechu (obr. 1). Obvykle se vyšetření provádí z několika míst jater – na našem pracovišti nejčastěji vyšetřujeme z jaterních segmentů V, VI, VII. Tímto způsobem se získají spektra, ve kterých jsou dvě skupiny signálů – alifatické signály v rozmezí 0,5–3 ppm a signál vody překrývající některé CH_2 a CH skupiny lipidů v rozmezí 4,5–5,4 ppm. Intenzity signálů v těchto oblastech se stanovují integrací nebo jinými způsoby, např. programy LCModel nebo jMRUI. Získané hodnoty intenzit potom slouží pro výpočet obsahu tuku (obr. 1B). Kvantitativní výpočet obsahu tuku v játrech publikovala jako první Longo (1) a dalšími autory byl výpočet zpřesňován, ale na podstatě výpočtu se nic nemění. Relativní poměr intenzit signálů příslušejících alifatickým protonům tuků a signálu vody (FTSA) je vyjádřen jednoduchým vztahem:

$$FTSA = S^a / (S^a + S^b) = S^a / S^t, \quad [1]$$

kde S^a a S^b jsou celkové intenzity signálů v oblasti alifatických protonů a (0,5–3 ppm; signály píků s maximy 0,9 ppm, 1,2 ppm, 2 ppm), a b (4,5–5,4 ppm; signály píků s maximy 4,7 a 5,3 ppm) (obr. 1). Objemové zastoupení tuku se vypočte rovnici:

$$\Phi_{fat} = 100 \frac{[FTSA / (N_v - FTSA)]}{[FTSA / (N_v - FTSA)] + 1,339} = 100FTSA / (1,138 - 0,339FTSA) \quad [2]$$

kde N_v (0,85) je poměr lipidových protonů v oblasti 0,5 až 3,5 ppm k celkovému počtu protonů v oblasti 0,5 do 5,5 ppm.

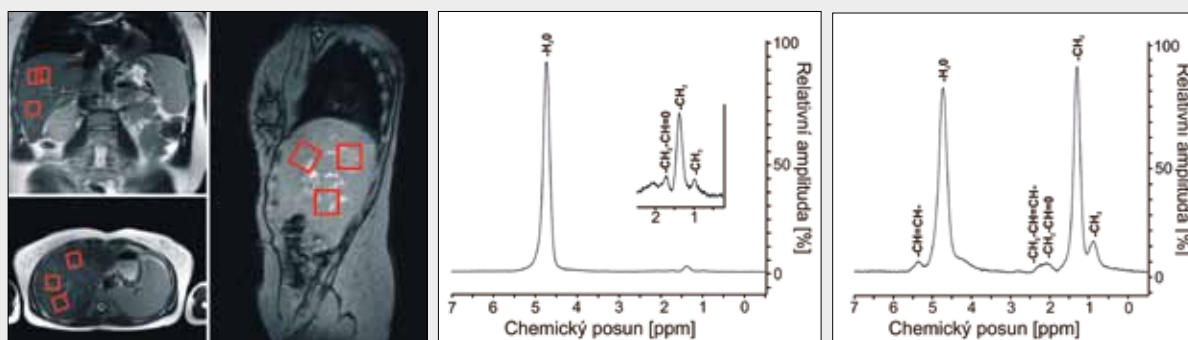
Pro výpočet správných intenzit signálů je třeba provést korekce na saturaci, tzn. vynásobit získanou experimentální intenzitu signálů korekčním faktorem na T_2 relaxace:

$$S_{T_2}^a = S^a [\exp(TE/T_2^a)]$$

$$S_{T_2}^b = S^b [\exp(TE/T_2^b)] \quad [3]$$

Pro korekce intenzit signálů v játrech se nejčastěji používají průměrné relaxační časy vody $T_2 = 27$ ms a $T_2 = 60$ ms pro lipidy (2, 3); druhou možností je využít relaxační časy naměřené přímo pro každý vyšetřovaný subjekt, což je správnější.

Jaterní steatóza je charakterizována zvýšenou akumulací triglyceridů v cytoplasmě hepatocytů. V cytoplasmě jsou triglyceridy soustředěny ve vakuolách. Pokud je vakuol velké množství nebo jsou příliš velké, mohou hepatocyty poškodit nebo i zničit. Na sledování počtu poškozených hepatocytů jsou založeny



▲ Obr. 1A

▲ Obr. 1B

▲ Obr. 1C

Obr. 1. Stanovení stupně steatózy ^1H MR spektroskopií. A – umístění jednotlivých analyzovaných objemů (VOI) v játrech pro ^1H MR spektroskopické vyšetření. MR obraz je získán sekvencí HASTE se zadržením dechu. Objem VOI je obvykle 27–30 ml, umísťuje se mimo velké cévy, nejčastěji do V., VI. a VII. segmentu jater. ^1H MR spektra z objemu 27 ml v šestém segmentu jater (3 T, sekvence PRESS s TR/TE = 4500/30 ms, bez potlačení signálu vody, jedna akvizice při zadržení dechu). % hepatického tuku byla vypočtena podle Longo z intenzit signálů ve dvou oblastech spektra – $S^a \sim 0,5\text{--}3,5$ ppm; $S^b \sim 4,0\text{--}5,5$ ppm. B – spektrum pacienta s nízkým obsahem tuku – 3,3 % (stupeň steatózy 1); C – spektrum pacienta s obsahem tuku 29,6 % (stupeň steatózy 3).

