



INSTYTUT BIOCYBERNETYKI
I INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ
im. Macieja Nałęcz
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

ROZPRAWA DOKTORSKA

Mgr inż. Marcin Michał Sińczuk

Środowiskowa Pracownia Nowych Zastosowań Diagnostycznych
Jądrowego Rezonansu Magnetycznego
CNS Lab

Termometria *in vivo* mózgu z wykorzystaniem widma Spektroskopii Rezonansu Magnetycznego (MRS) pojedynczego woksela

Promotor: prof. dr hab. inż. Piotr Bogorodzki

Podziękowania

Pragnę serdecznie podziękować wszystkim, którzy przyczynili się do powstania niniejszej rozprawy doktorskiej i wspierali mnie w trakcie jej realizacji.

Szczególnie chciałbym podziękować mojemu promotorowi, profesorowi Piotrowi Bogorodzkiemu, za nieocenione wsparcie, wiedzę, cierpliwość oraz cenne godziny konsultacji jakie mi poświęcił.

Dziękuję również Pani dr inż. Ewie Piątkowskiej - Janko za wnikliwe uwagi, cenne sugestie, a także wielką cierpliwość, które pomogły w ukończeniu tej pracy.

Nieocenione wsparcie otrzymałem również od członków pracowni CNS Lab, którym dziękuję za inspirujące środowisko badawcze, którym mnie otaczali.

Szczególne podziękowania kieruję do mojej Rodziny i Przyjaciół, którzy przez cały okres pracy nad doktoratem wspierali mnie cierpliwością, zrozumieniem i motywacją.

Cała praca nie odbyłaby się gdyby nie nieskończone wsparcie okazane mi przez moją żonę Agnieszkę za co szczególnie chciałbym jej podziękować.

Streszczenie

Niniejsza praca dotyczy zastosowania Spektroskopii Magnetycznego Rezonansu Jądrowego ang. (MRS z ang. Magnetic Resonance Spectroscopy) do nieinwazyjnego pomiaru temperatury mózgu in vivo, znanej jako termometria MRS (MRSt). Metoda ta opiera się na zależności temperaturowej częstotliwości sygnałów MRS pochodzących od protonów zawartych w związkach chemicznych mózgu. Zmiana tej częstotliwości, zwana przesunięciem chemicznym, wykazuje liniową zależność od temperatury – dla protonów w cząsteczkach wody typowy współczynnik wynosi $0,01^{\circ}\text{C/ppm}$.

W niniejszej pracy przedstawiono nowatorską metodę pomiaru temperatury opartą na wykorzystaniu pików wody z widm MRS kalibracyjnych (WU, ang. Water Unsuppressed) w połączeniu z pikami metabolitów z widm MRS diagnostycznych (WS, ang. Water Suppressed). W ramach pracy opracowano aplikację TermoM, umożliwiającą parametryzację pików wody i metabolitów obecnych w widmach typu WS i WU. Przeprowadzone badania kalibracyjne, z wykorzystaniem fantomu o składzie chemicznym zawierającym główne metabolity tkanki mózgowej (N-acetyloasparaginian - NAA, Kreatyna - CRE, Cholina - CHO), pozwoliły na wyznaczenie sześciu funkcji kalibracyjnych (WS-NAA, WS-CRE, WS-CHO, WU-NAA, WU-CRE, WU-CHO), umożliwiających pomiar temperatury w jednostkach bezwzględnych. Wykazano, że metoda oparta na widmach typu WU pozwala na pomiar temperatury z substopniową dokładnością ($\pm 0,16^{\circ}\text{C}$), porównywalną z metodami bazującymi na widmach WS. Dodatkowo, w badaniach in vivo z użyciem zaproponowanej metody wykazano na grupie 146 zdrowych osób, że długotrwałe skanowanie fMRI prowadzi do istotnego spadku temperatury mózgu, co może wynikać z intensywnego napływu chłodniejszej, utlenowanej krwi. W badaniu klinicznym przeprowadzonym na grupie 6 pacjentów z nowotworami mózgu wykazano, że zaproponowana metoda pozwala na wykrycie istotnie podwyższonej temperatury w tkankach patologicznych, co nie było możliwe przy zastosowaniu tradycyjnych metod opartych wyłącznie na widmach WS.

Uzyskane wyniki potwierdzają tezę, że widma WU mogą być wykorzystywane w pomiarach temperatury mózgu z substopniową dokładnością, otwierając nowe możliwości w diagnostyce neurologicznej i retrospektywnych badaniach nad termometrią MRS.

Abstract

This study focuses on the application of Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) for the non-invasive measurement of brain temperature in vivo, known as MRS thermometry (MRSt). This method is based on the temperature dependence of MRS signal frequencies originating from protons contained in brain chemical compounds. The change in this frequency, known as chemical shift, exhibits a linear relationship with temperature – for protons in water molecules, the typical coefficient is 0.01°C/ppm .

This study presents an innovative temperature measurement method based on the use of the water peak from calibration MRS spectra (WU, Water Unsuppressed) combined with metabolite peaks from diagnostic MRS spectra (WS, Water Suppressed). As part of the research, the TermoM application was developed, allowing for the parameterization of water and metabolite peaks present in WS and WU spectra. Calibration studies, using a phantom containing the main metabolites of brain tissue (N-acetylaspartate - NAA, Creatine - CRE, Choline - CHO), enabled the determination of six calibration functions (WS-NAA, WS-CRE, WS-CHO, WU-NAA, WU-CRE, WU-CHO), facilitating temperature measurement in absolute units. It was demonstrated that the method based on WU spectra allows for temperature measurement with sub-degree accuracy ($\pm 0.16^{\circ}\text{C}$), comparable to methods based on WS spectra. Additionally, in vivo studies using the proposed method showed, in a group of 146 healthy individuals, that prolonged fMRI scanning leads to a significant decrease in brain temperature, which may result from an increased influx of cooler, oxygenated blood. In a clinical study conducted on a group of six patients with brain tumors, the proposed method was able to detect significantly elevated temperatures in pathological tissues, which was not possible using traditional methods based solely on WS spectra.

The obtained results confirm the hypothesis that WU spectra can be used for brain temperature measurements with sub-degree accuracy, opening new possibilities in neurological diagnostics and retrospective studies on MRS thermometry.

Spis Treści

Streszczenie.....	5
Abstract.....	6
Spis Treści.....	7
I. Wprowadzenie i studia literaturowe.....	8
1. Wstęp.....	8
2. Spektroskopia Rezonansu Magnetycznego (MRS).....	11
2.1. Podstawy spektroskopii rezonansu magnetycznego.....	11
2.2. Widmo spektroskopii NMR.....	18
2.3. Techniki MRS w badaniach ‘in-vivo’.....	23
2.4. Tłumienie sygnału wody.....	25
2.5. Shimming.....	28
2.6. Archiwizacja danych w systemie MR.....	30
2.7. Jakość i przetwarzanie widma MRS.....	31
2.8. Zastosowania kliniczne spektroskopii rezonansu magnetycznego.....	33
3. Termometria spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRSt).....	39
3.1. Przegląd literatury.....	39
3.2. Podsumowanie i zasady działania.....	50
II. Badania własne.....	55
4. Techniki i metody badawcze.....	56
4.1. Aplikacja TermoM do obróbki i analizy widm MRS w technice MRSt.....	56
4.2. Opracowanie fantomu i procedury kalibracyjnej do bezwzględnego pomiaru temperatury.....	62
4.2.1. Projekt Fantomu MRS.....	62
4.2.2. Opis zastosowanej procedury kalibracyjnej.....	63
4.3. Pomiary temperatury mózgu in vivo.....	68
4.3.1. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę.....	68
4.3.2. Pomiary temperatury w zmianach nowotworowych.....	70
5. Wyniki badań własnych.....	73
5.1. Przetwarzanie i analiza danych z fantomu MRS.....	73
5.2. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę mózgu.....	77
5.3. Pomiary temperatury zmian nowotworowych mózgu.....	82
6. Podsumowanie i wnioski końcowe.....	86
Bibliografia.....	89
Wykaz użytych skrótów.....	98
Spis Rysunków.....	100
Spis Tabel.....	104

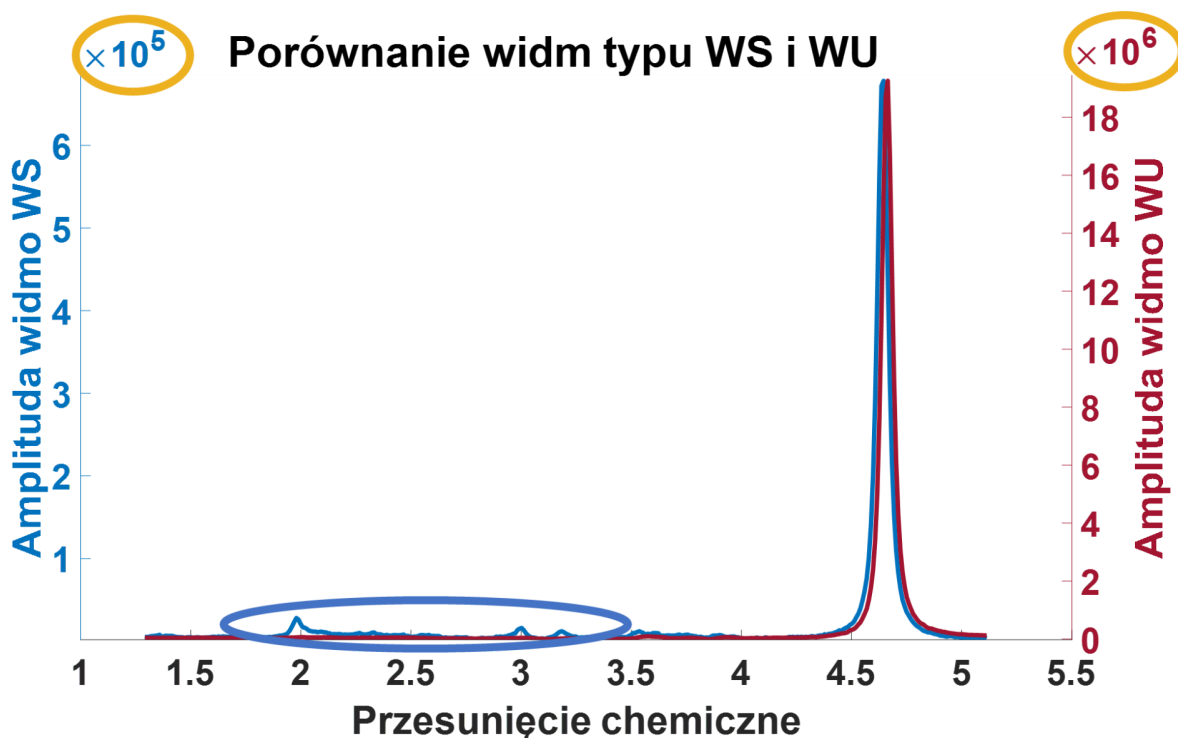
I. Wprowadzenie i studia literaturowe

1. Wstęp

Temperatura jest ważnym parametrem homeostatycznym organizmów żywych, ponieważ jej regulacja odgrywa istotną rolę w fizjologii, odpowiadając za stabilizację temperatury wewnętrznej ciała mimo znacznych wahań temperatury otoczenia. Wiadomo, że temperatura wpływa na aktywność i funkcje układu nerwowego [1–4], jednak wciąż posiadamy ograniczoną wiedzę na temat normalnych i patologicznych fluktuacji temperatury mózgu oraz mechanizmów leżących u podstaw homeostazy termicznej mózgu i jej zmian.

Niniejsza praca dotyczy zastosowania techniki Spektroskopii Rezonansu Magnetycznego (MRS) do wyznaczania temperatury tkanek *in vivo* czyli termometrii Spektroskopii Rezonansu Magnetycznego (MRSt). Metoda MRSt, będąca rozwinięciem badań Hindmana z 1966 roku [5], została w latach 90. przetestowana *in vivo* przez Corbetta [6] i Cady'ego [7]. Początkowo badania koncentrowały się na zwierzętach, lecz wkrótce technika znalazła zastosowanie u ludzi [8]. Nowa technika umożliwia bezinwazyjne badania zmian temperaturowych w mózgu pacjentów po udarze [9–11], w przypadkach urazów mózgu [11], a także u osób cierpiących na choroby neurologiczne, takie jak schizofrenia [12, 13], guzy mózgu [14, 15] czy epilepsja [16].

Technika MRS pozwala na analizę składu chemicznego tkanek poprzez wyznaczanie stężeń związków chemicznych, które są produktami procesów biochemicznych i metabolicznych zachodzących w komórkach, zwanymi metabolitami. Stężenia metabolitów wyznacza się na podstawie widm MRS (Rys. 1) poprzez analizę powierzchni pod charakterystycznymi pikami sygnału rozmieszczonymi wzdłuż osi częstotliwości. Oś częstotliwości, nazywana przesunięciem chemicznym, jest wyrażana w jednostkach względnych ppm (ppm, z ang. parts per million) umożliwiającą porównanie wyników badań MRS niezależnie od indukcji pola magnetycznego skanera, na którym przeprowadzone było badanie.



Rysunek 1. Porównanie widm z częściowo tłumionym (niebieska linia) i nietłumionym (czerwona linia) sygnałem wody. Na wykresie widma z częściowo stłumionym sygnałem wody, sygnały metabolitów zostały oznaczone na niebiesko. Na obu wykresach rzędy wielkości oraz różnice w amplitudzie sygnałów zaznaczono na żółto. Praca własna.

