

^1H MR SPEKTROSKOPIE – I. MOZEK

^1H MR SPECTROSCOPY – I. BRAIN

přehledový článek

**Monika Dezortová
Dita Pajuelo
Milan Hájek**

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

Přijato: 15. 11. 2017.

Korespondenční adresa:

Mgr. Monika Dezortová, Ph.D.
MR oddělení ZRIR, IKEM
Videňská 1958/9, 140 21 Praha 4
e-mail: monika.dezortova@ikem.cz

Konflikt zájmů: žádný.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR – RVO (Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001). Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Hlavní stanovisko práce

Článek ukazuje vývoj metody ^1H MR spektroskopie v České republice, konkrétně v Institutu klinické a experimentální medicíny, během uplynulých 30 let a možnosti jejího využití jak ve výzkumných projektech, tak v klinické praxi. První část je věnována ^1H MR spektroskopii mozku.

SOUHRN

Dezortová M, Pajuelo D, Hájek M. ^1H MR spektroskopie – I. mozek

Článek ukazuje vývoj a využití metody ^1H MR spektroskopie v České republice, konkrétně v Institutu klinické a experimentální medicíny, během uplynulých 30 let. Na příkladech jsou popsány základní poznatky a zkušenosti s měřením i zpracováním ^1H MR spekter u různých typů onemocnění a možnosti jejího využití jak ve výzkumných projektech, tak v klinické praxi. První část je věnována ^1H MR spektroskopii mozku.

Klíčová slova: ^1H MR spektroskopie, mozek, magnetická rezonance.

Major statement

The paper leads with a historical overview to the development of ^1H MR spectroscopy method in the Czech Republic, namely in the Institute for Clinical and Experimental Medicine, during 30 years and shows possibilities of its applications in the research as well as in the clinical practice. The first part is dedicated to the ^1H MR spectroscopy of the brain.

SUMMARY

Dezortová M, Pajuelo D, Hájek M. ^1H MR spectroscopy – I. brain

The paper leads with a historical overview to the development of ^1H MR spectroscopy method in the Czech Republic, namely in the Institute for Clinical and Experimental Medicine, during 30 years and shows possibilities of its applications in the research as well as in the clinical practice. The first part is dedicated to the ^1H MR spectroscopy of the brain.

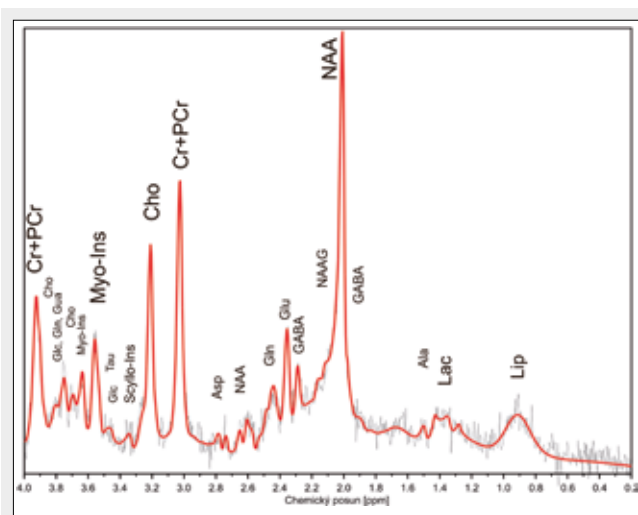
Key words: ^1H MR spectroscopy, brain, magnetic resonance.

ÚVOD

Protonová (^1H) MR spektroskopie se stala diagnostickou metodou, která umožňuje *in vivo* sledovat řadu metabolických sloučenin a jejich biochemické procesy. Umožňuje získávat informace nejen o množství vody v měřené tkáni, což dalo vznik metodě MR zobrazování (MRI), ale i o dalších metabolických látkách, které obsahují vodík a jejichž koncentrace je v jednotkách milimolů, tzn. o čtyři řády nižší než voda. Najdeme mezi nimi aminokyseliny, cukry i tuky (obr. 1). Nepoměr vysoké koncentrace vody v porovnání s koncentracemi ostatních metabolitů si vyžádal speciální úpravy měřících sekvencí, kdy je frekvence signálu vody během měření potlačena. To byl také jeden z hlavních důvodů, že první ^1H MR

spektra *in vivo* byla úspěšně provedena až začátkem osmdesátých let 20. století (1).

V České republice se začala ^1H MR spektroskopie používat v roce 1991 ve Fakultní nemocnici Královské Vinohrady, kde byl nainstalován druhý celotělový tomograf 1,5 T Siemens Magnetom Helicon. V rámci výzkumných projektů byly studovány možnosti ^1H MRS mozku na pacientech s epilepsií, fenylketonurií, mozkovými tumory a u novorozenců s hypoxií, později též u tumorů bérce. Spektra se měřila pomocí single voxel spektroskopie (SVS) metodou STEAM s krátkým ($TE = 40$ ms) a dlouhým ($TE = 270$ ms) echo časem a všechna jednotlivá nastavení byla prováděna ručně. Měřená oblast (volume of interest – VOI) měla tvar krychle o hraně 3 cm, kterou nebylo možné natáčet, a pro výpočet jednotlivých pul-



▲ Obr. 1

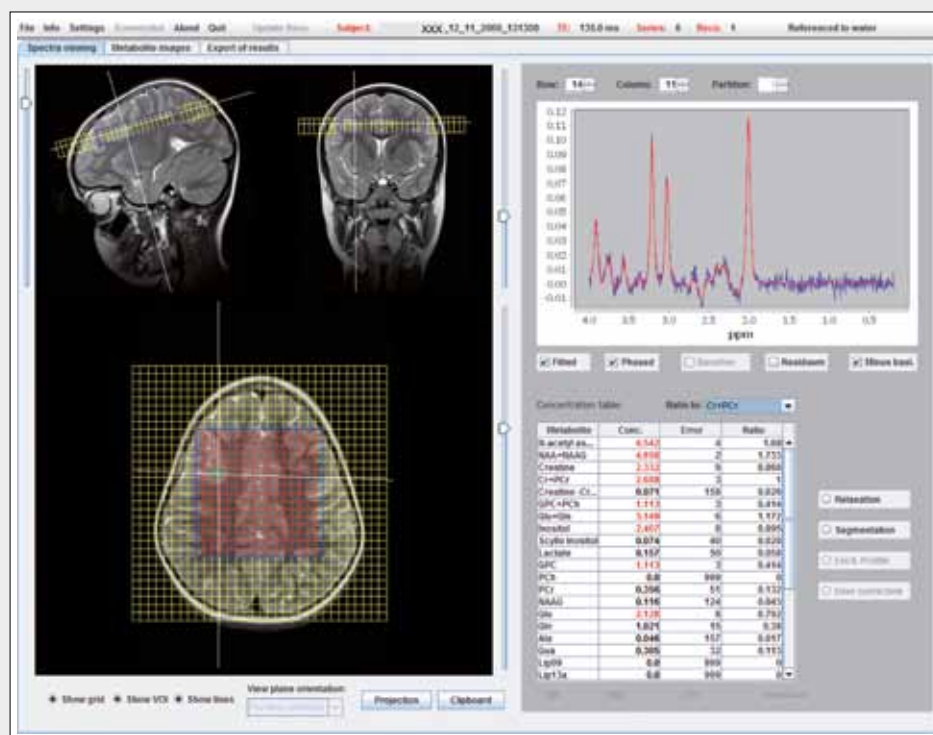
Obr. 1. ^1H MR spektrum lidského mozku měřené sekvencí PRESS s $\text{TR/TE} = 5000/30$ ms na 3T MR tomografu (černě) a zpracované programem LCModel (červeně). Ve spektrech se obvykle identifikují signály funkčních skupin těchto sloučenin: NAA – N-acetylaspartát, NAAG – N-acetylaspartyl glutamát, Cr – kreatin, PCr – fosfokreatin, Cho – cholinové sloučeniny, Myo-Ins – myo-inositol, Scyllo-Ins – scyllo-inositol, Glc – glukóza, Gln – glutamin, Glu – glutamát, Gua – guanidinoacetát, Tau – taurin, Asp – aspartát, Ala – alanin, Lac – laktát, Lip – lipidy.