Fig. 1. Determination of liver steatosis by ^1H MR spectroscopy. A – position of volumes of interest (VOI) for ^1H MRS examination on an MR image obtained by the HASTE sequence with breath-hold. The volume of VOI is usually 27–30 ml; VOI should be positioned outside veins and arteries; most frequently in the V, VI and VII segment of the liver. ^1H MR spectra were measured from the volume of 27 ml in the sixth segment of the liver (3 T, sequence PRESS, TR/TE = 4500/30 ms, without water suppression, one acquisition with breath-hold). % of hepatic fat was calculated according to Longo from signal intensities in two ranges of spectra – $S^a \sim 0.5\text{--}3.5$ ppm; $S^b \sim 4.0\text{--}5.5$ ppm. B – the spectrum of the patient with a low hepatic fat content of 3.3% (steatosis level 1); C – the spectrum of the patient with a high hepatic fat content of 29.6% (steatosis level 3).

histologické metody (4). Podle počtu poškozených hepatocytů jsou steatóza a fibróza děleny do čtyř stupňů (5):

- stupeň S0 – bez steatózy (do 5 % poškozených hepatocytů)
- stupeň S1 – mírná steatóza (5–33 % poškozených hepatocytů)
- stupeň S2 – zvýšená steatóza (33–66 % poškozených hepatocytů)
- stupeň S3 – těžká steatóza (více než 66 % poškozených hepatocytů)

Korelace mezi spektroskopickými a histologickými nálezy je velmi silná, a to zvláště při nízkých koncentracích (nejvíce do stupně S2). Je to dáno tím, že ^1H MR spektroskopie je schopna zjistit velmi malé koncentrace lipidů v celém rozsahu stupnice s přesností kolem 1 %. V celém rozsahu histologické stupnice pak závislost nemusí být zcela lineární (6). Pro klinické zařazení pacientů do čtyřstupňové steatotické škály je použití ^1H MR stanovení množství tuku více než dostačující. Vysokou přesnost MR spektroskopie je možné využít pro detailní sledování obsahu tuku v klinických experimentech. Využili jsme toho v celé řadě studií (7–9).

Pokud jde o fibrózu, korelace mezi ^1H MR nálezy a histologií není příliš silná a v současné době jsou k dispozici další metody, jako je MR elastografie (10), které popisují fibrózu lépe.

STANOVENÍ LIPIDŮ V MYOKARDU

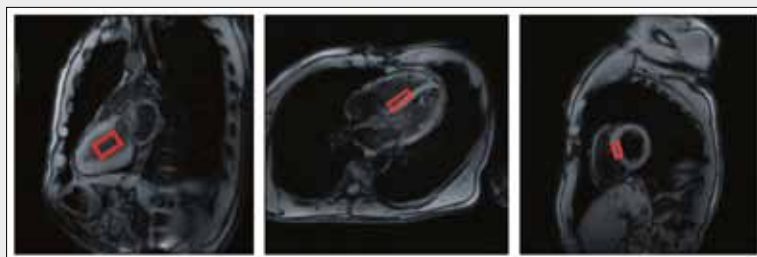
^1H MR spektroskopie srdce, podobně jako jeho MR zobrazování, patří k nejobtížnějším úkolům magnetické rezonance vzhledem k jeho pohybu – proudění krve a pohybovým artefaktům. V případě MR spektroskopie přistupuje k těmto obtížím navíc i lokální nastavení homogenity magnetického pole (tzv. shim) a měření z malého objemu tkáně, mnohem menší-

ho, než je tomu v případě jaterní steatózy. Vlastnímu spektroskopickému vyšetření, stejně jako u vyšetření jater, předchází MR zobrazování srdce a výběr VOI, o jehož velikosti rozhoduje především šířka komorového septa (obr. 2A). Spektroskopické vyšetření sekvencí s krátkým TE je synchronizováno se srdečním cyklem (EKG synchronizace) a dýchací pohyby se eliminují buď měřením při zadrženém dechu, nebo použitím navigátoru dechu, jež monitoruje pohyb bránice. Vzhledem k nízké koncentraci lipidů v srdeční tkáni a malému VOI je potřeba akumulovat více akvizic. Aplikace navigátoru dechu však značně prodlužuje celkové měření, neboť začátek náběru každé akvizice čeká na průnik signálů z EKG a navigátoru. Na druhou stranu, měření při zadrženém dechu může být pro pacienta obtížné, protože vyžaduje delší dobu zadržení dechu než například při vyšetření jater. Nicméně, sečtením spekter