Metoda MRSt, która jest podtypem metody MRS, opiera się na pomiarze przesunięcia chemicznego protonów w wodzie. Przesunięcie chemiczne protonów zmienia się liniowo wraz z temperaturą, z współczynnikiem wynoszącym około $-0,01 \text{ ppm}/^\circ\text{C}$ [5], a w przypadku metabolitów mózgowych, takich jak N-acetyloasparaginian (NAA), Kreatyna (Cre) lub Cholina (Cho) zależność między temperaturą a przesunięciem chemicznym sygnału metabolitów jest znacząco mniejsza. W związku z tym do pomiaru temperatury wykorzystuje się różnicę przesunięcia chemicznego wody i wybranego metabolitu ($\Delta(W\text{-NAA})$, $\Delta(W\text{-Cre})$, $\Delta(W\text{-Cho})$). Zagadnieniem utrudniającym ten pomiar jest fakt, że pik rezonansowy wody znajdujący się na 4,7 ppm (przy temperaturze 37°C) przewyższa o trzy rzędy wielkości (Rysunek 1, pik wody z amplituda $1,8 \cdot 10^7 \text{ a.u.}$, piki metabolitów z amplituda mniejszą niż 10^5 a.u.) piki innych metabolitów znajdujących się w zakresie od 1,5 do 3,5 ppm. Aby zmniejszyć dynamikę sygnału jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR, ang. nuclear magnetic resonance), podczas akwizycji sygnału MR stosuje się dodatkowe pobudzenia, które mają selektywnie stłumić sygnał pochodzący od protonów w wodzie. W jego wyniku otrzymuje się widma częściowo tłumione WS (ang. water suppressed) lub bez tłumienia WU (ang. water unsuppressed). Skanery firmy General Electric (GE) rejestrują dwa typy danych. Widma diagnostyczne typu WS, na których widoczne są zarówno resztkowe piki wody, jak i metabolitów, są wykorzystywane do pomiarów stężeń metabolitów oraz tradycyjnie

stosowane w pomiarach MRSt. Widma kalibracyjne typu WU są wykorzystywane wyłącznie w procesie automatycznego strojenia skanera oraz w procesie wstępnej obróbki danych diagnostycznych, przy czym widoczny jest na nich jedynie pojedynczy pik wody.

Aby umożliwić bezwzględny pomiar temperatury techniką MRSt, konieczne jest przeprowadzenie kalibracji, które polegają na pomiarach fantomów zawierających wodne roztwory metabolitów. Pomiary wykonuje się w założonym zakresie temperatur (zazwyczaj od 30°C do 42°C), co pozwala na wyznaczenie funkcji kalibracyjnej specyficznej dla używanego skanera MR.

Teza niniejszej rozprawy zakłada, że pik wody z widm kalibracyjnych sekwencji MRS - PRESS typu WU może być wykorzystany do pomiarów in vivo temperatury mózgu z substopniową dokładnością.

Dodatkowo celami niniejszej pracy było:

- 1. Opracowanie metody wykorzystania zgromadzonych już klinicznych zestawów danych MRS-PRESS do pomiarów temperatury i porównania zmienności położenia pików wody w widmach typu WU i WS.**
- 2. Opracowanie procedury kalibracyjnej pozwalającej na pomiar temperatury w jednostkach bezwzględnych.**
- 3. Przeprowadzenie pomiarów z zastosowaniem proponowanej metodyki w zagadnieniach praktycznych na danych uzyskanych z badań in vivo.**

2. Spektroskopia Rezonansu Magnetycznego (MRS)

2.1. Podstawy spektroskopii rezonansu magnetycznego

Spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS) to technika badawcza oparta na zjawisku rezonansu magnetycznego, umożliwiającą nieinwazyjną analizę składu chemicznego tkanek. Wykorzystuje właściwości jąder atomowych, takich jak protony wodoru (^1H), które w silnym polu magnetycznym emitują sygnały zależne od lokalnego środowiska chemicznego. Zwyczajowe badania mózgu wykorzystują ^1H -MRS, który pozwala na precyzyjną ocenę stężeń kluczowych metabolitów, takich jak N-acetyloasparaginian (NAA), kreatyna (Cre) czy cholina (Cho), dostarczając cennych informacji o procesach biochemicznych zachodzących w tkance nerwowej.

Spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS) bazuje na dwóch fundamentalnych zjawiskach:

- jądra atomowe takie jak wodór (^1H) o spinie magnetycznym mogą być wzbudzane zewnętrznym promieniowaniem elektromagnetycznym,
- jądra tego samego typu ze względu na efekt ekranowania chemicznego, choć identyczne pod względem liczby protonów i neutronów, mogą wykazywać różne częstotliwości rezonansowe, co umożliwia ich rozróżnienie.

Izotopy posiadające niezerowy jądrowy moment magnetyczny oddziałują z zewnętrznym polem magnetycznym. Powiązana energia potencjalna (E) jest równa iloczynowi momentu magnetycznego (μ) i przyłożonego zewnętrznego pola magnetycznego (B_0), co można opisać wzorem (1):

$$E = - \mu \cdot B_0, \quad (1)$$

gdzie:

E — energia potencjalna [J],

μ — moment magnetyczny [$\frac{\text{J}}{\text{T}}$],

B_0 — zewnętrzne pole magnetyczne [T].

Wielkość jądrowego momentu magnetycznego (μ) zależy od wewnętrznego spinowego momentu pędu (S) oraz współczynnika żyromagnetycznego (γ) jak opisano we wzorze (2):

$$\mu = \gamma S, \quad (2)$$

gdzie:

μ – jądrowy moment magnetyczny [$\frac{Hz}{T}$],

γ – współczynnik żyromagnetyczny [$\frac{J}{T}$],

S – spinowy moment pędu [$\frac{kg \cdot m^2}{s}$].

Współczynnik żyromagnetyczny (γ) charakterystyczny dla każdego jądra jest określony jako iloczyn współczynnika g_s , ładunku elektrycznego (q) i masy (m) (3).

$$\gamma = \frac{g_s q}{2m}, \quad (3)$$

gdzie:

γ – współczynnik żyromagnetyczny [$\frac{Hz}{T}$],

g_s – współczynnik charakterystyczny dla jądra atomowego (wielkość bezwymiarowa),

q – ładunek elektryczny cząstki [C],

m – masa cząstki [kg].

Zatem energia potencjalna (E) będzie opisana jako iloczyn współczynnika żyromagnetycznego (γ), wewnętrznego spinowego momentu pędu (S) i zewnętrznego pola magnetycznego (B_0) (4).

$$E = \gamma S B_0, \quad (4)$$

gdzie:

E – energia potencjalna [J],

γ – współczynnik żyromagnetyczny [$\frac{Hz}{T}$],

S – spinowy moment pędu [$\frac{kg \cdot m^2}{s}$],

B_0 – zewnętrzne pole magnetyczne [T].

Spinowy moment pędu (S) można wyrazić jako iloczyn bezwymiarowej kwantowej liczby spinowej (I) oraz stałej Plancka ($h = 6,626068 \times 10^{-34} \text{Js}$) podzieloną przez 2π (5).

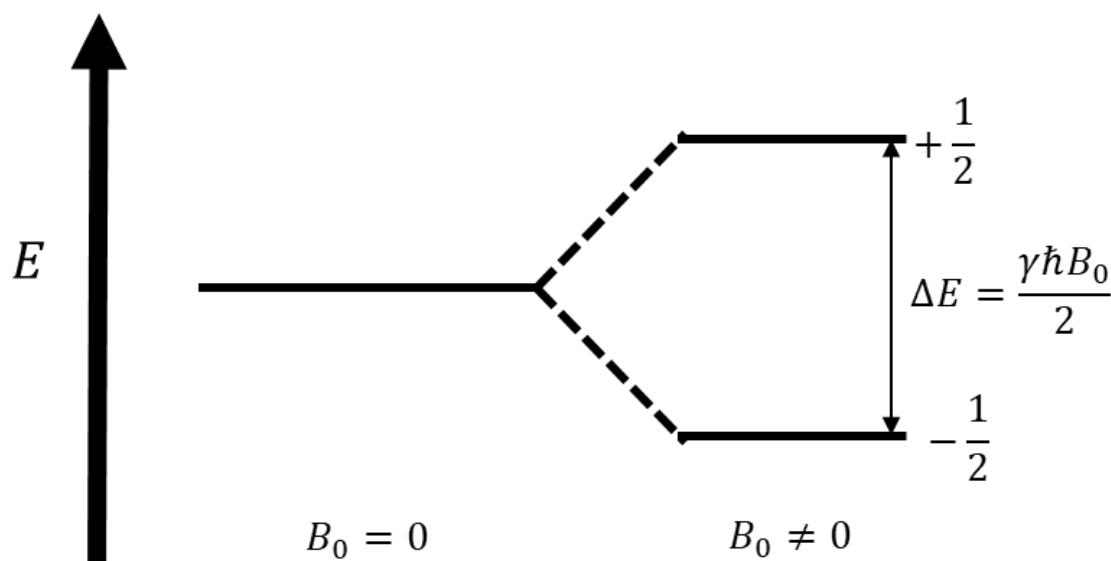
$$S = \frac{Ih}{2\pi}, \quad (5)$$

Przyjmując, że pole magnetyczne B_0 zorientowane jest wzdłuż osi Z , równanie (1) można zapisać w następującej postaci:

$$E = -\mu_z B_0, \quad (6)$$

gdzie μ_z jest składową μ wzdłuż osi Z .

Spinowa liczba kwantowa I kwantuje wielkość spinu, którego wartość jest charakterystyczną cechą dla danej cząstki. W przypadku protonów wartość spinowej liczby kwantowej wynosi $\frac{1}{2}$, zatem magnetyczna spinowa liczba kwantowa może przyjąć jedynie dwie wartości: $-\frac{1}{2}$ i $+\frac{1}{2}$ (Rysunek 2).



Rysunek 2. Poziomy energii dla jądra o spinowej liczbie kwantowej $I = \pm 1/2$. W przypadku braku zewnętrznego pola B_0 , oba poziomy energii są wyrównane. Jądra o spinie $1/2$ mają dwa poziomy energii odpowiadające dwóm dyskretnym wartościom I . Spin o $I = +1/2$ jest wyrównany z zewnętrznym polem magnetycznym i dlatego ma niższą energię. Praca własna.

Powstają dwa stany kwantowe, pomiędzy którymi możliwe są przejścia energetyczne wywołane absorpcją promieniowania elektromagnetycznego o odpowiedniej energii. Energię interakcji spinu w określonym stanie kwantowym z zewnętrznym polem magnetycznym można wyrazić danym wzorem:

$$E = \gamma I B_0 \frac{h}{2\pi}, \quad (7)$$

gdzie:

γ — współczynnik żyromagnetyczny [$\frac{Hz}{T}$],

I — spinowa liczba kwantowa,

B_0 — indukcja zewnętrznego pola magnetycznego [T],

h — stała Plancka ($6,626068 \times 10^{-34}$ [Js]).

Energia promieniowania elektromagnetycznego potrzebnego do wzbudzenia przejścia między poziomami energetycznymi jest równa dokładnie różnicy energii pomiędzy stanami kwantowymi (w przypadku protonów spinowa liczba kwantowa wynosi $I = \pm \frac{1}{2}$):

$$E = \Delta E = h\nu_0 = \frac{1}{2}\gamma\hbar B_0 - \left(-\frac{1}{2}\gamma\hbar B_0\right), \quad (8)$$

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0, \quad (9)$$

gdzie:

γ — współczynnik żyromagnetyczny [$\frac{Hz}{T}$],

B_0 — indukcja zewnętrznego pola magnetycznego [T],

$\hbar$ — zredukowana stała Plancka $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ [Js].

Odpowiadająca jej częstotliwość jest zależna liniowo od indukcji magnetycznej zewnętrznego pola i charakterystyczna dla danego typu jądra, w którym stosunek żyromagnetyczny jest stały (9). Częstotliwość można też przedstawić w skalarnych jednostkach (radiany/sec) uzyskując:

$$\omega_0 = \gamma B_0, \quad (10)$$

gdzie:

ω — jest nazywana częstotliwością Larmora [Hz],

γ — współczynnik żyromagnetyczny [$\frac{Hz}{T}$],

B_0 — indukcja zewnętrznego pola magnetycznego [T].

Przy powszechnie stosowanych indukcjach pola magnetycznego dostępnych obecnie dla spektroskopii MR in vivo (≈ 1 do 7 Tesli) większość jąder magnetycznych rezonuje w obszarze widma elektromagnetycznego o wysokich częstotliwościach (np. $\approx$

42-300 MHz dla protonów). W klinicznych badaniach MRS najczęściej stosuje się magnesy (1,5T i 3,0T), odpowiadające częstotliwościom rezonansowym odpowiednio 64 i 128 MHz.

Standardowy eksperyment NMR polega na absorpcji promieniowania elektromagnetycznego (wzbudzeniu), a następnie emisji spójnego sygnału i powrocie spinów do niższego stanu energetycznego. W NMR wykrywane są tylko określone jądra atomowe, takie jak na przykład ^1H (proton), ^{13}C (węgiel), ^{19}F (fluor) i ^{31}P (fosfor), które posiadają niezerową liczbę kwantową spinu, a co za tym idzie, jądrowy moment magnetyczny.

Częstotliwość jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) jest silnie uzależniona od lokalnego chemicznego środowiska jądra, na które wpływają zarówno chmura elektronowa, jak i otaczające atomy. Lokalna chmura elektronów, a także inne odległe atomy, indukują wtórne, fluktuujące pole magnetyczne. Zmiany pola magnetycznego określa się jako efekt ekranowania, co opisuje się poprzez modyfikację równania Larmora (10) opisanego wzorem:

$$\omega_0 = \gamma B_0 (1 - \sigma), \quad (11)$$

gdzie:

ω_0 — jest zmodyfikowaną częstotliwością Larmora [Hz]

B_0 — stałe pole magnetyczne [T],

σ — stała ekranowania,

γ — stała żyromagnetyczna [$\frac{\text{Hz}}{\text{T}}$].

Wzrost wartości ekranowania (dodatnia wartość σ) skutkuje obniżeniem efektywnej indukcji magnetycznej, co prowadzi do zmniejszenia częstotliwości rezonansowej NMR (przesunięcia chemicznego). Ze względu na wiele czynników diamagnetycznych, paramagnetycznych i atomowych dokładne przesunięcie chemiczne jest często określane doświadczalnie.