Fig. 1. ^1H MR spectrum of the human brain measured by PRESS sequence ($\text{TR/TE} = 5000/30$ ms) (black line) at 3T MR tomograph and evaluated by LCModel program (red line). In the spectra there are usually identified signals of following compounds: NAA – N-acetylaspartate, NAAG – N-acetylaspartyl glutamate, Cr – creatine, PCr – phosphocreatine, Cho – choline compounds, Myo-Ins – myo-inositol, Scyllo-Ins – scyllo-inositol, Glc – glucose, Gln – glutamine, Glu – glutamate, Gua – guanidinoacetate, Tau – taurine, Asp – aspartate, Ala – alanine, Lac – lactate, Lip – lipids.

zů sloužil externí počítač. Pro úspěšné vyšetření byla nutná příprava den předem, kdy byla dostavována homogenita pole na fantomu. Kromě vyšetřování pacientů v rámci studií byla velká část práce věnována úpravám sekvencí za účelem lepšího potlačení signálu vody, možnostem měnit tvar VOI, optimalizaci pulzů atd.

V roce 1995 byla celá metodika včetně řešených projektů přenesena do IKEM na nově instalovaný MR tomograf Siemens Vision 1,5 T. Nový software a hardware umožnil rychlejší a přesnější nastavování parametrů stejně jako lepší stabilitu přístroje. V sekvenci STEAM pro měření single voxel spektroskopie bylo možné zkrátit echo čas až na 10 ms a spolu se zavedením kontroly kvality přístroje byly studovány možnosti absolutní kvantifikace koncentrací vybraných látek. Zavedla se technika 2D spektroskopického zobrazování (2D CSI), která našla velké uplatnění zejména u mozkových tumorů a extratemporálních, často nelezionálních epilepsií. Spektroskopie byla korelována s dalšími MR metodami a během doby vznikaly další aplikace v klinické i experimentální oblasti. MR spektroskopie se také stala metodou hrazenou ze zdravotního pojištění.

Během let se významně posunul styl zpracovávání MR spekter. Původní zpracovávání na konzole MR tomografu umožňovalo odečíst integrální hodnoty základních metabolitů a pro překrývající se signály byl výpočet téměř nemožný. Značné vylepšení přinesly jednoduché programy na PC pracující pod DOS, později Windows, kde se ručně prováděly jednotlivé kroky vyhodnocení. V roce 1993 byl publikován článek k programu LCModel (2), který uměl zpracovávat spektra na základě kombinace naměřených nebo nasimulovaných spekter jednotlivých látek, které se ve spektru očekávaly. Tento program je dostupný a široce používaný po celém světě dodnes. Skupina MR



◀ Obr. 2

Obr. 2. Příklad zpracování 2D CSI programem jSIPRO u pacienta s kortikální dysplazií. Vlevo je projekce CSI matice do všech tří rovin použitých pro lokalizaci spekter. Vpravo nahoře je naměřené spektrum (modře) z VOI vyznačeného zeleně na MR obrazech společně s vypočteným spektrem z LCModelu (červeně). Tabulka obsahuje koncentrace metabolitů vypočtené LCModelem pro vybraný VOI společně s chybou výpočtu a poměry k vybranému metabolitu. Program umožňuje na této záložce provádět korekce na T1 a T2 relaxační časy a na množství CSF, šedé a bílé hmoty mozku. Detaily jsou popsány v literatuře (3).

Fig. 2. An example of 2D CSI spectra calculation using jSIPRO software in a patient with cortical dysplasia. Left side – the projection of CSI matrix into all three orientations used for the localization of spectra. Right top – measured (blue line) and LCModel calculated (red line) spectra from the VOI (green voxel in the transversal MR image left). In the table there are concentrations of metabolites in the VOI calculated by using LCModel together with error of calculation and ratios of signal intensities in respect to chosen metabolite. It is possible to include into calculation corrections to T1 and T2 and the segmentation to the content of CSF, white and gray brain matter resp. For details see (3).

IKEM byla jedním z testujících pracovišť prvních verzí tohoto programu a postupně připravila i další nadstavbové programy. Jedním z nich je program nazvaný jSIPRO (3), který využívá programu LCModel pro automatické zpracování jednotlivých spekter naměřených technikou CSI. Můžeme si v něm prohlédnout nejen nabitovaná spektra v jednotlivých voxlech, ale také si zobrazit metabolické mapy na MR obrazech, filtrovat nekvalitně naměřené oblasti či vyexportovat koncentrace vybraných metabolitů z oblasti zájmu do tabulek. Velkou výhodou tohoto programu také je, že metabolické mapy lze kromě JPG formátu uložit opět do formátu DICOM a následně tyto obrazy použít např. v neurochirurgických navigačních systémech (obr. 2).

Přístroj Vision byl používán až do února 2007, kdy byl vyměněn za 3 T MR tomograf Trio TIM. Byla to změna nejen v použitém magnetickém poli, ale také v přechodu Unixové softwarové platformy na Windows. V listopadu 2007 pak bylo přestěhováno Trio do nových prostor v hlavní budově IKEM.

Kvantitativní způsob analýzy spektroskopických dat umožnil získávat výsledky nezávisle na měřicích parametrech a tedy i jednodušší porovnání dosavadních výsledků s novými. Byly naměřeny nové skupiny kontrolních dat pro jednotlivé oblasti mozku a další orgány a provedeny různé metodické studie zabývající se např. věkovou závislostí koncentrací různých metabolitů. Vyšší magnetické pole také umožnilo lepší rozlišení signálů ve spektru a vyzkoušení pokročilých technik, např. pro měření GABA, omega-3 mastných kyselin aj. (4, 5).

Z hlediska různých aplikací a klinických požadavků na vyšetření pacientů se postupně změnila skladba měřených pacientů. Epilepsie, tumory mozku a různá neurodegenerativní onemocnění jsou většinou vyžádána jako klinické MRS vyšetření hrazené pojišťovnou. U ostatních vyšetření mozku, svalů, jater nebo prostaty závisí na konkrétním cíli a pacienti jsou vyšetřováni buď z diagnostických důvodů, nebo v rámci grantových studií. Některá vyšetření, např. pro určení omega-3 mastných kyselin, jsou v současné době prováděna pouze ve studiích.

Příklady využití ^1H MR spektroskopie v praxi jsou uvedeny dále.

NEURODEGENERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ

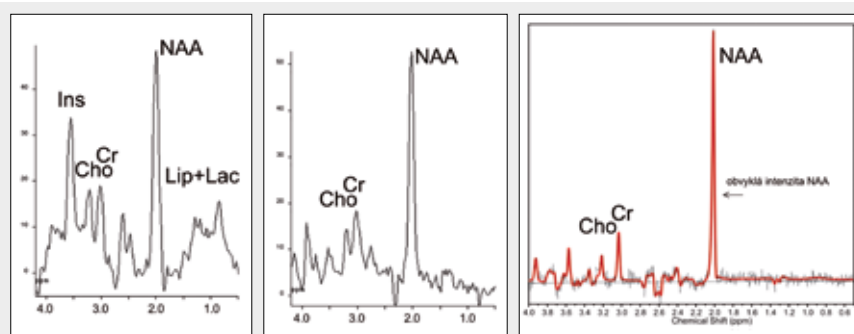
Geneticky podmíněná onemocnění jsou oblastí, kde může MR spektroskopie významně přispět v diagnostice. Nejde většinou

o diferenciální diagnostiku, protože ve většině případů jsou nálezy MRS podobné, ale o její nasměrování na hledání konkrétní diagnózy v určité skupině onemocnění, pro kterou jsou charakteristické, např. poruchy v energetickém metabolismu, na úrovni neuronů, nebo glií, hypoxické změny atd. V kombinaci se standardním MR zobrazováním a pokročilejšími MR metodami, např. relaxometrií, difúzním MRI, měřením susceptibility aj., lze nakonec získat konkrétní představu, co se ve tkáni děje (6). Při vhodné léčbě, pokud je možná, pak lze pomocí MR spektroskopie sledovat, jak je, nebo není účinná (7).