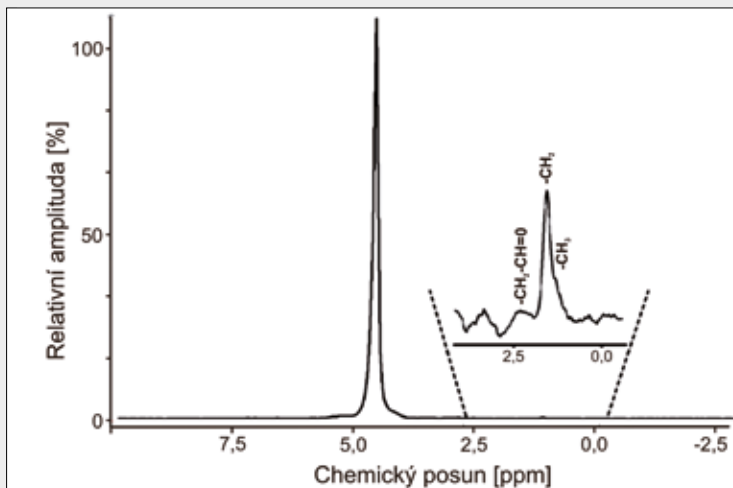
Tab. 1. Chemické posuny signálů funkčních skupin v in vivo ^1H MR spektrech tukové tkáně

Table 1. Chemical shifts of proton groups in in vivo ^1H MR spectra of fat tissue

Sloučenina/vazba	Typ protonu	ppm	Sloučenina / vazba	Typ protonu	ppm
olefinická vazba	-CH=CH-	5,31	diacyl	=CH-CH ₂ -CH=	2,77
voda	H ₂ O	4,7	alfa methylen	O=C-CH ₂ -	2,24
kreatin	-CH ₂ -	3,9 d	acetylkarnitin	CH ₃ -COO-	2,1
taurin	-CH ₂ -	3,40–3,45	alfa olefinický methylen	-CH=CH-CH ₂ -	2,02–2,1
glyceryl	-CH ₂ -OH -CH-OH	3,6 3,8	alfa olefinický methyl	-C=C-CH ₃	1,7
TMA choliny, karnitin	-(CH ₃) ₃	3,22	methylen EMCL IMCL	-(CH ₂) _n	1,30 1,49 1,20
kreatin	-CH ₃	3,2	methyl EMCL IMCL	-CH ₃	0,90 1,07 0,89



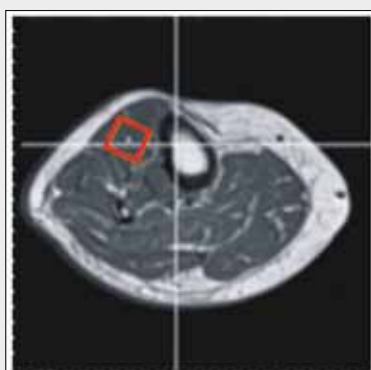
◀ Obr. 2A



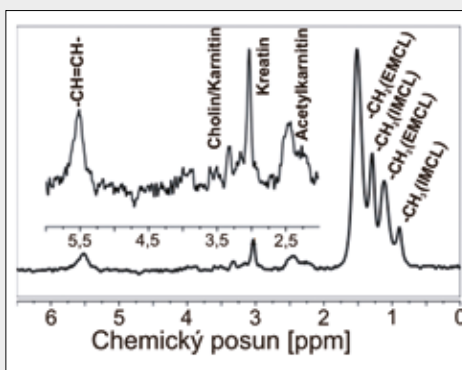
◀ Obr. 2B

Obr. 2. **¹H MRS myokardu zdravého dobrovolníka, 3 T tomograf.** A – umístění měřícího objemu (VOI) v myokardu. MR obraz je naměřen sekvencí FLASH (Fast Low Angle Shot) se zadržením dechu a EKG řízením. Objem VOI = 5 ml; B – ¹H MR spektrum z VOI o objemu 5 ml při 3 T, sekvence PRESS s TE/TR = 35/~ 5000 ms bez potlačení signálu vody se čtyřmi akvizicemi při zadržení dechu. Pro výpočet zastoupení tuku je naměřena integrální intenzita signálů ve dvou oblastech spektra (obr. 1) – $S^a \sim 0,5\text{--}3,5$ ppm, $S^b \sim 4,0\text{--}5,5$ ppm.