Ponieważ zarówno bariera energetyczna między poziomami energetycznymi jąder, jak i natężenie lokalnych pól magnetycznych, zależą od wielkości B_0 , nie jest możliwe przedstawienie położenia sygnałów rezonansowych na widmie za pomocą bezwzględnych wartości częstotliwości (lub długości fali) absorbowanego promieniowania elektromagnetycznego. Taka prezentacja widm skutkowałaby różnymi wynikami w zależności od wartości indukcji pola magnetycznego w danym eksperymencie. To z kolei utrudniałoby porównywanie wyników eksperymentów przeprowadzanych w różnych laboratoriach. Dlatego w spektroskopii NMR stosuje się podejście względne. W analizie widma dla określonego jądra atomowego wprowadza się substancję wzorcową, której

sygnał rezonansowy stanowi punkt odniesienia (punkt 0) na skali. Położenie sygnałów rezonansowych próbki jest następnie określane względem sygnału rezonansowego wzorca, co umożliwia jednolite porównywanie wyników pomiarów między różnymi laboratoriami. Widmo może być wyświetlane z częstotliwościami bezwzględными w hercach [Hz] lub z przesunięciami częstotliwości w stosunku do omawianego wcześniej wzorca w następujący sposób:

$$\delta [ppm] = \frac{\omega_{\text{próbki}} - \omega_{\text{wzorca}}}{\omega_{\text{wzorca}}} \left[\frac{[Hz]}{[MHz]} = ppm \right] \quad (12)$$

W ten sposób tworzy się skala przesunięć chemicznych δ , która zgodnie z powyższym wzorem jest bezwymiarowa. Ze względu na minimalną różnicę między częstotliwością sygnału próbki a częstotliwością sygnału wzorca, licznik wzoru (wzór 12) wyraża tę wartość w hercach (Hz). Jest to spowodowane tym, że lokalne pola odpowiedzialne za zjawisko przesunięcia chemicznego są znacznie mniejsze w porównaniu do pola B_0 . W mianowniku natomiast częstota wzorca wyrażana jest w megahercach (MHz, 10^6 Hz). Otrzymana w ten sposób skala przesunięć chemicznych odpowiada liczbowo milionowym częściom wartości częstotliwości sygnału rezonansowego obserwowanego jądra. Zaznacza się to w opisie skali skrótem ppm (parts per million). W spektroskopii 1H substancją wzorcową używaną do wyznaczania skali przesunięć chemicznych jest tetrametylosilan (TMS). Ten związek chemiczny został wybrany ze względu na kilka kluczowych powodów:

- Jednorodność chemiczna tetrametylosilanu sprawia, że daje on pojedynczy, silny sygnał w widmie MRS, ułatwiając kalibrację.
- Częstotliwość bezwzględna TMSu znajduje się w niskich regionach przesunięcia chemicznego (około 0 ppm), ze względu na silne ekranowanie jego protonów, dzięki czemu nie nakłada się na sygnały innych związków.
- TMS jest chemicznie obojętny i nie reaguje z większością badanych próbek, co zapewnia jego stabilność w roztworze i niezakłócanie wyników analizy.
- Posiada niską zależność od temperatury, a także jest łatwo rozpuszczalny w wielu rozpuszczalnikach organicznych czyniąc go uniwersalnym odnośnikiem w badaniach próbek w różnych środowiskach.
- Dzięki wysokiej lotności TMS można łatwo usunąć z próbki po zakończeniu analizy, co pozwala na dalsze badania próbki już bez jego obecności.

Widma in vivo są zwykle sztucznie kalibrowane w oparciu o częstotliwość wody, co nie jest tak precyzyjne ze względu na zależność częstotliwości piku wody od temperatury.

Wielkość sygnału NMR zależy od sumy niezerównoważonych momentów magnetycznych w całej populacji spinów. Wektor namagnesowania, będący sumą

wektorową wszystkich momentów magnetycznych w próbce, określa maksymalną amplitudę sygnału możliwą do uzyskania w eksperymencie NMR.

$$M = \sum_{i=1}^N \mu_i, \quad (9)$$

gdzie:

M — wektor namagnesowania $[\frac{J}{T}]$,

N — liczba spinów (jąder) w próbce,

μ_i — wektorowy moment magnetyczny pojedynczego jądra $[\frac{J}{T}]$.

Dla populacji $\frac{1}{2}$ spinowej wypadkowy moment magnetyczny wynika z różnic dwóch stanów własnych ($N_{góra}$, $N_{dół}$) spinów różniących się energią, których gęstości wynikają z rozkładu Boltzmann'a:

$$P_{góra} = \frac{N_{góra}}{N_{góra} + N_{dół}}, \quad P_{dół} = \frac{N_{dół}}{N_{góra} + N_{dół}}, \quad (10)$$

$$N_{góra} = e^{\frac{-E_{góra}}{kT}} = e^{\frac{\gamma \hbar B_0}{2kT}}, \quad (11)$$

gdzie:

$P_{góra/dół}$ — prawdopodobieństwo znalezienia się spinu w stanie energetycznym “górnym” i “dolnym”

$E_{góra/dół}$ — stany energetyczne powiązane ze stanami ‘górnymi’ i ‘dolnymi’ spinów,

$\hbar$ — zredukowana stała Plancka ($\hbar = \frac{h}{2\pi}$ [Js]),

B_0 — wartość zewnętrznego pola magnetycznego [T],

γ — stała żyromagnetyczna $[\frac{Hz}{T}]$,

T — absolutna temperatura spinów [K],

k — stała Boltzmana ($1,38 \times 10^{-23}$ [$\frac{J}{K}$]).

W stanie równowagi poziom polaryzacji jest niski ($N_{góra} = N_{dół}$), więc poziom namagnesowania jąder można przybliżyć za pomocą pierwszego rozwinięcia liniowego funkcji wykładniczej, podając średni operator momentu magnetycznego:

$$\langle \mu \rangle = \frac{\gamma \hbar}{2} (P_{\text{góra}} - P_{\text{dół}}) = \frac{\gamma^2 \hbar^2 B_0}{4kT}, \quad (12)$$

$$M = \frac{N \gamma^2 \hbar^2 B_0}{4kT}, \quad (13)$$

gdzie:

γ — stała żyromagnetyczna [$\frac{\text{Hz}}{\text{T}}$],

$\hbar$ — zredukowana stała Plancka ($\hbar = \frac{h}{2\pi}$ [Js]),

N — liczba spinów,

B_0 — stała indukcja pola magnetycznego [T],

k — stała Boltzmana ($1,38 \times 10^{-23}$ [$\frac{\text{J}}{\text{K}}$]),

T — absolutna temperatura spinów [K].

Z powyższego wzoru (13) wynika, że jedynym praktycznym sposobem na zwiększenie wypadkowego momentu magnetycznego w próbce in vivo jest zwiększenie indukcji pola magnetycznego B_0 .

2.2. Widmo spektroskopii NMR

Spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS) to technika analityczna, stosowana w chemii, biochemii i medycynie, służąca do analizy składu chemicznego próbek w postaci cieczy, ciał stałych lub tkanek. Gdy próbka umieszczona jest w zmiennym polu magnetycznym, jądra atomowe pochłaniają jego energię, co powoduje ich wzbudzenie. Po wyłączeniu zmiennego pola jądra ulegają relaksacji, powracając do stanu równowagi magnetycznej w wyniku którego emitują sygnał. Ten sygnał rejestrowany przez aparat NMR (ang. nuclear magnetic resonance) nosi nazwę FID (ang. Free Induction Decay). Sygnał ten opisuje wzór opracowany przez Hoult'a i Richardsa w 1976 roku [17]:

$$S(t) = -\frac{\partial}{\partial t} (\vec{B}_1 \cdot \vec{M}_0), \quad (14)$$

gdzie :

$\vec{B}_1$ — to wektor pola magnetycznego impulsu RF, generowany przez cewki RF, który oscyluje z częstotliwością Larmora i jest ustawiony poprzecznie do stałego pola B_0 , wzbudzając precesję magnetyzacji w badanej próbce,

$\vec{M}_0$ — rozkład magnetyzacji wewnątrz cewki w równowadze termodynamicznej przy określonej temperaturze T zgodne ze wzorem (13).

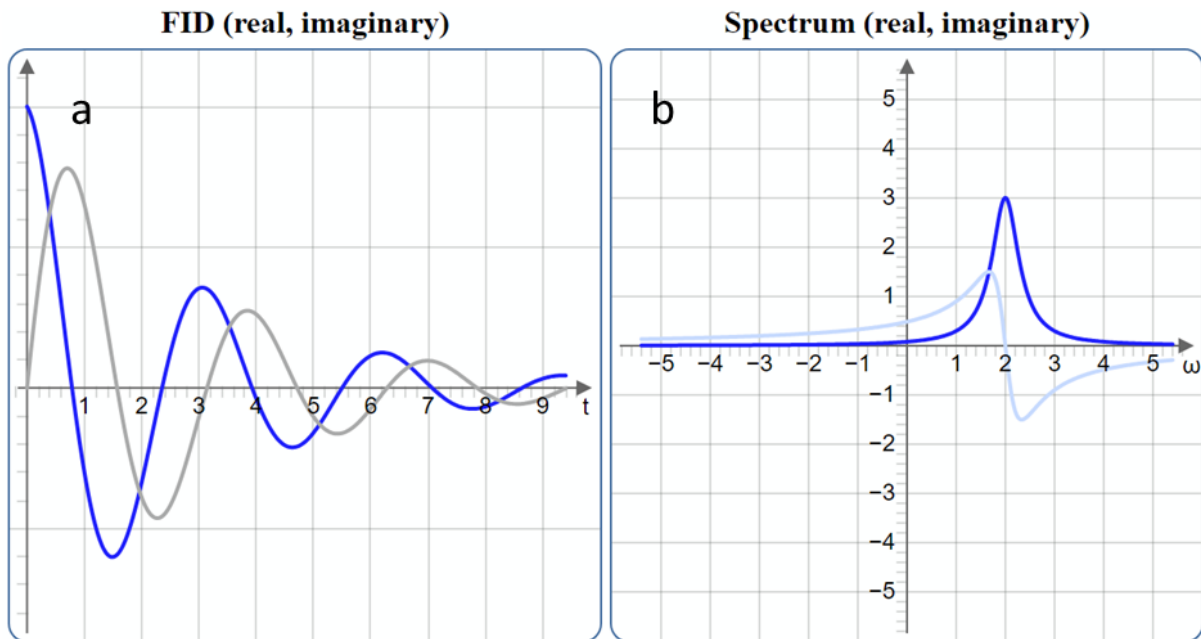
Dla próbki o objętości V_s w równowadze termodynamicznej siła elektromagnetyczna indukowana przez dany rozkład magnetyzacji składa się tylko z z-towej składowej magnetyzacji $\vec{M}_0 = M(x, y, z) = M(0, 0, \frac{N\gamma^2 \hbar^2 B_0}{4kT})$ i określa ją wzór:

$$S(t) = - \int_{V_s} \frac{\partial}{\partial t} (\vec{B}_1 \cdot \vec{M}_0) d\vec{r}, \quad (15)$$

Zmierzony sygnał FID w dziedzinie czasu w eksperymencie NMR jest sumą harmonicznym o amplitudach A_k , stałych zaniku $\alpha_k = 1/T_2$, częstotliwości ν_k oraz ich faz ϕ_k (Rysunek 3):

$$S(t) = \sum_{k=1}^K A_k \exp(-\alpha_k t) \exp[i(2\pi\nu_k t + \phi_k)], \quad (16)$$

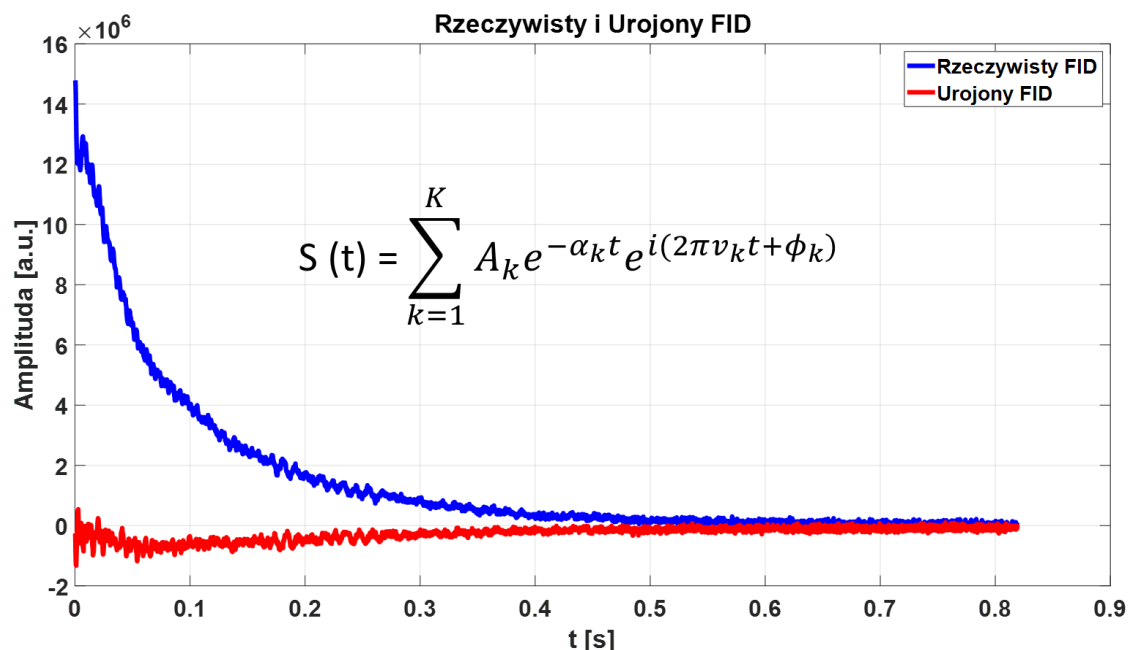
W przypadku pojedynczej częstotliwości rezonansowej o $\nu = 2$ [ppm] i amplitudzie $A = 1$ [a.u.] i $T_2 = 3$ [s] widmo składa się z pojedynczego sygnału szczytu (Rysunek 3).



Rysunek 3. Przykład dwóch sygnałów w dziedzinie czasu (a) i częstotliwości (b). Wykres (a) przedstawia sygnał w dziedzinie czasu (FID), gdzie linia niebieska reprezentuje składową rzeczywistą, a linia szara składową urojoną. Wykres (b) przedstawia widmo w dziedzinie częstotliwości, z którego wynika, że sygnał składa się z

jednego piksu położonego na częstotliwości 2, niebieska linia oznacza składową rzeczywistą widma, a jasnoniebieska składową urojoną. źródło: https://resources.drcmr.dk/www/Docs/fid_spec_1peak.html.