Pro MRS vyšetření neurodegenerativních onemocnění je vhodné používat kvantitativní způsob vyhodnocení spekter. Více než kde jinde je též nutné využití automatického zpracování spekter, např. programem LCModel nebo jMRUI, a porovnání výsledků vůči věkově odpovídající kontrolní skupině, protože se často jedná o dětské pacienty (8). Používá se zejména krátký echo čas, kde se jednotlivé signály překrývají, ale se zdokonalením technických možností, ať už pro vyšetření, nebo vyhodnocení dat, lze pozorovat a hodnotit koncentrace více různých metabolitů ve tkáni.

Většinou MRS nálezy ukazují snížené, nebo zvýšené intenzity signálů sledovaných metabolitů. Nejčastěji dochází k poklesu N-acetylaspartátu (NAA), který odráží poškození nebo úbytek neuronů. Kvantitativní změny v koncentracích látek nemusejí být na první pohled skoro patrné, někdy však mohou jednoznačně určit diagnózu. Příkladem je Canavanova nemoc, kdy je již na pohled signál NAA velmi vysoký a odráží hromadění NAA v těle. Na obrázcích 3A a 3B jsou spektra šestiměsíčního chlapce, jehož koncentrace NAA v periventriculární bílé hmotě mozku byla vypočtena 14 mM, zatímco u dospělého člověka se pohybuje kolem 10 mM a danému věku odpovídá koncentrace kolem 7,5 mM. Tato spektra byla měřena v roce 1998 na 1,5 T MR tomografu z objemu 8 ml a jsou vykreslena na konzole tomografu (9). Pro porovnání je uvedeno na obrázku 3C spektrum jiného pacienta (7 měsíců) se stejnou diagnózou získané na 3 T MR tomografu v roce 2007 během 3 minut z objemu 6 ml ve stejné oblasti a zpracované automaticky programem LCModel. Vyšší zastoupení NAA je viditelné nezávisle na použitém echo čase i sekvenci.

V některých případech však dochází až ke kvalitativním změnám, kdy nějaký signál ve spektru chybí, nebo naopak přebývá. Příkladem může být syndrom deficiencie kreatinu, který může nastat buď na biochemické cestě jeho syntézy (typy AGAT a GAMT ze slov poškozených enzymů argininyglycin amidinotransferázy a guanidinoacetát methyltransferázy), nebo v jeho

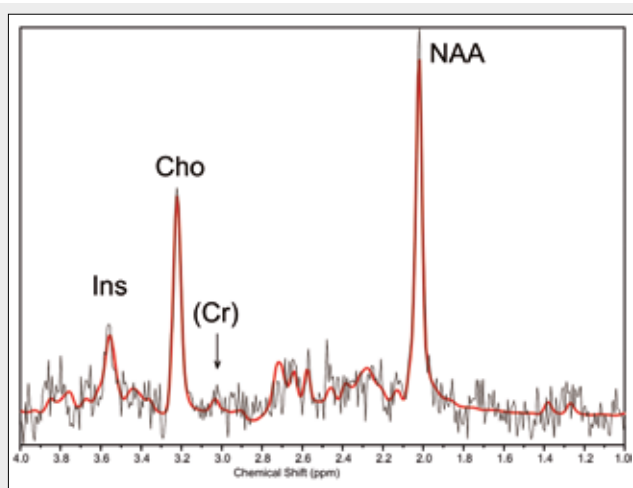


▲ Obr. 3A

▲ Obr. 3B

▲ Obr. 3C

Obr. 3. Typická ^1H MR spektra Canavanovy nemoci. Spektra získaná: A – na 1,5 T MR přístroji u šesti-měsíčního chlapce sekvencemi STEAM: TR/TE/TM = 5000/10/20 ms; B – PRESS: TR/TE = 5000/270 ms, VOI = 8 ml; C – na 3 T MR přístroji u sedmiměsíčního chlapce technikou PRESS: TR/TE = 5000/135 ms, VOI = 6 ml. NAA – N-acetylaspartát, Cr – kreatin + fosfokreatin, Cho – cholinové sloučeniny, Ins – myo-inositol. Fig. 3. Typical ^1H MR spectra of Canavan disease. Spectra were acquired: A – at 1.5 T MR system in a 6-month old boy using STEAM sequence (TR/TE/TM = 5000/10/20 ms); B – PRESS sequence (TR/TE = 5000/270 ms), VOI = 8 ml; C – in a 7-month old boy by PRESS sequence (TR/TE = 5000/135 ms, VOI = 6 ml) at 3 T system. NAA – N-acetylaspartate, Cr – creatine + phosphocreatine, Cho – choline-containing compounds, Ins – myo-inositol.



▲ Obr. 4

Obr. 4. ¹H MR spektrum pacienta s kreatinovou deficiencí, konkrétně poruchou kreatinového transportéru. Signál Cr je téměř neviditelný i po léčbě kreatinem.

NAA – N-acetylaspartát, Cr – kreatin+fosfokreatin, Cho – cholinové sloučeniny, Ins – myo-inositol

Fig. 4. ¹H MR spectrum of a patient with an inborn error in creatine metabolism, specifically creatine transporter deficiency. The signal of Cr is almost invisible even after creatine supplementation treatment.

NAA – N-acetylaspartate, Cr – creatine+phosphocreatine, Cho – choline-containing compounds, Ins – myo-inositol

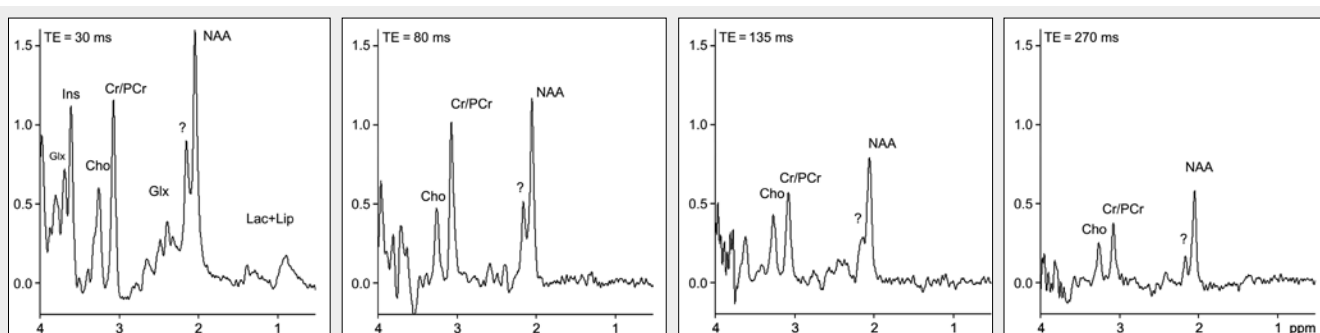
transportu přes buněčnou membránu (SLC6A8 nebo postaru CRTTR). Zajímavé je, že na MR obrazech mozku není patologie viditelná. V ¹H MR spektrech je však patrný velmi nízký nebo dokonce žádný signál kreatinu a jednoznačně určuje diagnózu (obr. 4). Pro rozlišení, o který ze tří typů kreatinové deficience se jedná, je nutné detailnější studium spektra, eventuálně opakované vyšetření v časovém odstupu, kdy je v mezidobí pacientovi nasazena suplementace kreatinu. V případě typu GAMT může být ve spektru postřehnutelný nový signál, který patří hromadícímu se guanidinu. Pokud se intenzita kreatinu nezvyšuje ani po déletrvající léčbě kreatinem a jedná se o chlapce, lze

téměř s jistotou prohlásit, že se jedná o deficienci kreatinového transportéru (5). V dnešní době je samozřejmá konečná diagnóza na základě genetických testů.