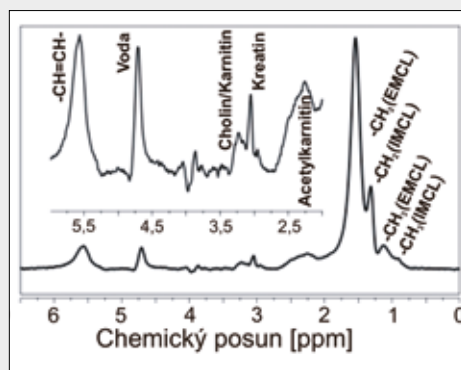
Fig. 2. **¹H MRS of myocardium of a healthy volunteer, 3 T system.** A – position of voxel of interest (VOI) in myocardium. The MR images are obtained by FLASH (Fast Low Angle Shot) sequence with breath-hold and ECG control. VOI = 5 ml; B – ¹H MR spectrum from VOI = 5 ml at 3 T, sequence PRESS with TE/TR = 35/~5000 ms without water suppression and with 4 acquisitions. The calculation of fat content is based on signal intensities in two parts of spectra – $S^a \sim 0.5\text{--}3.5$ ppm, $S^b \sim 4.0\text{--}5.5$ ppm.



▲ Obr. 3A



▲ Obr. 3B



▲ Obr. 3C

Obr. 3. **¹H MR spektrum z m. tibialis měřené při 3 T.** Objem VOI 8 ml, sekvence PRESS. A – spektrum měřené s dlouhým TE (TR/TE = 5000/270 ms); B – spektrum měřené sekvencí s krátkým TE (TR/TE = 5000/30 ms)

Fig. 3. **¹H MR spectrum from m. tibialis measured at 3T.** The VOI volume of 8 ml, PRESS sequence. A – spectrum measured with long TE (TR/TE = 5000/270 ms); B – spectrum measured with short TE (TR/TE = 5000/30 ms)

při opakovaném zadržení dechu lze dosáhnout naměření kvalitních spekter (obr. 2B). Tyto technické obtíže s MRS vyšetřováním myokardu jsou také hlavní příčinou necelé dvacítky prací věnovaných tomuto tématu.

Na našem MR pracovišti jsme provedli testování různých vyšetřovacích postupů se skupinou dobrovolníků „free-diverů“, kteří jsou schopni zadržet dech po delší dobu – až několik minut. Mohli jsme porovnat různé vyšetřovací protokoly (vyšetření při zadrženém dechu, použití navigátoru dechu a měření při volném dýchání). Výsledky z těchto experimentů jsou shrnuty v publikaci (11) a naměřené koncentrace tuku v myokardu odpovídají literárním hodnotám udávajícím, že zastoupení tuku vypočtené podle vztahu 1 je v myokardu kolem 0,6 %.

STANOVENÍ INTRA- A EXTRAMYOCELULÁRNÍHO TUKU VE SVALU

Použití ¹H MR spektroskopie pro analýzu tuků ve svalch bylo publikováno v pionýrské studii tübingenské MR skupiny (12) již v roce 1993, která popsala v ¹H MR spektrech kosterního svalu dva signály. Tyto signály byly identifikovány jako signály lipidů uvnitř svalové buňky (intramyocelulární tuk – IMCL) a signály lipidů ve svalových septech (extramyocelulární tuk – EMCL). Rozdíl chemických posunů IMCL a EMCL není dán odlišnou chemickou strukturou, ale je způsoben rozdílnou susceptibilitou tukových kapének

v buňce a septu. Teoreticky byl tento rozdíl chemických posunů vypočten podle modelu „bulk magnetic susceptibility“ a činí 0,21 ppm. Je to ve velmi dobré shodě s experimentálními výsledky z m. tibialis.

Později řada pracovišť použila a zdokonalovala tuto techniku vyšetřování zvláště pro studium koncentrací IMCL a EMCL tuku v souvislosti s metabolickým syndromem a ve sportovní medicíně. Dva základní poznatky z těchto studií říkají:

1. Vzhled a kvalita spektra závisí na orientaci svalových vláken vzhledem k externímu magnetickému poli a na použitém echo čase; nejvýhodnější je měření spekter z m. tibialis, kde jsou svalová vlákna rovnoběžná s vnějším magnetickým polem, a provádění vyšetřování sekvencemi s dlouhým TE (270 ms).
2. Intracelulární tuk (IMCL) je významným energetickým zdrojem pro aerobní metabolismus; jeho koncentrace se zvyšuje s trénovaností subjektu a je úměrná inzulinové senzitivitě.