W przypadku sygnału uzyskanego z próbki zawierającej jądra o różnych częstotliwościach rezonansowych, uzyskujemy sygnał FID, taki jak zobrazowany poniżej:



Rysunek 4. Sygnał FID uzyskany podczas badania NMR w polu magnetycznym 3T z fantomu (PRESS, TE=25ms, TR = 2000ms, 4096 punktów, z woksela badanego $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$, 3T GE Discovery 750w). Oddzielno rzeczywiste (niebieski) i urojone (czerwony) składowe sygnału - wraz z umieszczeniem wzoru opisującego ogólny sygnał FID. Praca Własna.

Transformata Fouriera to operacja matematyczna, która przekształca sygnał $f(t)$ z dziedziny czasu do dziedziny częstotliwości. Wynikiem tej operacji jest widmo, które stanowi graficzną reprezentację intensywności składowych częstotliwości w obecnych w sygnale:

$$\mathcal{F}(v') = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \exp(-i2\pi v' t) dt, \quad (17)$$

Po przekształceniu sygnału FID z dziedziny czasu do dziedziny częstotliwości, otrzymujemy tzw. widmo spektroskopowe MRS w następującej postaci:

$$S(v') = \mathcal{F}\{S(t)\}, \quad (18)$$

gdzie:

$S(v')$ — sygnał w dziedzinie częstotliwości v' ,

$S(t)$ — sygnał w dziedzinie czasu t ,

$\mathcal{F}(v') = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \exp(-i2\pi v' t) dt$ — transformata Fouriera.

Zakładając, że sygnał ze wzoru (16) pojawia się wraz z początkiem akwizycji w chwili $t=0$, to:

$$S(v') = \int_0^{\infty} A_k \exp(i\phi_k) \exp\{[-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')]t\} dt = \quad (19)$$

$$S(v') = \left| \frac{A_k \exp(i\phi_k) \exp\{[-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')]t\}}{-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')} \right| = \frac{A_k \exp(i\phi_k)}{-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')} , \quad (20)$$

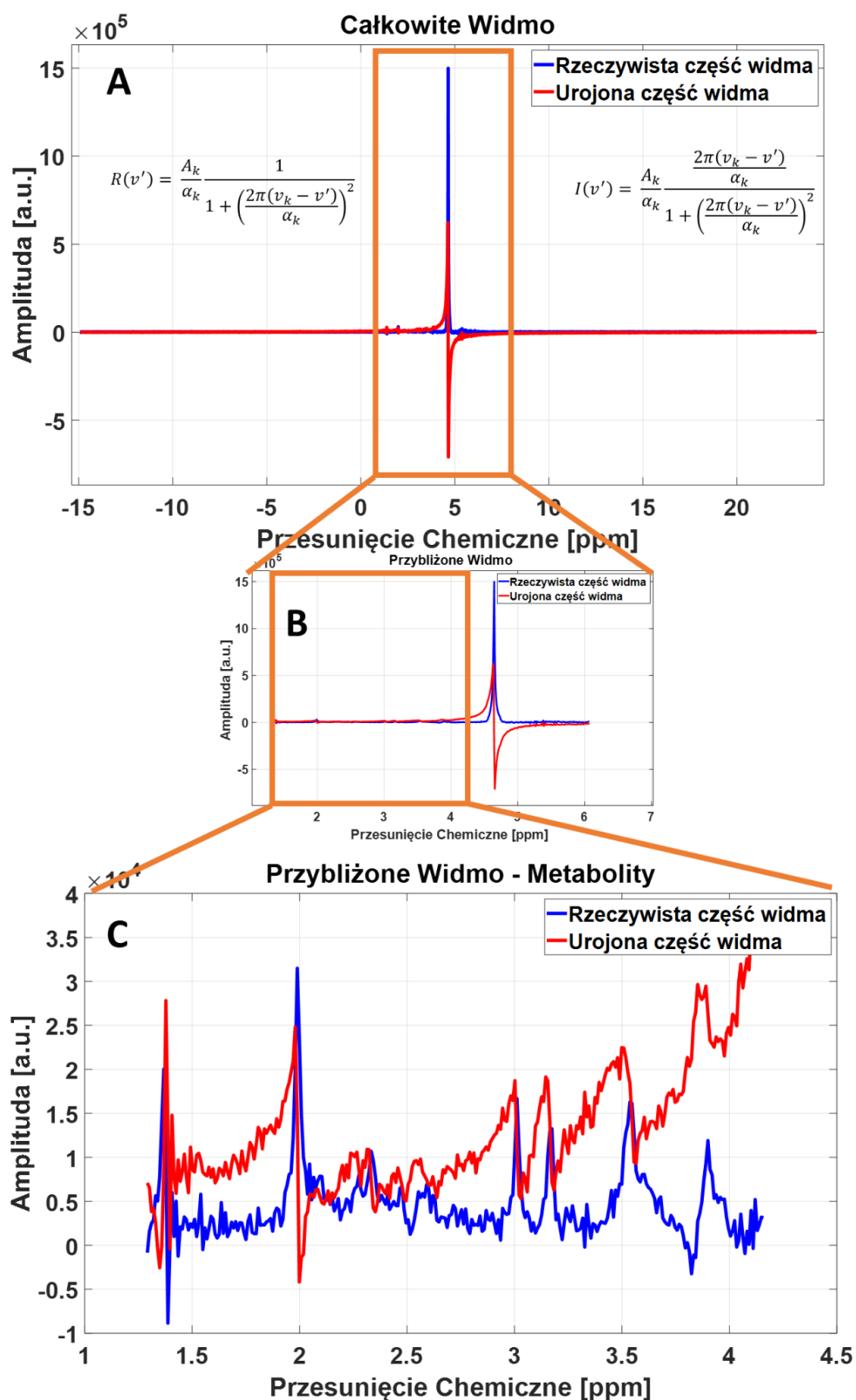
$$S(v') = \exp(i\phi_k) [R(v') + I(v')] , \quad (21)$$

$$R(v') = \frac{A_k}{\alpha_k} \frac{1}{1 + \left(\frac{2\pi(v_k - v')}{\alpha_k}\right)^2} , \quad (22)$$

$$I(v') = \frac{A_k}{\alpha_k} \frac{\frac{2\pi(v_k - v')}{\alpha_k}}{1 + \left(\frac{2\pi(v_k - v')}{\alpha_k}\right)^2} , \quad (23)$$

$R(v')$ i $I(v')$ to odpowiednio rzeczywista i urojona część zespolonej linii Lorentza. W konsekwencji $\exp(i\phi_k)$ jest współczynnikiem fazy, który modyfikuje kombinację części rzeczywistych i urojonych w pojawiającym się widmie. W praktyce, aby uzyskać kanoniczny kształt linii Lorentza w widmie rzeczywistym, stosuje się korektę zwaną fazowaniem zerowego rzędu z empirycznie wyprowadzonym $\exp(-i\phi_k)$.

Widmo uzyskane dzięki transformacji Fouriera przedstawia charakterystyczne piki rezonansowe, z których każdy odpowiada określonemu typowi jąder atomowych obecnych w próbce. Położenie pików na osi częstotliwości bezpośrednio odzwierciedla skład chemiczny tkanek lub substancji, ponieważ różne związki chemiczne charakteryzują się specyficznymi częstotliwościami rezonansowymi. Amplituda poszczególnych pików jest proporcjonalna do liczby jąder generujących dany rezonans, co umożliwia ilościową analizę składu próbki. Przechodząc z dziedziny czasu do dziedziny częstotliwości, badacze mogą identyfikować konkretne związki chemiczne, analizować ich stężenia oraz uzyskiwać informacje o strukturze i otoczeniu atomów w badanej próbce (Rysunek 5).



Rysunek 5. (A) Całkowite widmo po przekształceniu sygnału FID transformatą Fouriera, z przedstawieniem części rzeczywistej (niebieska linia) i urojonej (czerwona linia) widma. Wskazano obszar (pomarańczowe zaznaczenie), którego przybliżenie przedstawiono w panelu poniżej. (B) Przybliżenie widma z wyraźnym pikiem wody oraz widocznymi pikami metabolitów. Obszar zaznaczony pomarańczowym kolorem wskazuje region przybliżony w panelu (C). (C) Przybliżenie widma uwidaczniające metabolity: NAA (2.0 ppm), Cre (3.0 ppm) i Cho (3.2 ppm). Widmo uzyskano z fantomu badanego w skanerze 3T (PRESS, TE = 25 ms, TR = 2000 ms, 4096 punktów, woksel $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$, 3T GE Discovery 750w). Praca własna.

2.3. Techniki MRS w badaniach 'in-vivo'

W poprzednich podrozdziałach opisano, że jądra atomowe o niezerowym momencie magnetycznym mogą absorbować i emitować energię z charakterystyczną częstotliwością, zwaną częstotliwością Larmora. Zjawisko to stanowi podstawę spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS) in vivo opisaną w tym rozdziale.

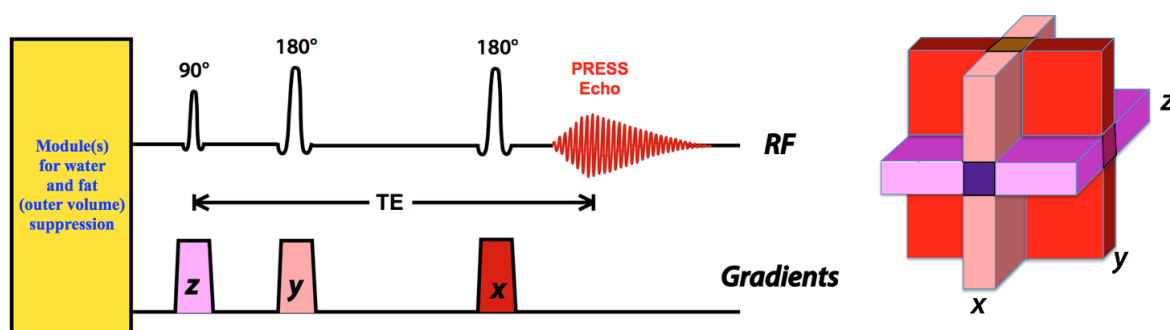
Podstawowy eksperyment MRS polega na wzbudzeniu jąder za pomocą impulsu radiowego (RF) oraz akwizycji generowanego sygnału. Po wzbudzeniu sygnał stopniowo zanika z powodu statycznych i dynamicznych niejednorodności pola magnetycznego. Wpływ statycznych niejednorodności można złagodzić, stosując impuls ponownego skupienia (ang. refocusing pulse), który poprzez odwrócenie stanu spinu pozwala na kompensację fazy lokalnie indukowanych przesunięć pola (mechanizm spin-echo). W ten sposób podstawowe eksperymenty z echem spinowym można zbudować za pomocą impulsów wzbudzających (90°) oraz impulsów ponownego skupienia (180°). Impulsy RF charakteryzują się specyficznym profilem częstotliwościowym, zależnym od ich kształtu i amplitudy. W połączeniu z liniowo zmieniającym się polem gradientowym, te właściwości pozwalają na przeniesienie selektywności częstotliwościowej do domeny przestrzennej, co umożliwia wzbudzenie warstwy o określonej grubości w jednym z trzech wymiarów (x, y, z).

Podstawowym elementem przestrzennym w spektroskopii rezonansu magnetycznego in vivo jest woksel (ang. voxel, czyli volumetric pixel) – najmniejsza jednostka objętości, z której rejestrowany jest sygnał MRS. Lokalizacja wokselu w objętości jest realizowana poprzez selektywne wzbudzanie sygnału w trzech wzajemnie prostopadłych płaszczyznach, co pozwala na precyzyjne określenie jego położenia w przestrzeni (Rys. 6).

Spektroskopia rezonansu magnetycznego in vivo może być przeprowadzana w dwóch głównych trybach, Spektroskopii pojedynczego wokselu (SVS) i spektroskopii wielowokselowej (CSI). Techniki spektroskopii pojedynczego wokselu (SVS, ang. Single-Voxel Spectroscopy) są najprostsze zarówno pod względem akwizycji, jak i interpretacji, dlatego należą do najczęściej stosowanych metod. Zapewniają wysoki stosunek sygnału do szumu (SNR) w stosunkowo krótkim czasie skanowania. Dzięki niewielki i dobrze zdefiniowany obszar pomiaru możliwe jest uzyskanie doskonałego *shimmingu* (homogenizacji pola magnetycznego, więcej w rozdziale 2.5.), co skutkuje wysokiej jakości widmami, odpowiednimi do analiz ilościowych. Z kolei techniki spektroskopii wielowokselowej – obrazowania przesunięcia chemicznego (CSI, ang. Chemical Shift Imaging) lub obrazowania spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRSI, ang. Magnetic Resonance Spectroscopy Imaging) oferują dwie kluczowe przewagi nad SVS: większy całkowity obszar pokrycia, ponieważ rozmiar całej płaszczyzny (lub objętości)

wielowokselowej jest większy, oraz wyższą rozdzielczość przestrzenną, dzięki zastosowaniu mniejszych wokseli. Rozszerzony obszar pokrycia ma istotne znaczenie przy analizie dużych, niejednorodnych zmian patologicznych, takich jak guzy mózgu, gdzie technika SVS dostarcza danych jedynie z niewielkiej części zmiany. Małe woksele w badaniach wielowokselowych (CSI) są również kluczowe przy obrazowaniu niewielkich narządów, takich jak prostata, gdzie metoda SVS jest mało praktyczna. Mniejsze woksele są korzystne także podczas analizy małych lub nieregularnie ukształtowanych struktur anatomicznych w większych narządach, np. w mózgu. Zmniejszają one wpływ efektów objętości częściowej (*partial volume effects*) poprzez wykluczenie niepożądanych struktur, takich jak inne jądra, płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF) czy tkanka tłuszczowa skóry głowy, z obszaru analizy widmowej. Pomimo licznych zalet, technika CSI ma również swoje ograniczenia. Przede wszystkim wymaga dłuższego czasu przygotowania i skanowania w porównaniu do SVS, a ponadto uzyskanie jednorodnego *shimmingu* w całym obszarze pomiaru bywa trudniejsze. Dodatkowo pojedyncze woksele w CSI charakteryzują się niższym stosunkiem sygnału do szumu (SNR) oraz gorszą jakością widma. Problemem może być także kontaminacja widmowa, wynikająca z nakładania się sygnałów z przylegających wokseli, co utrudnia interpretację wyników.