Genetické testy jsou dnes také jediným uznávaným potvrzením diagnózy, bez nichž nelze publikovat „neznámé“ případy. Na tomto místě bychom chtěli ukázat příklad pacientky, která i po letech nemá definovanou diagnózu. Vyvíjela se do 1 roku fyziologicky, od nástupu chůze však měla odchýlný stereotyp, zvolna progredovaly spastická kvadruparéza s větším postižením dolních končetin a mozečkový syndrom, nebyly však známky postižení dalších systémů. První MRI podstoupila v zahraničí ve 2,5 letech, kde byly pozorovány změny odpovídající leukodystrofii. Ve 14, 16 a 18 letech byla opakovaně vyšetřena v IKEM pomocí MRI včetně ¹H MR spektroskopie. V rodinné anamnéze byly nalezeny pouze dva případy roztroušené sklerózy v širším příbuzenstvu, avšak bez možnosti dalšího vyšetření. MR obrazy ukázaly supratentoriální dystrofické změny postihující hlavně bílou hmotu s její progresivní atrofií. Plaky charakteristické pro roztroušenou sklerózu ani ohraničené léze nalezeny nebyly stejně jako žádné patologické změny v mozečku nebo mozkovém kmenu.

Použití jednoduchých editačních technik ¹H MR spektroskopie, tj. měření spekter s různým echo časem, překvapivě v tomto případě opakovaně ukázala nový, neznámý signál na frekvenci 2,13 ppm (obr. 5). Tento signál je viditelný i při dlouhém echo času a může poukazovat na malou a relativně pohyblivou molekulu nebo jednoduchý radikál větší rigidní molekuly. Byly hledány různé látky, které by odpovídaly vlastnostem neznámého signálu, a měřeny fantomy s roztoky různých možných sloučenin, až jediným kandidátem zůstal methionin, který by odpovídal koncentrací kolem 2,3 mM. Změny v metabolismu související s methioninem jsou ale popisovány pouze ve spojitosti s poškozením jater, zatímco u pacientky se zdá být postižený pouze centrální nervový systém.

Přesto, že během let došlo k velkému pokroku v medicíně včetně MR diagnostiky, bylo použito pole 1,5 T i 3 T a nejružnější techniky vyšetřování a zpracování dat, žádná z navržených diagnóz prozatím nebyla prokázána a není kam nasměrovat genetickou analýzu. Tento případ tak prozatím zůstává s otevřeným koncem.



▲ Obr. 5A

▲ Obr. 5B

▲ Obr. 5C

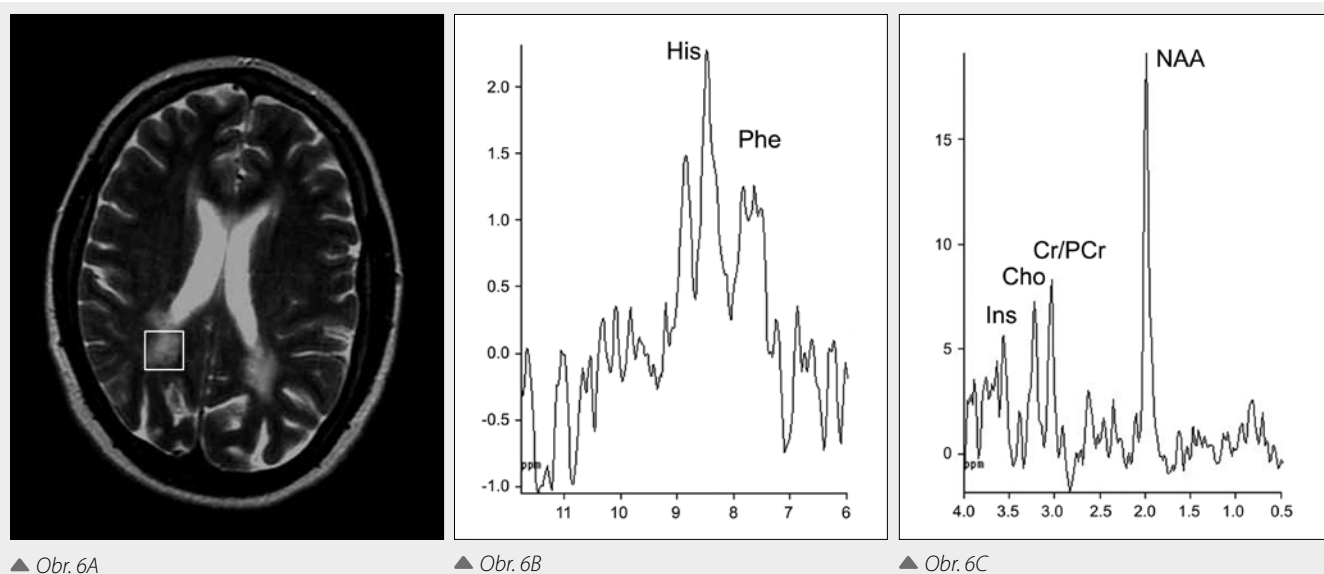
▲ Obr. 5D

Obr. 5. Editací ¹H MRS technika pro potvrzení signálu ve spektrech. Spektra byla měřena s různým TE = 30, 80, 135 a 270 ms. V poloze 2,13 ppm se vyskytuje neznámý signál ve všech spektrech.

NAA – N-acetylaspartát, Cr – kreatin+fosfokreatin, Cho – cholinové sloučeniny, Ins – myo-inositol, ? – neznámý signál

Fig. 5. ¹H MR spectra obtained with different TE. TE = 30, 80, 135 a 270 ms. There is an unknown signal at 2.13 ppm in all spectra.

NAA – N-acetylaspartate, Cr – creatine+phosphocreatine, Cho – choline-containing compounds, Ins – myo-inositol, ? – unknown signal



Obr. 6. **¹H MR spektroskopie pacienta s fenylketonurií.** A – T₂-vážený MR obraz s typickými lézemi v periventrikulární bílé hmotě a s vyznačenou oblastí VOI pro MR spektroskopii; B – aromatická a C – alifatická část spektra měřená v daném VOI (1,5 T MR tomograf, sekvence STEAM, TR/TE/TM = 5000/10/20 ms) označení signálů: His – histidin, Phe – fenylalanin, NAA – N-acetylaspartát, Cr/PCr – kreatin+fosfokreatin, Cho – cholinové sloučeniny, Ins – myo-inositol
Fig. 6. **¹H MR spectroscopy of a patient with phenylketonuria.** A – T₂-weighted MR image of typical lesions in periventricular white matter and with the position of VOI for ¹H MR spectroscopy; B – aromatic and C – aliphatic part of the spectra (1.5 T MR system, STEAM sequence, TR/TE/TM = 5000/10/20 ms) labels of signals: His – histidine, Phe – phenylalanine, NAA – N-acetylaspartate, Cr/PCr – creatine+phosphocreatine, Cho – choline-containing compounds, Ins – myo-inositol

Většina onemocnění nemění vzhled ¹H MR spekter dramaticky a záleží nejen na kvalitním naměření, ale též na dostatečně citlivých metodách zpracování. Jedním z prvních metabolických onemocnění, které bylo v České republice studováno pomocí MR spektroskopie, je fenylketonurie (PKU). Během grantového projektu v letech 1991–1998 bylo ve spolupráci s Klinikou dětí a dorostu FNKV opakovaně vyšetřováno 71 pacientů jak morfologicky pomocí MR zobrazení, tak biochemicky pomocí MR spektroskopie (4, 10) (obr. 6). Cílem bylo mj. objasnění biochemické podstaty viditelných změn v mozku a sledování dynamiky těchto změn a klinického stavu pacientů v závislosti na výši sérových koncentrací fenylalaninu.

Zatímco u zdravých osob je koncentrace fenylalaninu velmi nízká, u špatně kompenzovaných PKU pacientů je možné nalézt jeho signál (11) (7,4 ppm) v aromatické části ¹H MR spektra, tj. ve frekvencích vyšších, než má rezonanční frekvenci voda (obr. 6B). Metoda se však příliš nepoužívá, protože koncentrace fenylalaninu a dalších aromatických látek jsou na hranici detekovatelnosti na klinických MR tomografech.