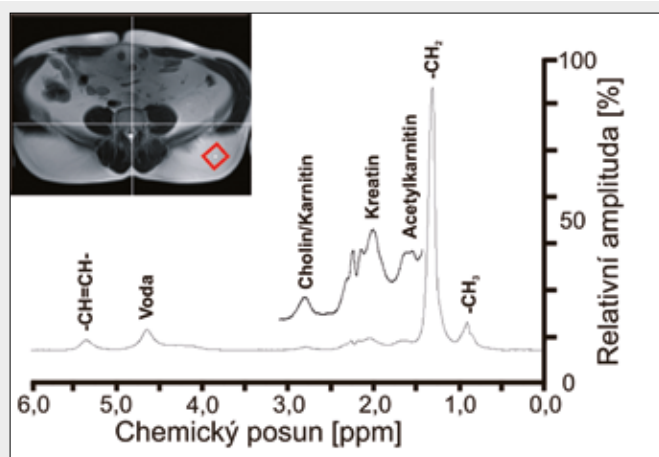
V průběhu posledních let byla publikována celá řada prací věnovaných jak metodickým záležitostem měření ^1H MR spekter, tak vlivu různých fyziologických a metabolických faktorů na koncentraci IMCL. Stanovení koncentrace IMCL vychází z interpretace ^1H MR spekter naměřených s dlouhým a krátkým TE, jak je uvedeno na obrázku 3. V těchto spektrech jsou signály CH_3 a CH_2 skupin IMCL a EMCL tuku dobře odděleny a ve spektrech je možné identifikovat řadu dalších funkčních skupin tuků a metabolitů. Pro kvantifikaci IMCL a EMCL tuku se nejčastěji používají poměry intenzit signálu CH_2 a CH_3 skupin k signálu kreatinu.

Tento směr sledoval i náš výzkum (13), který byl zaměřen na automatické vyhodnocování spekter kosterního svalu naměřených při 1,5 T a 3 T technikou LCMoel. Metoda byla ověřována na skupině zdravých dobrovolníků a skupině DM2 pacientů.

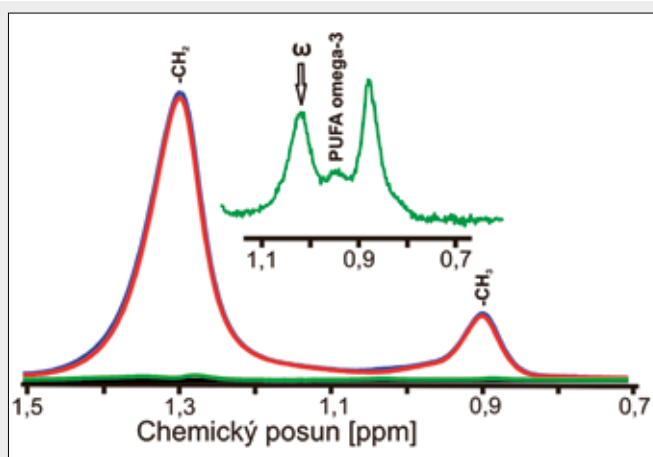
Metodika byla použita např. ve studii (14), kde se hodnotil vliv pravidelné fyzické zátěže u pacientů po první kadaverózní transplantaci ledvin na lipidový metabolismus ve svalu. Další studie, kde byla tato metoda s úspěchem použita, se zabývala vlivem látky telmisartan u pacientů s narušenou rovnováhou glukózy nalačno na koncentraci IMCL (15).

STANOVENÍ KONCENTRACE OMEGA-3 MASTNÝCH KYSELIN

Omega-3 mastné kyseliny jsou nezbytné pro lidský metabolismus. Jejich použití v doplňcích stravy bylo a je studováno v mnoha směrech a neinvazivní stanovení obsahu omega-3 mastných kyselin (o-3M) je zajímavé jak z metodického, tak i metabolického hlediska. o-3M jsou nenasycené mastné kyseliny, jejichž společným znakem je dvojná vazba mezi uhlíky na třetím a čtvrtém místě od koncového methyly mastné kyseliny. Stanovení koncentrace omega mastných kyselin na základě olefinických protonů není možné vzhledem k překryvu různých olefinických skupin. Pro jejich stanovení je však možné využít J-editační techniku odvozenou od sekvence (16, 17) MEGA-PRESS (MEshcher-GARwood Point-RESolved Spectroscopy), kterou jsme na našem pracovišti zavedli pod názvem (18) oMEGA-PRESS. Stanovení koncentra-



▲ Obr. 4A



▲ Obr. 4B

Obr. 4. ^1H MR spektrum podkožního tuku pro stanovení omega-3 polynenasycených mastných kyselin (PUFA omega-3). A – celkové ^1H MR spektrum podkožního tuku a přiřazení chemických struktur signálů (sekvence PRESS, 64 akvizic, objem VOI 27 ml);

B – část spektra zahrnující signály funkčních skupin CH_3 a CH_2 (mezi 0,7–1,5 ppm) se používá pro stanovení koncentrace PUFA omega-3 na základě intenzity levé části tripletu $-\text{CH}_3$ skupiny PUFA omega-3 (ω). Tento signál (zelené spektrum) se získá odečtením spekter naměřených bez refokusačního (červené spektrum) a s refokusačním (modré spektrum) pulzem zaměřeným na CH_2 skupinu (sekvence oMEGA PRESS, TE = 199 ms, 128 akumulací).