Jedną z najczęściej stosowanych metod akwizycji danych spektroskopowych w przy użyciu spektroskopii pojedynczego wokselu jest sekwencja PRESS (ang. Point RESolved Spectroscopy). Sekwencja PRESS wykorzystuje trzy selektywne impulsy RF ($90^\circ, 180^\circ, 180^\circ$), aplikowane równocześnie z gradientami w trzech wzajemnie prostopadłych kierunkach (x, y, z). W chwili czasu echa (TE) sygnał PRESS stanowi echo spinowe, pochodzące wyłącznie od protonów, które zostały poddane działaniu wszystkich trzech impulsów RF. Protony te są zlokalizowane w wokselu o kształcie prostopadłościanu, gdzie nakładają się trzy płaszczyzny obrazowania, co ilustruje rysunek 6.



Rysunek 6. Diagram sekwencji PRESS przedstawiający: 3 impulsy ($90^\circ, 180^\circ, 180^\circ$), po których następuje sygnał echa spinowego w górnej linii; TE – definicja czasu echa; 3 linie odzwierciedlające impulsy gradientu do kodowania przestrzennego i wynikającej z tego definicji przestrzeni prostopadłościanu wokselu. Przedruk z <https://mriquestions.com/press.html>, dzięki uprzejmości Allena D. Elstera, MRIquestions.com.

Technika wzbudzania pojedynczego woksela została wprowadzona przez Bottomleya w 1985 roku [18] i wkrótce stała się dostępna na wszystkich popularnych skanerach rezonansu magnetycznego z dziedzin przedklinicznych i klinicznych. Schemat przedstawiony na rysunku 6 przedstawia sekwencję 3 impulsów (sekwencja PRESS), która generuje dwukrotnie przeogniskowane echo. Wszystkie trzy impulsy, w połączeniu z liniowymi gradientami, umożliwiają ograniczenia interesującej objętości do prostopadłościanu woksela (przecięcie osi x, y i z). Właściwości częstotliwościowe sygnału są tutaj wykorzystywane zarówno do kodowania przestrzennego, jak i spektralnego. W sekwencji PRESS każdy impuls wzbudzający jest poprzedzony modulem tłumiący sygnał wody, poprawiający widoczność metabolitów w widmie, opisany w rozdziale 2.4. W praktyce klinicznej istnieje ogólny konsensus [19] dotyczący parametrów sekwencji ustawianych w skanerze, które są następujące:

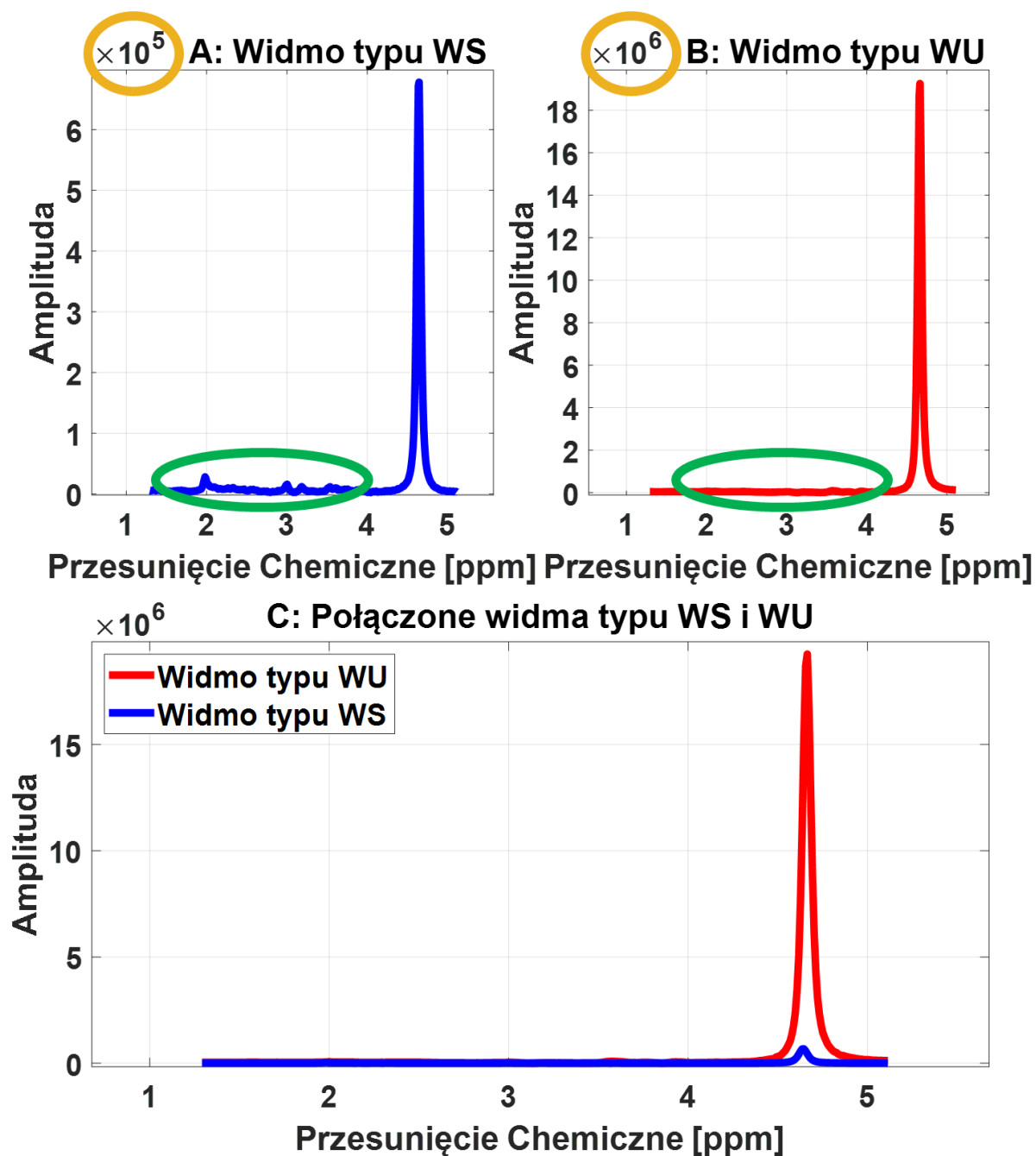
- Czas echa (TE): możliwie najkrótszy (zazwyczaj 30ms).
- Czas repetycji (TR): 1,5s w skanerach 1,5T i 2,0s w skanerach 3T.
- Liczbę punktów zaleca się trzymać na poziomie minimum 1024 zespolonych punktów zebranych przy szerokości spektralnej widma 2 kHz.
- Liczba uśrednień i wielkość woksela:
 - 128 uśrednień zebranych z woksela 15x15x15 mm³ w skanerach 3T.
 - 64 uśrednień zebranych z woksela 20x20x20 mm³ w skanerach 3T.
 - 256 uśrednień zebranych z woksela 15x15x15 mm³ w skanerach 1,5T.
 - 128 uśrednień zebranych z woksela 20x20x20 mm³ w skanerach 1,5T.

2.4. Tłumienie sygnału wody

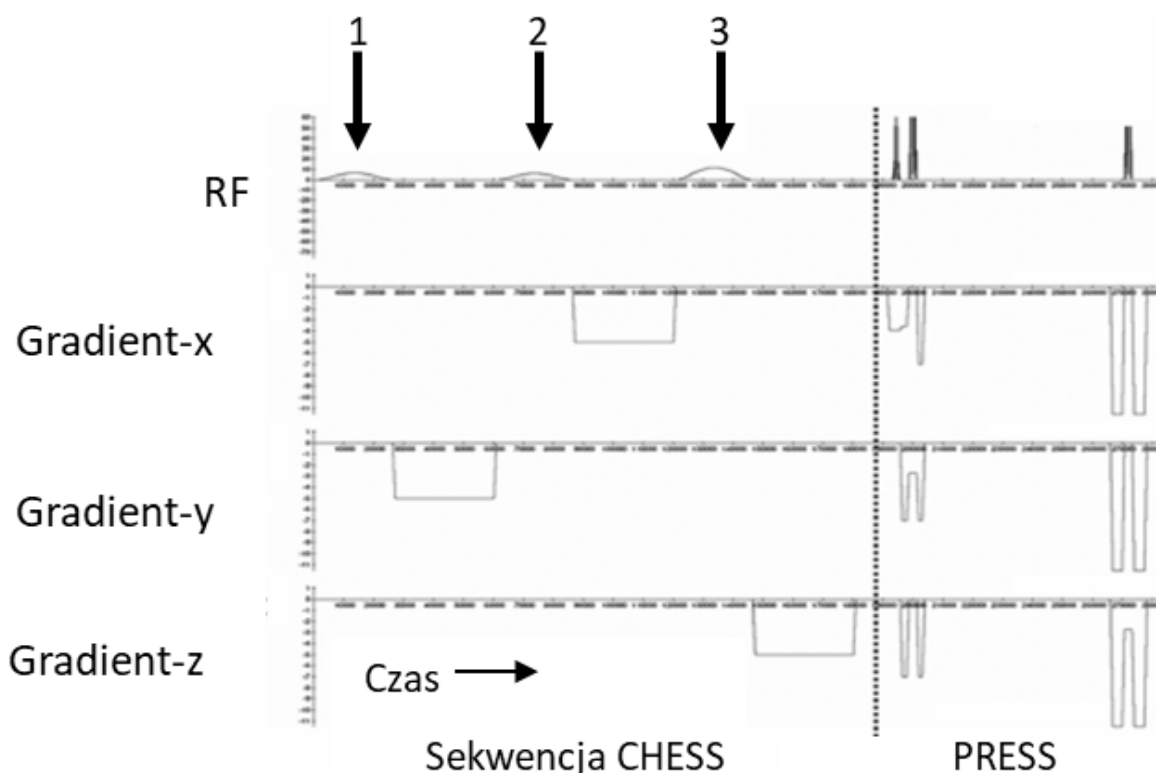
Stężenia metabolitów w mózgu są rzędu 10 milimoli lub mniej, podczas gdy stężenie protonów wody w korze mózgowej sięga około 80 moli. Różnica ta, sięgająca trzech rzędów wielkości, stanowi istotne wyzwanie analityczne. Dominujący sygnał pochodzący od protonów wody skutecznie maskuje sygnały metabolitów, co utrudnia ich detekcję i precyzyjną analizę. Techniki tłumienia sygnału wody są zatem kluczowe w spektroskopii rezonansu magnetycznego, ponieważ umożliwiają wiarygodną obserwację znacznie słabszych sygnałów metabolitów (Rysunek 7). Aby móc zwizualizować i skwantyfikować interesujące nas metabolity, konieczne jest tłumienie pików wody. Najczęściej stosowaną techniką tłumienia sygnału wody jest sekwencja CHESS [20] (CHEmical Shift Selective Saturation) lub jej warianty.

Sekwencja ta składa się z trzech selektywnych impulsów RF przeplatanych z impulsami gradientowymi, zaprojektowanych w celu znacznego zredukowania sygnału

protonów z wody, przy jednoczesnym minimalnym lub zerowym wpływie na magnetyzację metabolitów. Impulsy RF są zestrojone z częstotliwością sygnału wody przy 4,7 ppm, a w połączeniu z rozfazującymi impulsami gradientowymi mają ograniczony zakres częstotliwości działania, dzięki czemu sygnały metabolitów nie są zakłócane. Rysunek 8 przedstawia typową sekwencję CHESS poprzedzającą sekwencję akwizycji danych PRESS opisaną w rozdziale 2.3. Efektywna szerokość pasmowa modułu CHESS (czyli zakres częstotliwości, w którym moduł zapewnia tłumienie sygnału) jest zazwyczaj ustawiona na 150 Hz, co odpowiada około 1,2 ppm przy polu magnetycznym 3T. W związku z tym działanie modułu CHESS, który jest zestrojony z pikiem wody, nie wpływa na żadne piki poniżej 4,1 i powyżej 5,3 ppm. W efekcie sekwencja akwizycji danych, następująca po impulsach tłumiących, rejestruje sygnały pochodzące od metabolitów, podczas gdy momenty magnetyczne protonów w wodzie generują znacznie mniej sygnału. Alternatywne sekwencje tłumienia sygnału wody obejmują sekwencje wykorzystujące większe ilości impulsów takie jak WET (ang. Water suppression Enhanced through T1 effects) i VAPOR (ang. VArIable Power radiofrequency pulses with Optimized Relaxation delays). Używając odpowiednio zmodyfikowanych 3-4 (WET) i 8 (VAPOR) impulsów sekwencje te choć oferują lepsze tłumienie sygnału wody w porównaniu ze standardowym modułem CHESS, wiąże się to z wydłużeniem czasu trwania sekwencji [21-23].



Rysunek 7. (A) Widmo typu WS z częściowo tłumionym sygnałem wody: w czerwonym zaznaczeniu rząd wielkości amplitudy sygnału, w zielonym zaznaczeniu widoczne piki metabolitów. (B) Widmo typu WU z nietłumionym sygnałem wody: w czerwonym zaznaczeniu rząd wielkości amplitudy sygnału, w zielonym zaznaczeniu brak widocznych metabolitów. (C) Porównanie amplitud widm typu WS i WU. Praca własna.



Rysunek 8. Diagram sekwencji impulsów dla modułu CHESS do supresji sygnału wody. Moduł CHESS składa się z trzech impulsów RF, po których następują rozfazowujące impulsy gradientowe o dużej amplitudzie i czasie trwania. Efektem tych impulsów jest wzbudzenie oscylacyjnego ruchu i dekoherencja magnetyzacji poprzecznej sygnału wody w wąskim zakresie częstotliwości (wokół pików wody), przy minimalnym wpływie na sygnały poza tym zakresem częstotliwości. W każdym okresie TR moduł CHESS poprzedza akwizycję danych, w tym przypadku z wykorzystaniem sekwencji PRESS. Supresja sygnału wody za pomocą modułu CHESS powoduje, że sygnał pochodzący z wody pojawia się w widmie w minimalnym stopniu. Praca własna.

2.5. Shimming

Aby uzyskać dokładne i niezawodne informacje za pomocą spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS), konieczne jest jednorodne pole magnetyczne, które zapewnia wyraźnie zdefiniowane piki oraz jednolite tłumienie sygnału wody [24]. Niestety, istnieje wiele czynników mogących zakłócić jednorodność pola magnetycznego, w tym pole magnetyczne otoczenia. Żelazne struktury w pomieszczeniu badawczym, a nawet komponenty żelazne w ścianach lub podłodze, mogą ulec namagnesowaniu, co zakłóca pole skanera. Dodatkowo, inne pola magnetyczne mogą pochodzić od słabo namagnesowanych czujników lub od samego pacjenta w wyniku silnego pola magnetycznego [25,26].