Na T₂-vážených MR obrazech jsou u PKU pacientů často popisovány oblasti zvýšeného signálu v periventrikulární bílé mozkové hmotě (obr. 6A). Podobné MRI nálezy jsou většinou charakteristické pro procesy demyelinizace. U pacientů s PKU však MR spektroskopické nálezy nepotvrdily demyelinizační proces, protože k poklesu signálu NAA, který je jedním z hlavních markerů demyelinizace, nedocházelo. Opakovaně pozorované změny v poměru intenzit signálů NAA/Cho byly později připsány ne změnám v NAA, ale snížené intenzitě signálu cholinových sloučenin. Na rozdíl od většiny jiných onemocnění byly změny patrné při použití dlouhého echo času, tzn. nejen možné změny v koncentraci, ale hlavně změny v relaxačních časech daného metabolitu.

S vývojem nových metod bylo vyšetření PKU pacientů doplněno MRI a MRS relaxometrií a difuzometrií a byly prove-

deny testy a výpočty pro absolutní kvantifikaci MR spekter (12).

Vzhledem k tomu, že v *in vivo* ¹H MR spektrech nelze odlišit jednotlivé druhy cholinových sloučenin, nelze ani v dnešní době rozhodnout, zda dochází jen ke změnám relaxačních časů nebo i ke změnám v koncentraci jednotlivých druhů cholinových sloučenin při zachovaném celkovém množství. Z hlediska pacientů bylo důležité poznání, že pozorovatelné změny, ať už v MR obraze, nebo ve spektrech, nejsou známkou demyelinizace a nekorelují s klinickým stavem pacientů. Během let zůstávají neměnné a mohou být výsledkem přestavby mozkové tkáně, která vznikla na podkladě genetických změn nebo dlouhodobého vystavení vysokým koncentracím fenylalaninu.

EPILEPSIE

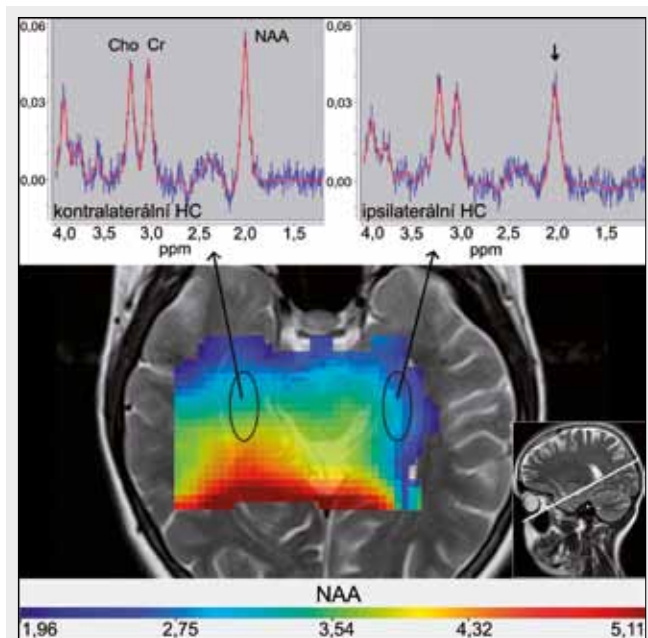
Nejdéle studovanou nemocí pomocí ¹H MR spektroskopie v České republice je bezesporu epilepsie. S tímto onemocněním se začínalo počátkem devadesátých let 20. století, kdy byli vyšetřováni pacienti s epileptogenní lézí v hipokampu, která je nejčastější formou epilepsie (60 % pacientů). Cílem první studie bylo upřesnění lateralit léze, a to zejména u farmakorezistentních pacientů, kde nález na MR obrazech byl buď negativní, nebo naopak bilaterální a bylo plánováno chirurgické řešení. Přesto, že v prvních letech neumožňovala single voxel spektroskopie měnit ani natáčet objem zájmu (VOI) a měřená krychle 3 × 3 × 3 cm v sobě zahrnovala i amygdalu a nemalou část okolní tkáně, výsledky MR spektroskopie byly již velmi slibné a velmi dobře souhlasily nebo doplňovaly nálezy na EEG a MRI (13). Velmi se osvědčil výpočet koeficientu asymetrie (C_a), který se úspěšně používá dodnes a nejen u epilepsií (14). Jde o jednoduchý vzorec, který porovnává

hodnoty z levé (sin) a pravé (dx) hemisféry a říká, na kterou stranu se přesune ručička pomyslných vah:

$$C_a = (R_{sin} - R_{dx}) / [(R_{sin} + R_{dx})/2].$$

Za hodnotu R lze použít poměr intenzit signálů nebo koncentrací NAA/Cr, NAA/Cho, Cr/Cho nebo NAA/(Cr+Cho) měřený v obou hemisférách sekvencí se stejnými parametry. Výhodné je i využití sekvence s dlouhým echo časem (TE), kde lze NAA, Cr a Cho od sebe velmi dobře odlišit. Základem je zjištění, že oba hipokampy jsou u zdravých lidí téměř biochemicky identické. To znamená, že pokud měříme z levé i pravé hemisféry stejné oblasti, měli bychom dostat koeficient asymetrie velmi blízký nule.

V případě mezeitemporální sklerózy klesá koncentrace NAA v lézi a asymetrie mezi hipokampy se tak zvětšuje ať už v absolutních hodnotách NAA, tak v relativních poměrech intenzit signálů. Atrofie hipokampu však může způsobit stejný poměr metabolitů, přesto, že se jejich jednotlivé hodnoty liší. Kromě koeficientu asymetrie je proto vhodné použít i sekvenci s krátkým TE, ze které lze vypočítat absolutní koncentrace vybraných metabolitů (co nejkratší echo čas a dlouhý repetiční čas, např. TR = 5 s umožní zanedbat vliv relaxačních časů). Vhodným doplněním je vyšetření technikami 2D nebo 3D spektroskopie. Kombinace všech těchto metod tak zpřesňuje výsledek MR spektroskopie a zamezuje falešně negativním nálezům (15). Příklad využití CSI techniky je uveden na obrázku 7.



▲ Obr. 7

Obr. 7. Metabolický obraz koncentrací NAA [lab.j.] z oblasti pravého a levého hipokampu. Oblast snížené koncentrace NAA v hlavě levého hipokampu potvrzuje i porovnání spekter z příslušných oblastí, která ukazují sníženou intenzitu signálu NAA vlevo (sekvence 3D CSI PRESS s TE = 135 ms při 3 T).

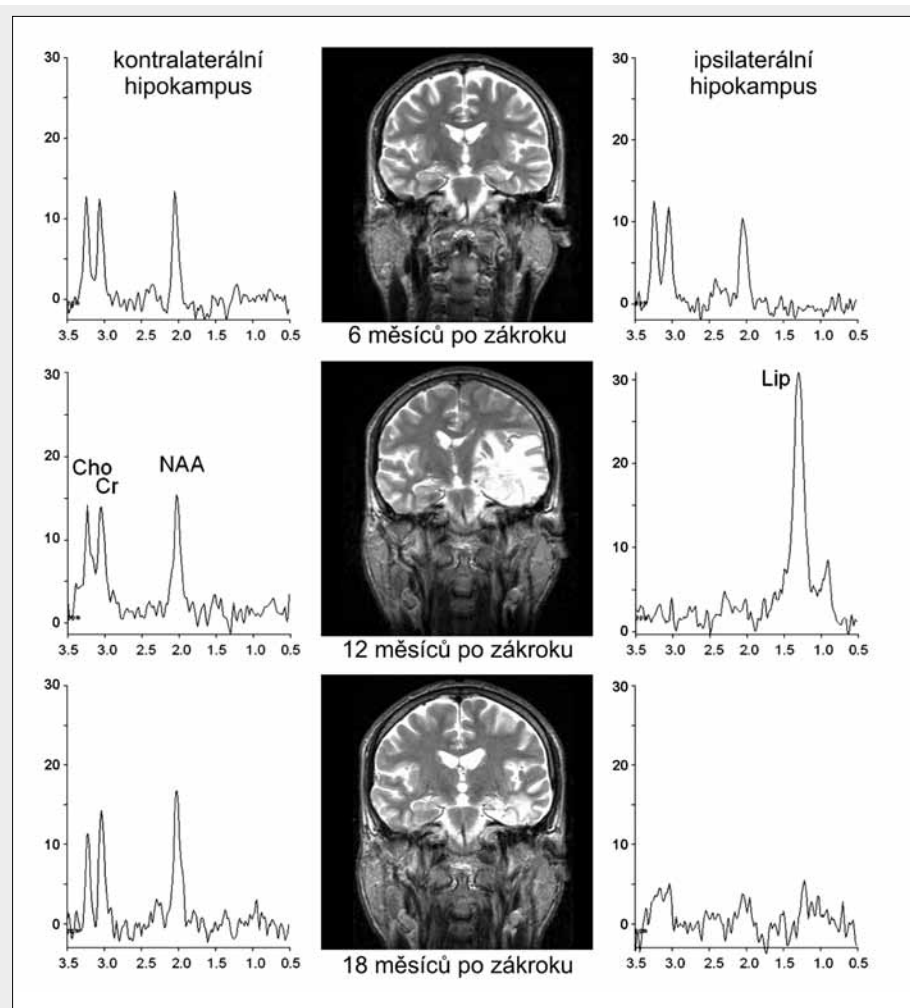
Fig. 7. Metabolic image of NAA concentrations [l.u.] from the area of the left and right hippocampus. The decrease of NAA concentration in the head of hippocampus is also shown on the spectra which demonstrate decreased NAA signal intensity on the left side (3D CSI PRESS sequence with TE = 135 ms at 3T).