Fig. 4. ^1H MR spectrum of subcutaneous fat used for the measurement of omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA omega-3). A – the whole ^1H MR spectrum of subcutaneous fat and assignment of signals to chemical structures. (PRESS sequence, 64 acquisitions, VOI = 27 ml); B – the part of the spectrum with signals of $-\text{CH}_3$ and $-\text{CH}_2$ groups (0,7–1,5 ppm) which is used for the determination of PUFA omega-3 based on the intensity of signal attributed to the left outer triplet line of the PUFA omega-3 $-\text{CH}_3$ group (ω). This signal (green line) is obtained by subtraction of spectra measured without (red line) and with (blue line) pulse refocusing, resp., focused to $-\text{CH}_2$ group (oMEGA-PRESS sequence, TE = 199 ms, 128 acquisitions).

ce omega-3 mastných kyselin tímto způsobem je založeno na získání signálu levé postranní čáry koncové $-\text{CH}_3$ skupiny o-3M odečtením spekter naměřených se zapnutým a vypnutým refokusačním pulzem cíleným na CH_2 skupinu ve vazbě $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (2,1 ppm). PRESS sekvence byla optimalizována pro $\text{TE} = 199,5$ ms pro 3 T magnet. Reprezentativní obrázek rozdílového spektra je uveden na obrázku 4. Pro *in vivo* stanovení o-3M tímto způsobem je nutné brát v úvahu několik skutečností: 1. koncentrace o-3M v zásobách podkožního tuku je velmi nízká a pohybuje se kolem 1 % celkového zastoupení mastných kyselin; 2. pro získání kvalitních spekter je nezbytné velmi dobře nastavit lokální homogenitu magnetického pole tak, aby se signály CH_3 skupin nepřekrývaly se signály CH_2 skupin, a vzhledem k nízké koncentraci je nezbytné měřit spektra s velkým množstvím akvizic.

Tato technika je poměrně náročná na technické provedení a je také závislá na velikosti magnetického pole. Optimální výsledky technikou oMEGA-PRESS se získají při 3 T.

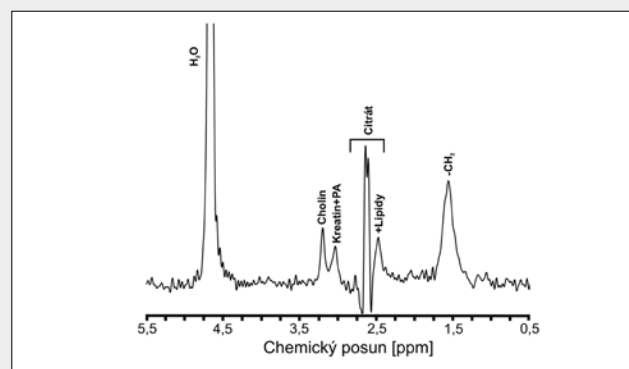
¹H MR SPEKTROSKOPIE PROSTATY

Samostatnou kapitolou je ¹H MR spektroskopie prostaty, kde se zaměřujeme podobně jako u mozku na jiné metabolity než na tuky. Zde hraje hlavní úlohu citrát, který je specifický pro prostatu a spolu se signálem cholinových sloučenin se používá zejména v diagnostice tumoru prostaty (v tumoru citrát klesá, cholin roste). Z dalších signálů se v prostatě sleduje kreatin a polyaminy (hlavně spermin a spermidin), u horší kvality spekter se však všechny tyto signály velmi špatně rozlišují a v některých publikacích je celá oblast od kreatinu po cholin sloučena v jedno číslo (obr. 5).

Výšetření se provádí buď s povrchovou cívkou, nebo cívkou endorektální, která sice přináší lepší kvalitu, ale není s pochopitelných důvodů příliš oblíbená u pacientů. Pro MR spektroskopii se používá hlavně metoda 3D CSI, eventuálně její rychlejší modifikace, a konkrétní echo čas $\text{TE} = 120$ ms pro 1,5 T pole nebo $\text{TE} = 144\text{--}145$ ms pro 3 T tomografy. Tato hodnota vychází z tvaru citrátu, který ukazuje ve spektrech dublet při 1,5 T a kvadruplet při 3 T. Bohužel tato multiplicita signálu je také jedním z hlavních problémů, který dělá ¹H MRS prostaty dosti obtížnou v běžné praxi. Pro úspěšné zvládnutí techniky je proto nutné velmi dobře nashimovat, tzn. doladit homogenitu pole na maximum, a mít štěstí, že se pacient během 16minutové sekvence nepohne, budou v klidu i jeho střeva a nenaplní se příliš močový měchýř, který může odsunout prostatu o kousek dál. Neméně důležité je automatické zpracování 3D CSI spekter technikou LCM a následné statistické zpracování velkých datových souborů.