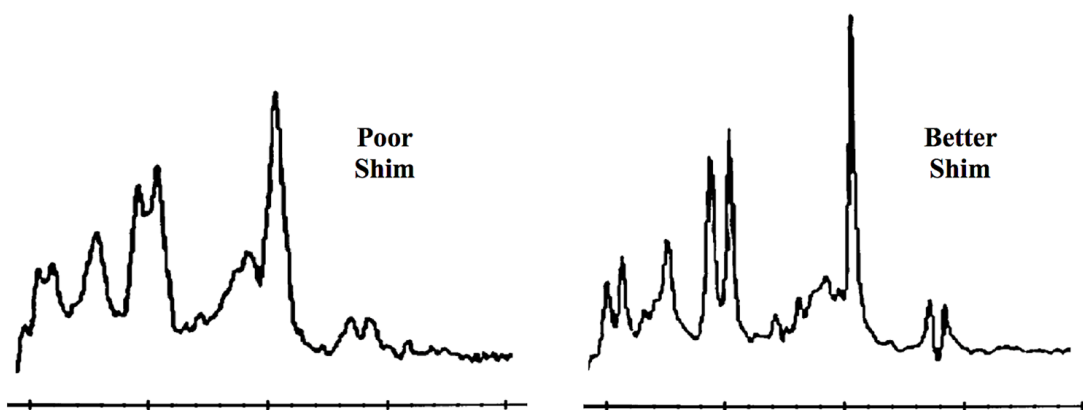
Wszystkie te czynniki zakłócające prowadzą do niejednorodnego pola magnetycznego, co skutkuje szerokimi pikami, które trudno odseparować od siebie. Niska rozdzielczość pików utrudnia ich ilościową analizę, czyniąc ją niewiarygodną [27]. Zalety MRS wynikają z precyzyjnej ilościowej analizy metabolitów, takich jak cholina (Cho),

kreatyna (Cr), N-acetylo-L-asparaginian (NAA), mioinozytol (M-ins), mleczan (Lac), kwas glutaminowy (Glu) i inne metabolity. Niemożność przeprowadzenia dokładnej analizy sprawia, że metoda traci na wydajności.

W związku z tym istnieją pewne procesy mające na celu skorygowanie tych niejednorodności, znane jako shimy. W zależności od źródła pozostałej niejednorodności pola magnetycznego może to obejmować shimowanie magnesu, sondy lub próbki [28].

Proces shimowania polega na poprawie rozdzielczości sygnału poprzez korygowanie jednorodności pola magnetycznego w obszarze woksela. Można to osiągnąć poprzez otoczenie próbki cewkami shimującymi. Każda z tych cewek generuje niewielkie pole magnetyczne o profilu przestrzennym, które może kompensować niejednorodności głównego pola magnetycznego. Poprzez regulację prądu przepływającego przez każdą z cewek można osiągnąć pożądaną jednorodność pola. Shimy klasyfikuje się na podstawie profili pola, jakie generują. Na przykład shimy oznaczone jako **x**, **y** i **z** mogą wytwarzać zmienne pola magnetyczne w odpowiednich kierunkach. Shimowanie może być przeprowadzane automatycznie lub ręcznie [29-33].

Pełna szerokość połówkowa (FWHM) to szerokość widmowa w połowie amplitudy sygnału. Jest to jednym z głównych wskaźników jakości shimowania, ponieważ przy złym shimowaniu piki będą szerokie, co powoduje większe FWHM (Rysunek 9). W urządzeniach MRS pracujących z polami magnetycznymi 1,5 i 3 T, pożądana wartość FWHM wynosi odpowiednio mniej niż 15 i 30 Hz [34].



Rysunek 9 Przykład złego shimowania (lewy obraz) z widocznymi szerokimi pikami i niewyraźnymi pikami znajdującymi się koło siebie w porównaniu z przykładem dobrego shimingu (prawy obraz) gdzie obserwujemy wąskie piki z uwidocznionymi pikami, które znajdują się blisko siebie. Ilustracja dzięki uprzejmości Allena D. Elstera, MRIquestions.com.

2.6. Archiwizacja danych w systemie MR

Skanery MRI firmy GE (General Electric) archiwizują nieprzetworzone sygnały FID pochodzące z sekwencji PRESS w tymczasowych plikach pozwalających na późniejszą analizę i przetwarzanie danych. Pliki tego typu w środowisku skanera GE Discovery 750w noszą nazwę Pfiles (ang. od Parameter Files), zawierają w sobie dane i parametry charakteryzujące dany skan MRS. Wśród danych, które są zapisywane w pliku Pfile są:

- Parametry Akwizycji, które obejmują:
 - szerokość pasma,
 - czas akwizycji,
 - czas repetycji i echa,
 - liczbę zespolonych punktów danych,
 - liczbę uśrednień,
 - wartości częstotliwości rezonansowej danej dla obserwowanych przez nas jąder (np. wodoru ^1H).
- Dane sygnału FID uzyskane podczas badania. Wśród nich zawarte są dwa rodzaje danych:
 - **Dane z widma kalibracyjnego typu WU**, zawierające nietłumiony i niezmienny sygnał wody. Skan ten wykonywany jest na początku całej sekwencji i stanowi jedynie krótki jej wycinek. Zwykle wykorzystywany jest wyłącznie do obróbki danych, jednak w badaniach przeprowadzonych na potrzeby tej pracy doktorskiej stanowi on istotny element pomiaru temperatury.
 - **Dane z widma diagnostycznego typu WS**, zawierające informacje o metabolitach wraz z częściowo tłumionym pikiem wody. Skan ten stanowi większość czasu trwania sekwencji, ponieważ dane metabolitów są kluczowe w analizie spektroskopii MRS. W badaniach przeprowadzonych na potrzeby tej pracy doktorskiej istotne było wykorzystanie widm typu WS oraz widocznych w nich metabolitów do późniejszych pomiarów temperatury.
- Informacje na temat lokalizacji i rozmiaru woksela w obrębie obszaru badanego w milimetrach.

2.7. Jakość i przetwarzanie widma MRS

Proces analizy widm MRS jest dość złożony, a na ich jakość oraz widoczność metabolitów w widmach może wpłynąć wiele czynników technicznych. Skanowanie MRS wymaga rygorystycznego spełnienia norm dotyczących jednorodności pola magnetycznego oraz tłumienia sygnałów wody. Shimming i tłumienie sygnału wody to kluczowe techniki, które umożliwiają osiągnięcie wysokiej jakości widm MRS [35]. Zgodnie z doświadczeniami klinicznymi i wynikami wcześniejszych badań, główne czynniki wpływające na jakość widm MRS obejmują: szerokość sygnału wody, szerokość na połowie maksimum szczytu (FWHM), tłumienie sygnału wody, stosunek sygnału do szumu (SNR), linię bazową widma, kształt linii widma oraz wszelkiego rodzaju artefakty[36-42].

Wstępna obróbka danych MRS, zwane czasem po prostu "przetwarzaniem", obejmuje wszystkie operacje, które są stosowane na surowych danych MRS (zjawiska swobodnego indukowania, FID), aby przygotować je do analizy. Istnieją trzy główne powody przetwarzania w MRS. Po pierwsze, dane MRS są narażone na niedoskonałości eksperymentalne takie jak prądy wirowe, dryf skanera czy ruch obiektu, a ponieważ modele dopasowania spektralnego zazwyczaj nie uwzględniają wszystkich tych niedoskonałości, konieczne jest przeprowadzenie pewnych operacji przetwarzania, aby usunąć te niedoskonałości w miarę możliwości jak najszybciej. Po drugie, dane surowe są zazwyczaj wielowymiarowe, zawierające wiele średnich sygnałów pozyskiwanych przez poszczególne kanały cewki w układzie odbiorczym. W związku z tym konieczne jest pewne przetwarzanie, aby połączyć te sygnały i zmniejszyć dane do (zwykle) jednowymiarowego widma, które może być analizowane. Inne operacje przetwarzania, takie jak transformacja Fouriera, fazowanie, apodyzacja czy rozszerzanie szerokości widma (ang. zero-padding), nie wpływają bezpośrednio na jakość danych, ale mogą być używane do wspomagania interpretacji wizualnej lub wydajności dopasowywania sygnałów pików.

Wśród oprogramowania do przetwarzania i analizy danych spektroskopowych można wyróżnić kilka aplikacji:

- **jMRUI** [43] to aplikacja z przyjaznym dla użytkownika interfejsem graficznym, umożliwiającą zaawansowaną analizę danych ze spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS) w dziedzinie czasu. Oprogramowanie integruje algorytmy do selektywnego filtrowania sygnałów pod kątem częstotliwości (np. usuwania pozostałości sygnałów wody), korekcji artefaktów prądów wirowych, wzmacniania stosunku sygnału do szumu Cadzowa [44], liniowej predykcji, dopasowywania nieliniowego (oznaczania ilościowego metabolitów) i wielu innych, wszystkie wykonywane są w dziedzinie czasu. Dodatkowo jMRUI ma konstrukcję modułową, która ułatwia tworzenie wtyczek w celu dalszego rozszerzenia podstawowych

możliwości oprogramowania, na przykład do interakcji z serwerami PACS, do klasyfikacji widm, do symulacji zestawów podstawowych metabolitów itp.

- **TARQUIN** [45,46] (skrót od ang. *Totally Automatic Robust Quantitation in NMR*) to zaawansowane narzędzie analityczne służące do automatycznego określania stężeń cząsteczek obecnych w danych spektroskopowych MRS, opracowane z myślą o wspomaganiu charakteryzacji patologii, zwłaszcza guzów mózgu. Może być wykorzystywane zarówno w sposób nieinwazyjny za pomocą ^1H -MRS in vivo, jak i ex vivo przy użyciu protonowych spektrometrów masowych. Do jego kluczowych cech należą bezpłatne użytkowanie oraz możliwość modyfikacji dzięki licencji GNU General Public License (GPL), a także elastyczna procedura dopasowywania w dziedzinie czasu, która zapewnia dokładną, szybką i zautomatyzowaną ocenę ilościową, co czyni go idealnym narzędziem do rutynowych analiz. Ponadto TARQUIN jest dostępny na różnych platformach, takich jak Windows, Linux i OSX, oraz oferuje wszechstronny interfejs użytkownika, który umożliwia korzystanie zarówno z graficznego interfejsu, jak i interfejsu wiersza poleceń, co pozwala na przeprowadzanie analiz jednorazowych i seryjnych. Dzięki tym właściwościom narzędzie to znajduje szerokie zastosowanie w badaniach naukowych i praktyce klinicznej, wspierając analizę spektroskopii magnetycznego rezonansu protonowego.
- **LCModel** [47,48] to pakiet oprogramowania przeznaczony do automatycznego oznaczania ilościowego widm protonowych MR in vivo. Metoda, z której korzysta LCModel analizuje widma in vivo jako liniową kombinację widm modeli in vitro uzyskanych z indywidualnych roztworów metabolitów. Wykorzystuje pełne widma modelu, a nie indywidualne rezonanse, aby uwzględnić w analizie maksymalną ilość wcześniejszych informacji. LCModel jest w pełni automatyczny i nie wymaga wkładu użytkownika. Wynikiem analizy są szacunkowe wartości stężeń metabolitów obliczone metodą największej wiarygodności wraz z ich niepewnościami, wyrażonymi w postaci dolnych granicy błędu Craméra-Rao.
- **FID-A** [49] to narzędzie open source oparte na oprogramowaniu MATLAB, przeznaczone do analizy danych MRS. Przetwarza ono wielowymiarowe dane MRS, obsługuje formaty różnych producentów (np. GE, Siemens, Philips) i oferuje opcje eksportu do popularnych programów do przetwarzania (m.in. LCModel, jMRUI, Traquin). Istotne cechy obejmują automatyczną rejestrację widm, wykrywanie artefaktów ruchu oraz wszechstronny proces analizy danych MRS. Dzięki FID-A poprawia się jakość widm i precyzja analizy MRS.

2.8. Zastosowania kliniczne spektroskopii rezonansu magnetycznego

Spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS) to nieinwazyjna technika umożliwiająca pomiar wybranych związków biologicznych *in vivo*. Jej historia sięga 1946 roku, kiedy Bloch [50] i Purcell [51] niezależnie odkryli sygnał jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) w materii. Jednak dopiero w latach 70. XX wieku [52] przeprowadzono pierwsze badania na żywych modelach, wykorzystując jądro fosforu-31 (^{31}P).

Spektroskopia ^{31}P była stosunkowo łatwa w zastosowaniu, ponieważ jądro fosforu charakteryzuje się spinem $1/2$, wysokim współczynnikiem żyromagnetycznym (γ), szerokim zakresem przesunięcia chemicznego (~ 40 ppm), a co więcej nie wymaga supresji wody do prowadzenia pomiarów. W miarę rozwoju technologii odkryto, że spektroskopia protonowa (^1H MRS) oferuje znacznie lepszą czułość w porównaniu do innych jąder. Proton wodoru ma najwyższy współczynnik żyromagnetyczny (γ) wśród jąder nieradioaktywnych i występuje powszechnie w naturze, czyniąc go idealnym do zastosowania w spektroskopii.

Czułość jąder wodoru jest dodatkowo zwiększona ze względu na korzystne czasy relaksacji metabolitów oraz obecność licznych protonów w ważnych metabolitach poprzez ich rezonanse wynikające z grup funkcyjnych, takich jak grupy metylowe (CH_3). Aby ^1H MRS mogła być skuteczna *in vivo*, opracowano techniki supresji wody i lipidów, które eliminują ich znacznie silniejsze sygnały, przy jednoczesnym zachowywaniu sygnałów metabolitów w zakresie milimolowym. Ponadto konieczne było również zapewnienie odpowiedniej jednorodności pola magnetycznego oraz wystarczającego natężenia, by uzyskać rozdzielczość umożliwiającą wykrycie stosunkowo niskich różnic w przesunięciach chemicznych protonów (~ 10 ppm).