Velkou nadějí se z počátku zdála přítomnost laktátu ve spektru z epileptogenního ložiska. Jeho koncentrace se ale rychle mění s časem, a to jak v lézích různé povahy, tak i ve zdravé mozkové tkáni. Pro lokalizaci je proto jeho zvýšená koncentrace nepoužitelná (16).

V dnešní době, kdy se měří s mnohem lepším rozlišením, lze sledovat změny i uvnitř hipokampu. Ukazuje se také, že multiparametrická analýza dat může přinést detailnější popis rozsahu a charakteru hipokampální patologie. Pokrok ve zpracování dat umožnil kombinovat metabolické mapy sloučenin s relaxačními nebo difuzními mapami (17). Na MR pracovišti IKEM byl navržen program, který na základě korelací vybraných MR parametrů pixel po pixelu poloautomaticky určí oblasti s abnormálními hodnotami daných parametrů. Tento způsob zpracování dat ukázal průběžnou změnu MR parametrů (např. hodnot metabolitů, střední difuze či T2 relaxačního času) v předozadní ose hipokampu u zdravých kontrol i pacientů s nelezionální či lezionální epilepsií (lišící se směrnici korelační křivky). K nejvýraznějším strukturálním nebo metabolickým změnám u pacientů vždy docházelo v hlavě hipokampu. To především znamená, že použití techniky CSI u hipokampů a vyhodnocení jednotlivých voxelů může vést k detailnějšímu popisu epileptogenní léze než měření z celého objemu hipokampu pomocí SVS (18).

Zajímavou studií bylo dlouhodobé sledování pacientů s mezeitemporální epilepsií, kteří podstoupili místo klasického chirurgického zákroku léčbu Leksellovým gamma nožem (19). Po dobu 3–4 let bylo u nich opakovaně provedeno MR zobrazovací a ¹H MR spektroskopické vyšetření z obou hipokampů a studovány metabolické děje spojené s radiací. První změny byly pozorovatelné přibližně 6 měsíců po zákroku, kdy ve spektrech klesala intenzita N-acetylaspartátu, zatímco MR obrazy ještě žádné změny nezaznamenaly a počet epileptických záchvatů stále narůstal. Nejvýraznější změny nastaly mezi 9. až 12. měsícem, kdy došlo v ozářené oblasti k masivnímu nárůstu edému, a ve spektrech byl nalezen výrazný signál lipidů, zatímco ostatní metabolity se téměř ztratily (obr. 8). Po této kulminaci vymizely záchvaty, edém ustoupil a ve spektrech z ipsilaterální oblasti téměř vymizely jakékoliv identifikovatelné signály včetně lipidů. V kontralaterální oblasti mozku nebyly během času ve spektrech vidět výrazné změny oproti zdravým kontrolám. Přesto bylo možné prokázat, že během 3 let od zákroku koncentrace NAA a celkového kreatinu postupně vzrostly. Tento nárůst je viditelný i u chirurgicky řešené hipokampektomie a zřejmě kompenzuje poškozenou funkci ipsilaterálního hipokampu. Časový průběh postradiačních změn byl zjištěn velmi podobný též na laboratorních potkanech (20).

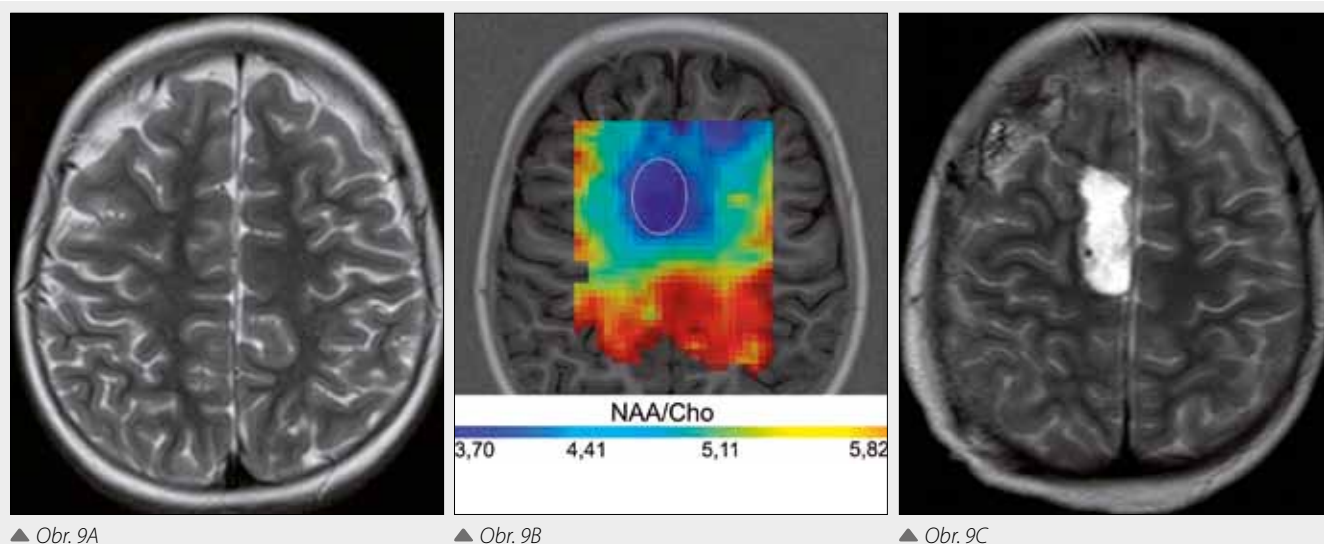
Zatímco u pacientů s temporální epilepsií je hlavním cílem MR spektroskopie lateralizace léze, u extratemporální epilepsie se ¹H MR spektroskopie využívá zejména k lokalizaci epileptogenního ložiska (21). V těchto případech se preferuje metoda spektroskopického zobrazování s dlouhým echo časem (TE = 135 ms). Důvodem je fakt, že v těchto lézích dochází nejčastěji ke změnám intenzit cholinových sloučenin a celkového kreatinu než ostatních sloučenin včetně N-acetylaspartátu. Na druhou stranu je třeba vzít v úvahu efekty částečného objemu a tzv. point spread function, které mohou významně změnit metabolický obraz (22). Kromě vizuální kontroly po korekcích metabolického profilu se i zde osvědčil výpočet koeficientu asymetrie a během let se ukazuje, že výsledky ¹H MRS umí velmi dobře ukázat lézi i v případech, kdy MR obrazy nejsou schop-



Obr. 8

Obr. 8. Koronální MR obraz a ^1H MR spektra z ipsilaterálního a kontralaterálního hipokampu pacienta s epilepsií léčenou gamma nožem: 6 měsíců, 12 měsíců a 18 měsíců po zákroku (1,5T tomograf, sekvence PRESS: TR/TE = 5000/135 ms, VOI = 3,8–4,5 ml)