Velmi výrazná souvislost mezi signálovou intenzitou citrátu, cholinových sloučenin a stupněm tumoru v prostatě vedla k tomu, že Evropská urologická společnost (ESUR) navrhla ¹H MR spektroskopii jako jednu z doporučených MR metod pro standardní vyšetřování pacientů s podezřením na tumor prostaty (19). Tyto guidelines byly během let modifikovány a zjednodušeny a ¹H MR spektroskopie, stejně jako hodnocení dynamického kontrastu, už uvedena není.

Na MR pracovišti IKEM se začalo s vyšetřováním prostaty v roce 2012 v rámci grantové studie. Byly využity oba tomografy 1,5 T i 3 T s použitím povrchové cívky a kromě samotného vyšetřování pacientů proběhla obsáhlá metodická

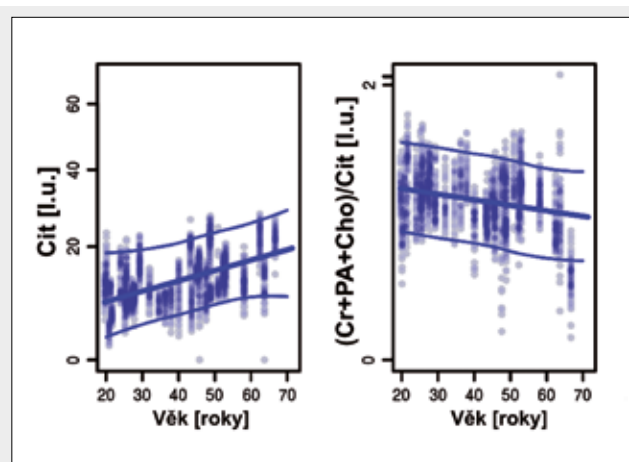


▲ Obr. 5

Obr. 5. ¹H MR spektrum zdravé prostaty dobrovolníka měřené při 3 T. Měřeno povrchovou osmikanálovou cívkou sekvencí 3D spektroskopického zobrazování (3D PRESS, $\text{TR}/\text{TE} = 720/145$ ms).

Fig. 5. ¹H MR spectrum of a healthy prostate measured at 3T. The 8-channel surface coil was used together with the 3D CSI PRESS sequence ($\text{TR}/\text{TE} = 720/145$ ms).

ká část, kdy byl upraven software výpočtu spekter pro metabolický profil prostaty, porovnávaly se výsledky z různých polí a jejich správnost a přesnost ve vztahu k histologii jak v centrální, tak periferních zónách a v neposlední řadě byla naměřena věková závislost koncentrací jednotlivých metabolitů u skupiny zdravých dobrovolníků (20). Výsledky ukázaly, že pro zkušeného specialistu není pro správnou diagnostiku příliš důležitá velikost magnetického pole, protože s vyš-



▲ Obr. 6

Obr. 6. Závislost intenzity citrátu a poměru intenzit součtu $(\text{Cr}+\text{PA}+\text{Cho})$ k citrátu na věku. Statistika byla provedena na základě dat získaných technikou LCMoDel z přibližně 9000 CSI spekter zdravých dobrovolníků ve věku 20–70 let.

Cr – celkový kreatin, PA – polyaminy, Cho – cholinové sloučeniny, Cit – citrát
Fig. 6. The dependence of citrate signal intensity and intensity ratio of sum of $(\text{Cr}+\text{PA}+\text{Cho})$ to citrate on age. The statistics was based on LCMoDel calculation from cca 9,000 spectra from healthy volunteers in the age range of 20 to 70 years.

Cr – total creatine, PA – polyamines, Cho – choline compounds, Cit – citrate

ším polem roste i složitost spektra, a je nezbytné využít speciální programy na zpracování spekter. Co se ukázalo velmi důležité, je závislost intenzit jednotlivých signálů na věku (obr. 6). Ve zdravé prostatě se např. koncentrace citrátu mezi 20. a 70. rokem zvětšuje více než dvakrát, vysoký nárůst je i v hodnotách polyaminů. Pravděpodobně to souvisí s hodnotami koncentrace zinku v prostatických buňkách. Vzhledem k tomu, že např. celkový kreatin se drží během stárnutí téměř konstantní, dochází s věkem i ke změnám v poměrech intenzit signálů, což může vést až k nesprávné interpretaci naměřených spekter.