W 1983 roku Behar i in. [53] opisali pierwsze badania *in vivo* MRS mózgu u szczurów przy częstotliwości 360 MHz ($\sim 8,5$ T), z użyciem u cewki powierzchniowej RF i ciągłego impulsu wstępnego nasycenia, w celu supresji sygnału wody. Zidentyfikowane rezonanse obejmowały m.in. fosfocholinę (PCho), fosfokreatynę (PCr), kreatynę (Cr), asparaginian (Asp), glutaminian (Glu), N-acetyloasparaginian (NAA), kwas γ -aminomasłowy (GABA), alaninę (Ala) oraz mleczan (Lac).

Rok później, w 1984 r. ta sama grupa badawcza [54] udowodniła, że możliwe jest uzyskanie widm protonowych w klinicznie istotnym natężeniu pola 1,9 T, choć ich rozdzielczość była nieco niższa. Sekwencja impulsów spin-echo pozwoliła na skuteczniejsze tłumienie sygnałów wody, eliminację sygnałów lipidów oraz szerokopasmowych składników wyjściowych, które charakteryzują się krótszymi czasami relaksacji poprzecznej (T_2) w porównaniu do metabolitów.

W 1985 roku Bottomley i in. [55] zaprezentowali pierwsze przestrzennie zlokalizowane widmo ludzkiego mózgu, uzyskane za pomocą techniki selektywnego wzbudzania spin-echo oraz supresji sygnału wody w skanerze 1,5 T. W widmach zaobserwowano sygnały z NAA, Asp, Cre, związków cholinowych (Cho), lipidów oraz resztkowej wody, używając czasu echa 80 ms. Chociaż technika ta wykazała, że możliwe jest wykonanie ^1H MRS ludzkiego mózgu in vivo, przestrzenna lokalizacja i rozdzielczość widmowa były wówczas stosunkowo ograniczone. Podobną metodą zastosował Luyten, wykorzystując schemat lokalizacji impulsów wgłębnych spin-echo oraz cewki powierzchniowej jako odbiornika sygnału [56, 57]. Hanstock i in. wykazali, że w skanerze 2,1 T można uzyskać dobrze rozdzielone sygnały dla Cho, Cre i NAA, a także połączony sygnał dla GABA, Glu i glutaminy (Gln), które można było zarejestrować z objętości 14 ml w czasie skanowania 4 min [57]. Lokalizacja przestrzenna pozwala na rejestrację sygnałów z dobrze zdefiniowanych struktur lub zmian w mózgu, a poprawę jednorodności pola można uzyskać poprzez uzyskanie sygnałów z mniejszych wokseli [58]. W latach 80. opracowano szeroki zakres technik lokalizacji przestrzennej dla spektroskopii in vivo [59], jednak wiele z nich było albo trudnych do wdrożenia, dotyczyło zbyt wielu impulsów RF, albo było nieefektywnych (tj. powodowało zbyt dużą utratę sygnału lub nie tłumilo w pełni namagnesowania poza wokselem).

Spośród wielu opracowanych sekwencji dwie okazały się wystarczająco proste i niezawodne, aby znaleźć szerokie zastosowanie: STEAM (ang. STimulated Echo Acquisition Mode) oraz PRESS (Point-RESolved Spectroscopy). Obie te techniki bazują na trzech selektywnych impulsach, stosowanych w ortogonalnych kierunkach, aby precyzyjnie lokalizować sygnały.

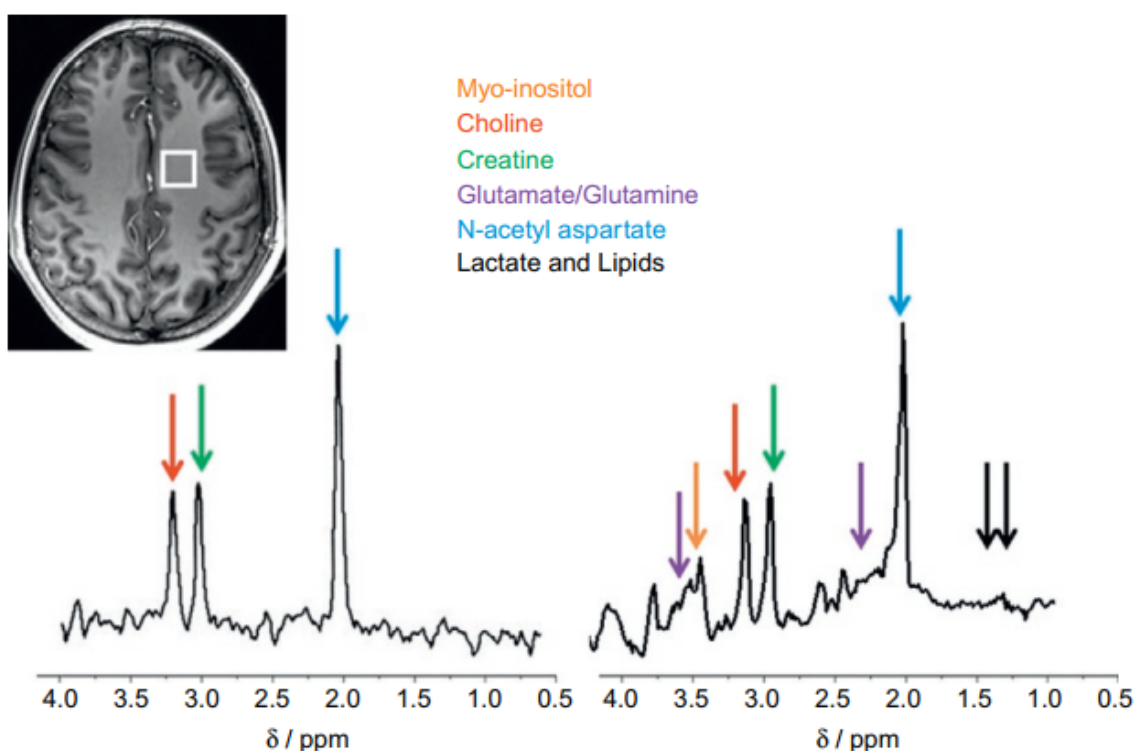
STEAM [60–63] wykorzystuje trzy impulsy o kącie 90 stopni i wykrywa stymulowane echo z objętości przecinanej przez wszystkie trzy impulsy, natomiast PRESS [64] używa jednego impulsu 90-stopniowego i dwóch impulsów 180-stopniowych (Rys. 8), aby wykrywać echo spinowe z wybranej objętości. W obu sekwencjach sygnały z obszarów poza pożądanym wokselem są eliminowane za pomocą gradientów kruszących [60]. W typowych badaniach wielkość woksela stosowana dla ^1H MRS mózgu wynosiła 8 cm³.

STEAM i PRESS są standardowymi technikami badania pojedynczych wokseli MRS od lat 90. XX wieku, a ich zastosowanie jest powszechne do dzisiaj. W ostatnich latach opracowano bardziej zaawansowane techniki, takie jak semi-LASER (implementacja adiabaticznego selektywnego skupienia dla lokalizacji), które zapewniają lepszą precyzję lokalizacji [65–67] i zaczynają być wdrażane w zastosowania kliniczne.

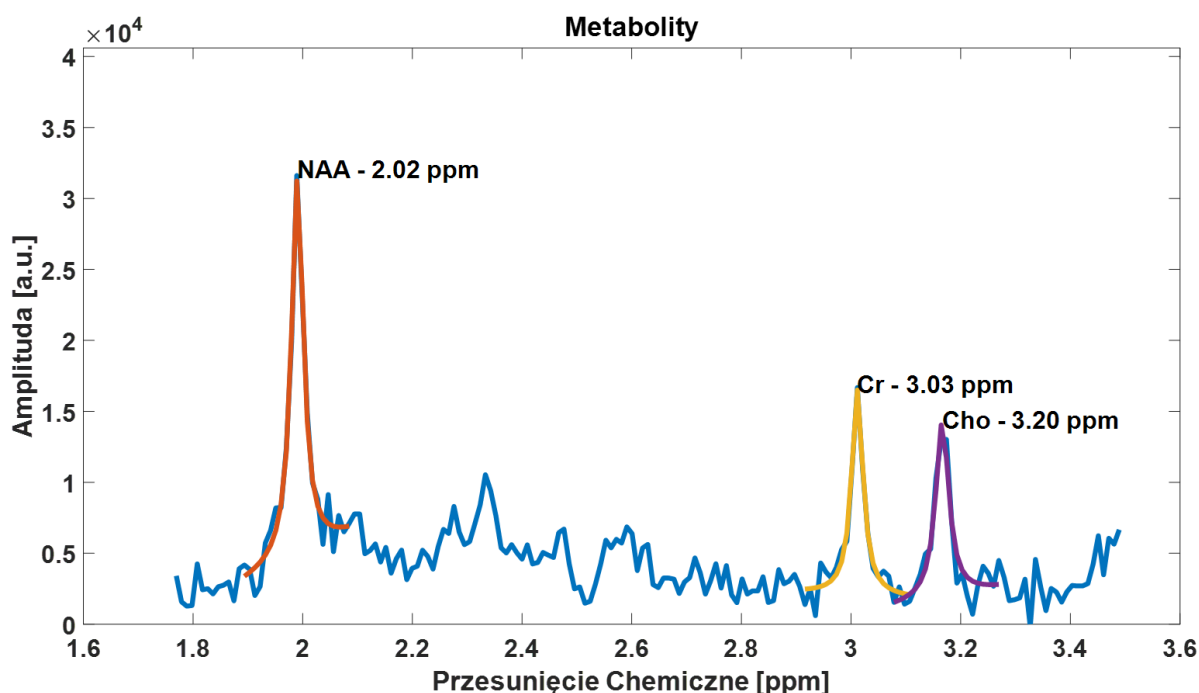
Dalszy rozwój spektroskopii MRS, szczególnie bardziej zaawansowanych technik lokalizacyjnych, otwiera nowe możliwości w diagnostyce klinicznej. Dzięki coraz większej precyzji i czułości, MRS pozwala na dokładniejsze monitorowanie zmian biochemicznych w

mózgu, co ma kluczowe znaczenie w leczeniu i badaniu chorób neurologicznych oraz metabolicznych.

^1H MRS oferuje możliwość nieinwazyjnego pomiaru stężenia kluczowych metabolitów w mózgu. W zdrowym mózgu widoczne są wyraźne piki dla związków takich jak N-acetyloasparaginian (NAA), kreatyna (Cr) i związki choliny (Cho) (Rys. 10 i Rys. 11). Ponadto spektroskopia z krótkim czasem echa (TE) ujawnia dodatkowe metabolity, takie jak mio-inozytol (ml), glutaminian (Glu) i glutamina (Gln), a także lipidy (Rys. 10). W fizjologicznych warunkach mózgu dorosłego człowieka, obecność mleczanu jest zwykle niezauważalna ze względu na jego bardzo niskie stężenie. Jednak w przypadku patologii, takich jak niedotlenienie, pojawiają się piki mleczanu w widmie, stanowiąc cenną wskazówkę diagnostyczną.



Rysunek 10. Widmo spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS) białej materii w zdrowym mózgu. (Lewa strona) Widma z średnim czasem echa (TE) 135-144 ms mają mniejsze zniekształcenie linii bazowej i są łatwiejsze w obróbce i analizie, ale wykazują mniej metabolitów niż widma z krótkim TE. (Prawa Strona) Krótkie TE pokazują piki większej ilości metabolitów, włączając lipidy i makromolekuły, glutaminę, glutaminian i mio-inozytol.



Rysunek 11. Obraz metabolitów występujących w mózgu in vivo wraz z ich położeniem na osi przesunięcia chemicznego. Na pomarańczowo N-acetyloasparaginian (NAA) z położeniem 2.02 ppm, na żółto Kreatyna (Cr) z położeniem na 3.03 ppm i na fioletowo Cholina (Cho) z położeniem na 3.20 ppm. Praca własna.

Trzy kluczowe metabolity, które odgrywają istotną rolę w diagnostyce i będą wykorzystywane w niniejszej rozprawie, to:

- N-acetyloasparaginian (NAA)** - Jest kluczowym związkiem występującym w widmie zdrowego mózgu dorosłego człowieka, z sygnałem przy 2,02 ppm (Rysunek 11 - oznaczenie kolorem pomarańczowym). NAA, aminokwas syntetyzowany w mitochondriach neuronów przez enzym transferezy N-acetylo-L-asparaginianowej [68], występuje głównie w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym [69,70], osiągając zwykle stężenie od 10 do 16 mmol/ kg [71-73]. Ma najwyższe stężenie spośród wszystkich rozpuszczalnych w wodzie cząsteczek w mózgu i cechuje go niezwykle intensywna aktywność metaboliczna, z pełnym obrotem w ciągu około 16 godzin [74]. Wysokie stężenie i szybka rotacja wskazują, że jest kluczowe dla prawidłowego metabolizmu mózgu. Chociaż funkcja NAA nie jest w pełni poznana, jednak wiadomo, że działa jako rezerwuar asparaginianu i prekursor neuroprzekaźnika N-acetyloaspartyloglutaminianu (NAAG), a także pełni szereg innych funkcji [70,75]. Dodatkowo wykazano, że NAA może pełnić funkcję cząsteczki przekaźnikowej między neuronami, astrocytami, oligodendrocytami, a prawdopodobnie również mikroglejem oraz, że uczestniczy w osmoregulacji jako regulator [70,74,76,77]. Baslow [76] zasugerował, że NAA jest kluczowym elementem mechanizmu pompy wodnej w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN).

Jego zdaniem, mechanizm ten jest istotny, ponieważ wysokie tempo metabolizmu glukozy w mózgu, powoduje produkcję dużej ilości wody. Bez aktywnego mechanizmu usuwania wody wbrew jej gradientowi, nadmiar wody mógłby zaburzyć funkcje komórek. Baslow zasugerował, że NAA poprzez syntezę i degradację, może wspomagać przepływ wody z przedziałów wewnątrzkomórkowych w OUN do krwioobiegu.