Fig. 8. Coronal MR image and ^1H MR spectra from the ipsilateral and contralateral hippocampi of the patient with epilepsy treated by gamma knife: 6 months, 12 months, and 18 months after the intervention (1.5T system, PRESS sequence: TR/TE = 5000/135 ms, VOI = 3.8–4.5 ml)



▲ Obr. 9A

▲ Obr. 9B

▲ Obr. 9C

Obr. 9. Mapa poměrů NAA/Cho z 2D CSI a follow-up pacientky s nelezionální epilepsií. A – T2-vážený transverzální MR obraz; B – metabolická mapa poměru koncentrací NAA/Cho naměřená CSI sekvencí s TE = 135 ms a zpracovaná programem jSIPRO. Snížená koncentrace NAA vůči cholinu (zvýrazněno elipsou) ukazuje oblast suspektní epileptogenní tkáně. C – MR obraz po resekci tkáně měřený na jiném pracovišti. Pacientka je po zákroku zcela bez záchvatů. Fig. 9. The metabolic map of NAA/Cho ratios calculated from 2D CSI spectra and follow-up of a patient with nonlesional epilepsy. A – T2-weighted transversal image; B – metabolic map of NAA/Cho ratios measured by CSI sequence with TE = 135 ms and evaluated by jSIPRO software. Decreased concentration of NAA in respect to cholines (see ellipse) represents suspected epileptogenic lesion. C – MR image after the resection of the tissue (measured at other place). The patient is without any seizures now.

ny lézi identifikovat. Navíc korelují s oblastí, která je následně na základě dalších diagnostických a klinických dat chirurgicky odstraněna. Příklad je uveden na obrázku 9.

MOZKOVÉ TUMORY

¹H MR spektroskopie se také s výhodou používá při zjišťování charakteru či rozsahu léze u pacientů s tumorem mozku. V prvních studiích (a nejen našich) se vkládaly naděje, že ¹H MRS může přispět k diferenciální diagnostice jednotlivých typů tumorů jen na základě různého metabolického profilu (23). Tato problematika se ukázala velmi složitou, jelikož na vzhled spekter působí řada faktorů. Je to typ tumoru, jeho pokročilost, umístění a eventuálně předchozí léčba. Mění se nejen koncentrace či relaxační časy sledovaných metabolitů, ale také vody, jejíž intenzita u jiných onemocnění slouží jako interní standard. Absolutní kvantifikace takových spekter je tak za klinických podmínek téměř nemožná.

U nově zjištěných lézí lze využít relativně stabilní koncentrace Cr a sledovat změny metabolitů právě vůči Cr. Tyto poměry pak stačí porovnat se zdravou kontralaterální stranou či kontrolní zdravou skupinou. V těchto případech suspektních tumorů jsme však schopni maximálně rozlišit lézi bez tumorové proliferace, kdy dochází k poklesu všech metabolitů, a lézi s proliferací tumorových buněk, kdy lze podle metabolického profilu pouze usuzovat na typ tumoru (např. astrocytomy nižšího stupně vs. glioblastomy multiforme vyššího stupně) (24). MRS však může pomoci zpřesnit diagnózu tím, že ukáže oblast s největší proliferací buněk, kam se, pokud možno, následně zacílí biopsie. Neurochirurgické navigační systémy v současné době umožňují nahrát MR obrazy fúzané s vybranými 2D nebo 3D metabolickými mapami a při biopsii tak využít informaci o struktuře i metabolismu patologie zároveň (25). U potvrzených tumorů nižšího stupně se pak dlouhodobě sleduje vývoj metabolismu a lze tak včas zachytit případný progres tumoru do vyššího stupně. Možnost neinvazivně sledovat metabolismus léze se také osvědčila u pacientů, kteří z nějakého důvodu nemohou nebo nechtějí absolvovat invazivní biopsii.

Velmi odlišná je situace u pacientů s potvrzenou diagnózou tumoru vyššího stupně, kteří absolvovali radio/chemoterapii. Ta totiž sama o sobě výrazně ovlivňuje metabolismus zasažené tkáně, který se navíc s časem mění. Diferenciální diagnostika radionekrózy a rekurence tumoru je na základě metabolického profilu léze přesto možná, ale vyžaduje znalosti a zkušenosti pracovníka, který spektra vyhodnocuje. V tomto případě se již nelze spolehnout na stabilní signál Cr, natož pak pracovat s absolutními koncentracemi. Vyhodnocovat signál NAA je ztráta času, protože neurony jsou poškozeny samotnou terapií u obou typů lézí. Vhodným řešením je stanovit změnu hodnoty Cho, laktátu a lipidů vůči kontralaterální straně, pokud je to možné (26). Výrazně zvýšený Cho v lézi pak značí rekurenci tumoru, zatímco stabilní či mírně zvýšený Cho a zvýšený laktát a lipidy ukazují na radionekrózu.

V posledních letech jsme se na našem pracovišti také zabývali možnostmi využít kombinace různých MR metod (MRS, DWI, T2 relaxometrie) pro zpřesnění diferenciální diagnostiky tumorů i pro přesnější stanovení rozsahu léze (27), podobně jako v případě pacientů s epilepsií. Studie ukázala, že tvary korelačních křivek z tumoru a jeho okolí jsou velmi různorodé v porovnání s těmi u hipokampálních lézí a jejich interpre-

tace je mnohem komplikovanější. Nicméně jednotlivé typy tumorů vykazovaly svoje typické korelační tvary, díky nimž má tato metoda potenciál identifikovat nejen typ tumoru, ale i různě postižené tkáně v jeho okolí (28). Podrobněji je tato studie rozepsána v (12).

V souvislosti s vyhodnocením koncentrací metabolitů u tumorů mozku jsme se zmínili o problému s kvantifikací v případě, že je výrazně změněna struktura vyšetřované tkáně a tím i koncentrace vody v tkáni, která běžně slouží jako interní standard. Problematice správné kvantifikace MR spekter byla na pracovišti v IKEM věnována řada metodických publikací, které se zabývaly kvalitou měření, vlivy různých parametrů na intenzity signálů, eliminaci subjektivního vlivu při zpracování naměřených dat atd. Vypracovaná metodika tak mj. umožnila nezávislost na konkrétním MR tomografu, dlouhodobé sledování pacientů v průběhu let, vyšetřování malých dětí, kdy se metabolismus velmi rychle mění s vývojem mozku, a zabránění falešně pozitivním, nebo negativním výsledkům na základě různých artefaktů (3, 29–34).

PSYCHIATRICKÁ ONEMOCNĚNÍ

U psychiatrických onemocnění se v poslední době věnuje velká pozornost různým MR zobrazovacím technikám. Pracoviště MR IKEM dlouhodobě spolupracuje ve vědeckých studiích s Národním ústavem duševního zdraví (dříve Psychiatrické centrum Praha) a ¹H MR spektroskopie mozku je jednou z mnoha MR metod, které se snaží objasnit původ a navrhnout možnosti léčby různých druhů duševních poruch. V případě schizofrenie byla unikátní studie na monozygotních konkordantních a diskordantních dvojčatech, která však stejně jako u jiných vzácnějších onemocnění, byla limitována počtem pacientů v naší republice (35).

V současné době se pozornost zaměřuje na studium strukturálních a metabolických změn v různých oblastech mozku pacientů s první epizodou schizofrenie v dlouhodobém horizontu. V této studii využíváme celou baterii dostupných MR technik, od klasického MR zobrazování přes zobrazování pomocí difúzního tenzoru a MRS až po funkční MRI.

Jiná psychiatrická studie byla provedena na dospívajících pacientech s geneticky potvrzenou diagnózou ADHD, kde byla porovnána skupina léčených pacientů psychostimulanty s pacienty bez léčby a zdravými kontrolami. Zatímco detailní MRI analýza zjistila u pacientů v některých oblastech odchylky v tloušťce šedé hmoty mozkové, MR spektroskopická data ukázala, že ani dlouhodobé používání léků, např. methylfenidátu nebo atomoxetinu (v našem případě minimálně 5 let) nemá negativní vliv na metabolický profil bazálních ganglií (36).