ZÁVĚR

In vivo ^1H MRS vyšetření je užitečná neinvazivní metoda, kterou lze použít pro přesné měření obsahu tuku ve tkáni a tímto způsobem kalibrovat zobrazovací postupy stanovení steatózy. Na druhou stranu je nutné si pamatovat, že široké signály v *in vivo* spektrech obsahují řadu piků podobných sloučenin a jejich zastoupení se může měnit. Detailnější analýzu tuků *in vivo* může umožnit v budoucnu vyšetřování technikou ^{13}C MR spektroskopie při 7 T a vyšších polích.

LITERATURA

1. Longo R, Pollesello P, Ricci C, Masutti F, Kvam BJ, Bercich L, et al. Proton MR spectroscopy in quantitative *in vivo* determination of fat content in human liver steatosis. *J Magn Reson Imaging* 1995; 5(3): 281–285.
2. Guiu B, Petit JM, Loffroy R, Salem DB, Aho S, Masson D, et al. Quantification of liver fat content: comparison of triple-echo chemical shift gradient-echo imaging and *in vivo* proton MR spectroscopy. *Radiology* 2009; 250(1): 95–102.
3. Guiu B, Loffroy R, Petit JM, Aho S, Salem DB, Masson D, et al. Mapping of liver fat with triple-echo gradient echo imaging: validation against 3.0-T proton MR spectroscopy. *Eur Radiol* 2009; 19(7):1786–1793.
4. Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; 49(5): 450–465.
5. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41(6): 1313–1321.
6. Hájek M, Dezortová M, Wagnerová D, et al. MR spectroscopy as a tool for *in vivo* determination of steatosis in liver transplant recipients. *Magn Reson Mater Phys* 2011; 24(5): 297–304.
7. Hájek M, Dezortová M, Wagnerová D, et al. Stanovení obsahu jaterního tuku metodou ^1H MR spektroskopie. *Čas. Lék. čes.* 2011; 150: 68–71.
8. Hejlová I, Dezortová M, Šedivý P, et al. Metabolický profil pacientů po transplantaci jater ve vztahu k rozvoji NAFLD – výsledky pilotní studie. *Gastroent Hepatol* 2016; 70(4): 325–330.
9. Kahleova H, Belinova L, Malinska H, et al. Eating two larger meals a day (breakfast and lunch) is more effective than six smaller meals in a reduced-energy regimen for patients with type 2 diabetes: a randomized crossover study. *Diabetologia* 2014; 57: 1552–1560.
10. Trout AT, Serai S, Mahley AD, Wang H, Zhang Y, Zhang B, et al. Liver stiffness measurements with MR elastography: agreement and repeatability across imaging systems, field strengths, and pulse sequences. *Radiology* 2016; 281(3): 793–804.
11. Drobny M, Sedivy P, Dezortova M, Wagnerova D, Hajek M. Influence of breathing on the measurement of lipids in the myocardium by ^1H MR spectroscopy. *Phys Res* 2015; 64(Suppl 3): S403–S409.
12. Schick F, Eismann B, Jung WI, Bongers H, Bunse M, Lutz O. Comparison of localized proton NMR signals of skeletal muscle and fat tissue *in vivo*: two lipid compartments in muscle tissue. *Magn Reson Med* 1993; 29(2): 158–167.
13. Skoch A, Jiru F, Dezortova M, Krusino-va E, et al. Intramyocellular lipid quantification from ^1H long echo time spectra at 1.5 and 3 T by means of the LCModel technique. *J Magn Reson Imaging* 2006; 23: 728–735.
14. Teplan V, Schück O, Hájek M, et al. Obezita po transplantaci ledviny: metabolické změny a vyšetření pomocí magnetické rezonance. *Aktuality v nefrologii* 2007; 13(1): 11–15.
15. Kratochvilova S, Škoch A, Wohl P, et al. Intramyocellular lipid content in subjects with impaired fasting glucose after telmisartan treatment, a randomised crossover trial. *Magn Reson Imaging* 2016; 34(3): 353–358.
16. Mescher M, Tannus A, Johnson MO, Garwood M. Solvent suppression using selective echo dephasing. *J Magn Reson A* 1996; 123: 226–229.
17. Mescher M, Merkle H, Kirsch J, Garwood M, Gruetter R. Simultaneous *in vivo* spectral editing and water suppression. *NMR Biomed* 1998; 11: 266–272.
18. Skoch A, Tosner Z, and Hajek M. The *in vivo* J-difference editing MEGA-PRESS technique for the detection of n-3 fatty acids. *NMR Biomed* 2014; 27: 1293–1299.
19. Barentsz JO, Richenberg J, Clements R, et al. ESUR prostate MR guidelines 2012. *Eur Radiol* 2012; 22: 746–775.
20. Dezortova M, Jiru F, Skoch A, et al. The aging effect on prostate metabolite concentrations measured by ^1H MR spectroscopy. *Magn Reson Mater Phys* 2017; 30(1): 65–74.