ZÁVĚR

¹H MR spektroskopie mozku je na všech v současné době dodávaných tomografech dobře dostupná technika vyšetřování. Získání informativních spekter o obsahu NAA, Cr a Cho je vzhledem k automatizaci měření a vyhodnocování spekter rychlé a může sloužit jako důležitá doplňující informace pro diagnózu. Kvantitativní ¹H MR spektroskopie však vyžaduje mnohem více pozornosti a většinou je nezbytné zpracovat spektra off-line. Výsledky kvantitativní MR spek-

troskopie jak ze single voxel technik, tak ze spektroskopického zobrazování je možné korelovat s výsledky dalších radiologických, genetických a ostatních laboratorních metod.

Multiparametrická analýza zahrnující výsledky MR spektroskopie je jednou z cest budoucího rozvoje MR spektroskopie mozku.

LITERATURA

- Bottomley PA, Edelstein WA, Foster TH, Adams WA. In vivo solvent-suppressed localized hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy: a window to metabolism? *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82(7): 2148–2152.
- Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 1993; 30: 672–679.
- Jiru F, Skoch A, Wagnerova D, Dezortova M, Hajek M. jSIPRO – Analysis Tool for Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 2013; 112(1): 173–188.
- Škoch A, Tošner Z, Hájek M. The in vivo J-difference editing MEGA-PRESS technique for the detection of n-3 fatty acids. *NMR Biomed* 2014; 27(11): 1293–1299.
- Bonnet C, Rusz J, Hanuška J, et al. GABA spectra and remote distractor effect in progressive supranuclear palsy: a pilot study. *Rev Neurol (Paris)* 2017; 173(4): 225–229.
- Dezortová M, Hájek M, Tintěra J, Hejčmanová L, Syková E. MR in Phenylketonuria-related brain lesions. *Acta Radiol* 2001; 42(5): 459–466.
- Dezortova M, Jiru F, Petrasek J, et al. ¹H MR Spectroscopy as a diagnostic tool for cerebral creatine deficiency. *Magn Reson Mater Phy* 2008; 21(5): 327–332.
- Dezortova M, Hajek M. ¹H MR spectroscopy in pediatrics. *Eur J Radiol* 2008; 67(2): 240–249.
- Rolencová E, Dezortová M, Fendrych P, et al. Canavanova nemoc: význam MR zobrazení a MR spektroskopie. *Ces Radiol* 2000; 54(1): 39–41.
- Hájek M, Hejčmanová L, Přádný J. Proton in vivo spectroscopy of patients with hyperphenylalaninaemia. *Neuropediatrics* 1993; 24: 111–112.
- Novotny EJ Jr, Avison MJ, Herschkowitz N, et al. In vivo measurement of phenylalanine in human brain by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Pediatric Res* 1995; 37: 244–249.
- Herynek V, Dezortova M, Pajuelo D. MR relaxometrie. *Ces Radiol* 2017; 71(4): 279–285.
- Hájek M, Komárek V, Dezortová M, et al. Určování epileptogenního ložiska metodou ¹H MR spektroskopie. *Čes Sl Neurol Neurochir* 1995; 58(91): 103–107.
- Hajek M, Dezortova M, Krsek P. ¹H MR Spectroscopy in Epilepsy. *Eur J Radiol* 2008; 67(2): 258–267.
- Hajek M, Krsek P, Dezortova M, et al. ¹H MR spectroscopy in histopathological subgroups of mesial temporal lobe epilepsy. *Eur Radiol* 2009; 19(2): 400–408.
- Hájek M, Dezortová M, Fendrych P, Rolencová E. MR imaging a ¹H MR spectroscopy determination of epileptic lesion of the patient 15 minutes after the epileptic attack (Czech). *Ces Radiol* 1997; 5: 318–321.
- Wagnerova D, Herynek V, Dezortova M, et al. The relationships between quantitative MR parameters in hippocampus in healthy subjects and patients with temporal lobe epilepsy. *Physiol Res* 2015; 64: 407–417.
- Wagnerova D, Dezortova M, Krsek P, et al. Comparison of different methods used for lateralization of mesial temporal lobe epilepsy. *Magn Reson Mater Phy* 2013; 26(Suppl 1): 127–128.
- Hájek M, Dezortová M, Liščák R, Vyamazal J, Vladyka V. ¹H MR spectroscopy of mesial temporal lobe epilepsies treated with Gamma knife. *Eur Radiol* 2003; 13(5): 994–1000.
- Herynek V, Burian M, Jiráček D, et al. Metabolite and diffusion changes in the rat brain after leksell gamma knife irradiation. *Magn Reson Med* 2004; 52(2): 397–402.
- Krsek P, Hajek M, Dezortova M, et al. ¹H MR spectroscopic imaging in patients with MRI-negative extratemporal focal epilepsy: Correlation with ictal onset zone and histopathology. *Eur Radiol* 2007; 17(8): 2126–2135.
- Skoch A, Jiru F, Bunke J. Spectroscopic imaging: Basic principles. *Eur J Radiol* 2008; 67(2): 230–239.
- Dezortová M, Hájek M, Čáp F, et al. MR spektroskopie při sledování nádorových onemocnění mozku. Kvalitativní interpretace ¹H MR spekter. *Čes Sl Neurol Neurochir* 1994; 4: 162–168.
- Wagnerová D, Urgošik D, Syrůček M, Hájek M. Využití kombinace metod magnetické rezonance pro diagnostiku tumorů. *Cesk Slov Neurol N* 2011; 74/107(2): 150–156.
- Wagnerová D, Malucelli A, Sameš M, Hájek M. Využití MR spektroskopie u navigovaných stereotaktických biopsií tumorů mozku. *Ces Radiol* 2014; 68(3): 260.
- Wagnerova D, Malucelli A, Dezortova M, et al. Differential diagnosis of brain tumor recurrence and radiation necrosis using MR spectroscopy. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 2014; 1854.
- Wagnerova D, Jiru F, Dezortova M, et al. The correlation between ¹H MRS choline concentrations and MR diffusion trace values in human brain tumors. *Magn Reson Mater Phy* 2009; 22(1): 19–31.
- Wagnerova D, Herynek V, Malucelli A, et al. Quantitative MR imaging and spectroscopy of brain tumours: a step forward? *Eur Radiol* 2012; 22(11): 2307–2318.
- Hajek M. Quantitative NMR spectroscopy. Comments on methodology of in vivo MR spectroscopy in medicine. *Quart Magn Reson Biol Med Vol II*: 165–193, 1995.
- Kubelka J, Hájek M. Quality control for magnetic resonance spectroscopy. *Quart Magn Reson Biol Med* 1996; III: 139–149.
- Hajek M, Burian M, Dezortova M. Application of LCModel for quality control and quantitative in vivo ¹H MR spectroscopy by short echo time STEAM sequence. *Magn Reson Mater Phy* 2000; 10(1): 6–17.
- Jiru F, Dezortova M, Burian M, Hajek M. The role of relaxation time corrections for the evaluation of long and short echo time ¹H MR spectra of the hippocampus by NUMARIS and LCModel techniques. *Magn Reson Mater Phy* 2003; 16(3): 135–142.
- Jiru F, Skoch A, Klose U, Grodd W, Hajek M. Error images for spectroscopic imaging by LCModel using Cramer-Rao bounds. *Magn Reson Mater Phy* 2006; 19(1): 1–14.
- Jiru F, Skoch A, Wagnerova D, et al. The age dependence of T2 relaxation times of N-acetyl aspartate, creatine and choline in the human brain at 3 and 4T. *NMR in Biomed* 2016; 29(3): 284–292.
- Španiel F, Hájek T, Tintěra J, et al. Differences in fMRI and MRS in a monozygotic twin pair discordant for schizophrenia (case report). *Acta Psychiat Scand* 2003; 107(2): 155–158.
- Dezortova M, Skoch A, Herynek V, et al. MR findings in ADHD patients. *Magn Reson Mater Phy* 2015; 28(Suppl 1): S346.