- **Kreatyna** - Rezonans metylowy kreatyny (Cre) pojawia się przy 3,03 ppm (Rysunek 11 oznaczenie kolorem żółtym) i tworzy złożony pik składający się zarówno z kreatyny jak i fosfokreatyny. Oba te związki uczestniczą w metabolizmie energetycznym za pośrednictwem reakcji katalizowanej przez kinazę kreatynową, generując ATP. W wielu widmach obserwuje się również drugi rezonans pochodzący od grupy CH₂ kreatyny, przy 3,91 ppm, pod warunkiem, że nie został on nasycony impulsami tłumiącymi wodę. Badania In vitro pokazują, że komórki glejowe zawierają dwu- do czterokrotnie wyższe stężenie kreatyny niż neurony [78]. Kreatyna wykazuje także znaczne zróżnicowanie regionalne. W istocie białej występuje na niższym poziomie niż w istocie szarej w zdrowym dorosłym mózgu, natomiast w mózdzku poziomy Cre są znacznie wyższe niż w obszarach nadnamiotowych [79]. Ponieważ kreatyna jest syntetyzowana w wątrobie i transportowana do mózgu, przewlekłe choroby wątroby mogą prowadzić do obniżenia jej stężenia w mózgu [80]. Istnieje również rzadka grupa schorzeń, charakteryzujących się całkowitym niedoborem kreatyny w mózgu. Niedobór może być wynikiem braku jej syntezy w wątrobie, co jest spowodowane niedoborem transferazy metylu guanidyno octanu (GAMT) albo może wynikać z upośledzonego transportu kreatyny do mózgu [81-83].
- **Cholina** - Sygnał choliny (Cho) pojawia się przy 3,20 ppm (Rysunek 11 - oznaczenie kolorem fioletowym) i tworzy złożony pik, wynikający z obecności grup trimetyloaminowych (-N(CH₃)₃) w glicerofosfocholinie (GPC), fosfocholinie (PC) oraz w niewielkich ilościach w wolnej cholinie. Związki te odgrywają istotną rolę w syntezie i degradacji błon komórkowych, a ich podwyższenie często sugeruje stan chorobowy, charakteryzujący się zwiększonym obrotem błon komórkowych, takich jak nowotwory. Badania wykazują, że komórki glejowe mają wysoki poziom Cho [84, 85]. Podwyższenie choliny obserwuje się również w przebiegu patologicznych procesów demielinizacyjnych [86], co może wynikać z degradacji fosfolipidów mieliny do GPC lub być związane z stanem zapalnym [87]. Podwyższony poziom choliny jest charakterystyczny dla wielu typów nowotworów, w tym guzów mózgu o wysokim stopniu złośliwości (o ile nie są martwicze), a także nowotworów prostaty, piersi, głowy, szyi oraz innych guzów. Szczególnie w przypadku transformacji nowotworowej obserwuje się wzrost stężenia fosfocholiny względem GPC [88]. Niskie

poziomy cholicy w mózgu są natomiast związane z encefalopatią wątrobową [89]. Istnieją również dowody sugerujące, że poziom cholicy w mózgu można modulować przez jej spożycie w diecie [90]. W obu przypadkach zmienione poziomy cholicy mogą wynikać ze zmienionego (zmniejszonego lub powiększonego) transportu ogólnoustrojowego Cho do mózgu. Cho wykazuje ponadto regionalne zróżnicowanie w mózgu - jej poziomy są zwykle wyższe w istoty białej niż szarej, choć obszary takie jak wzgórze, podwzgórze i kora wyspowa również wykazują wysokie poziomy Cholicy w zdrowym mózgu.

3. Termometria spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRSt)

3.1. Przegląd literatury

Poniżej został zawarty przegląd prac dotyczących techniki termometrii spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRSt). Przedstawione artykuły ukazują różnorodność zastosowania tej metody w takich przypadkach jak guzy i trauma w mózgu, epilepsja, schizofrenia, a także potencjalne zastosowania przy badaniach fMRI. Wiele badań podkreśla znaczenie zbierania danych kalibracyjnych dla danego skanera. Pokazują też, że dane mogą być gromadzone zarówno przy użyciu żywych obiektów doświadczalnych takich jak szczury, świny i psy, ale także z pomocą fantomów. Metoda termometrii MRS jest wciąż nową metodą, także wymaga dalszych badań, aby wprowadzić ją do szerszego użycia np. w klinice. Jednakże już teraz widać jej potencjał w diagnostyce, a także monitorowaniu różnych zaburzeń mózgu.

W 1966 roku ukazał się artykuł autorstwa Hindmana [5], poświęcony przesunięciu rezonansu protonów wody w stanie gazowym i ciekłym. W pracy tej szczegółowo omówiono zależności między temperaturą a przesunięciem chemicznym protonów w cząsteczce wody. Eksperymenty przeprowadzono zarówno dla wody w stanie ciekłym, jak i gazowym, przy różnych wartościach ciśnienia. Celem badań było zgłębienie mechanizmów sił międzymolekularnych odpowiedzialnych za kohezję oraz tworzenie wiązań wodorowych między cząsteczkami wody. Najistotniejszym wnioskiem z perspektywy zastosowania techniki termometrii MRS było stwierdzenie liniowej zależności przesunięcia chemicznego sygnału wody w tkankach ludzkich od temperatury, wynoszącej około $-0,01 \text{ ppm/}^{\circ}\text{C}$. Wyniki te stały się fundamentem dla dalszych badań nad termometrią MRS.

W 1995 roku Corbett i współpracownicy [6] przeprowadzili badania mające na celu ocenę potencjału wykorzystania różnicy przesunięcia chemicznego między sygnałami pików wody i N-acetyloasparagianu (W-NAA) do nieinwazyjnego pomiaru temperatury mózgu. Widma 1h-MRS uzyskano w polu magnetycznym 4,7 T przy użyciu cewki powierzchniowej. Eksperymenty na fantomach wykazały liniowy spadek różnicy przesunięcia chemicznego W-NAA wraz ze wzrostem temperatury ($14 - 45^{\circ}\text{C}$) oraz brak wpływu zmiany pH ($5,5 - 7,6$) na tę zależność. Obecność białka ($80 - 100 \text{ mg/ml}$) miała minimalny wpływ na parametry pomiaru. W badaniach in vivo badano temperatury mózgu ośmiu świń w zakresie temperatur od 23°C do 40°C w różnych stanach: neutralnym, hipotermii, niedokrwienia, stanu po niedokrwieniu oraz po śmierci. Porównania 61 pomiarów temperatur uzyskanych metodą MRSt z wynikami uzyskanymi za pomocą sondy optycznej umieszczonej na

głębokości 1 cm w korze mózgowej wykazały doskonałą liniową zgodność (nachylenie = $1,00 \pm 0,03$, $r^2 = 0,96$). Autorzy wnioskowali końcowo, że spektroskopia ^1H NMR jest praktycznym i precyzyjnym narzędziem do nieinwazyjnego pomiaru temperatury mózgu, z dokładnością wyższą niż $\pm 1^\circ\text{C}$.

Równolegle, w 1995 roku Cady i współpracownicy [7] podkreślili znaczenie temperatury mózgu w badaniach nad patologiami i neuroprotekcją. Wykorzystali liniową zależność przesunięcia chemicznego różnicy pików wody i N-acetyloasparagianu (NAA). Badania kalibracyjne przeprowadzili na uśpionym prosiaku schładzanym od 40°C do 30°C oraz na fantomie badanym *in vitro* ($28 - 42,5^\circ\text{C}$). Uzyskane funkcje kalibracyjne (Tabela 1) pozwoliły na pomiar temperatury mózgu *in vivo* u sześciu zdrowych ludzkich niemowląt, (średnio $38,1 \pm 0,4^\circ\text{C}$). Autorzy stwierdzili, że spektroskopia NMR pozwala na szybki i precyzyjny pomiar temperatury mózgu, umożliwiając monitorowanie zmian patologicznych i efektów terapii.

Corbett i współpracownicy [8] w 1997 ocenili przydatność protonowej spektroskopii rezonansu magnetycznego (^1H MRS) do nieinwazyjnego pomiaru temperatury mózgu *in vivo*. Podobnie jak Cady [7] badania kalibracyjne przeprowadzono na świniach, poddawany kontrolowanemu ogrzewaniu i chłodzeniu całego ciała jednocześnie monitorując temperaturę mózgu za pomocą wszczepionych czujników i analizując zmiany różnic pomiędzy pikami wody jak i pikami NAA i choliny w widmach MRS. Wyznaczone funkcje kalibracyjne zastosowano u 10 zdrowych ochotników, mierząc temperaturę w płacie czołowym i wzgórzu. Zaobserwowano istotne różnice między tymi obszarami ($37,2^\circ\text{C}$ vs. $37,7^\circ\text{C}$). Wyniki były spójne dla różnych metabolitów referencyjnych (NAA i choliny). Badacze stwierdzili, że technika MRSt jest skutecznym i obiecującym narzędziem do regionalnego pomiaru temperatury mózgu u osób zdrowych, a także wykazuje potencjał do przyszłych zastosowań klinicznych.

W 2006 roku Rachel Katz-Brull i współpracownicy [91] przeprowadzili badanie mające na celu analizę zmian temperatury i metabolizmu w pierwszorzędowej korze wzrokowej podczas wizualnej stymulacji, wykorzystując spektroskopię MRS, fMRI i MRI w skanerze 3T. Eksperyment obejmował dziewięciu zdrowych ochotników, którzy poddani byli 32-sekundowym blokom stymulacji wzrokowej. Do pomiaru temperatury zastosowano funkcje kalibracyjną opracowaną przez Cady'ego [7]. Autorzy odnotowali marginalnie istotny wzrost lokalnej temperatury kory wzrokowej o $0,1^\circ\text{C}$ ($p = 0,09$), co było sprzeczne z wcześniejszymi przewidywaniami o jej obniżeniu. Dodatkowo analiza stężeń metabolitów, takich jak mleczan, glutaminian czy cholina, nie wykazała znaczących zmian, co utrudniło interpretację procesów metabolicznych. Wyniki porównano z modelem równowagi termicznej, podkreślając rolę przepływu krwi w regulacji temperatury mózgu. Badanie dostarczyło cennych danych na temat procesów neuronalnych, jednocześnie wskazując na

ograniczenia w interpretacji zależności między aktywacją neuronalną a zmianami temperatury i metabolizmu.

W 2006 roku Karaszewski i współautorzy [10] przeprowadzili badanie analizujące zmiany temperatury mózgu po udarze niedokrwiennym przy użyciu spektroskopii obrazowej rezonansu magnetycznego (MRSI). W eksperymencie uczestniczyło 40 pacjentów, którzy byli hospitalizowani z powodu ostrego udaru niedokrwiennego, zidentyfikowanego za pomocą obrazowania ważoną dyfuzją (DWI). Temperaturę obliczano według wzoru kalibracyjnego określonego eksperymentalnie, gdzie wartości odniesienia uzyskano z grupy kontrolnej zdrowych ochotników. Wyniki na pacjentach wykazały wyższą temperaturę w tkankach niedokrwiennych niż w zdrowych ($37,63^{\circ}\text{C}$ vs $37,16^{\circ}\text{C}$; $p < 0,001$) oraz różnice między obszarami jednoznacznie patologicznymi a potencjalnie patologicznymi ($37,63^{\circ}\text{C}$ vs $37,30^{\circ}\text{C}$; $p < 0,001$). Zauważono także, że wyższe temperatury korelowały z większym obszarem niedokrwienia i cięższymi objawami klinicznymi. Obserwowano wczesny wzrost temperatury w obszarach niedokrwiennych przed wystąpieniem gorączki ogólnoustrojowej. Autorzy podkreślili wartość MRSI jako narzędzia do monitorowania zmian temperatury mózgu i skuteczności terapii.

W 2008 roku Shiloh i współautorzy [12] przeprowadzili badanie oceniające temperaturę mózgu u pacjentów ze schizofrenią przy użyciu techniki MRSt. W badaniu uczestniczyło dziewięciu pacjentów ze schizofrenią i dziesięciu zdrowych ochotników, a pomiary temperatury wykonano w obszarach czołowym, potylicznym i wzgórza. Funkcja kalibracyjna do pomiaru temperatury pochodziła z badania Cady z 1995 roku [7]. U pacjentów ze schizofrenią stwierdzono wyraźnie wyższy gradient temperatury potyliczno-czołowej ($1,27^{\circ}\text{C}$ vs. $0,18^{\circ}\text{C}$ u osób zdrowych; $p = 0,032$). Różnica temperatur między korą czołową a wzrokową wyniosła $1,27^{\circ}\text{C}$ ($p = 0,025$), co wskazywało na odmienną termoregulację w schizofrenii. Zaobserwowano także trend sugerujący związek między gradientem temperatury a nasileniem objawów psychopatologicznych mierzonych skalą PANSS, choć nie osiągnął on istotności statystycznej. Wyniki badania podkreśliły wartość techniki MRS jako nieinwazyjnej metody monitorowania zmian temperatury mózgu w kontekście zaburzeń psychicznych.

W 2008 roku Zhu i współpracownicy [92] opublikowali badanie, które skoncentrowało się na doskonaleniu technik kalibracyjnych w termometrii MRS do pomiarów temperatury mózgu in vivo. Praca dostarczyła najbardziej precyzyjnej wówczas oceny zależności między częstotliwością rezonansu wody a temperaturą mózgu. Eksperymenty przeprowadzono na trzech szczurach, wykorzystując skaner MRI o wysokim polu magnetycznym (11,74 T) i spektroskopię MR opartą na sekwencji LASER. Podczas badania szczury umieszczono w łóżkach wodnych, a ich temperatura ciała i mózgu były monitorowane za pomocą chirurgicznie wszczepionych sond. Temperatura była stopniowo obniżana z $37,5^{\circ}\text{C}$ do około

30°C w ciągu około 2,5 godziny. Widma MRS uzyskane w trakcie eksperymentu zostały poddane analizie z zastosowaniem trzech metod szacowania częstotliwości rezonansu wody oraz metabolitów: N-acetyloasparagianu (NAA), kreatyny i choliny, które pełniły funkcję wewnętrznych odniesień niezależnych od temperatury. Wyniki wykazały, że modelowanie widm w dziedzinie częstotliwościowej za pomocą krzywych Lorentza zapewniło najwyższą dokładność w określeniu zależności między częstotliwością rezonansu wody a temperaturą. Na tej podstawie opracowano trzy funkcje kalibracyjne dla liniowych zależności pomiędzy różnicami przesunięcia chemicznego pików wody i metabolitów (NAA, kreatyny i choliny) a temperaturą (Tabela 1), które zostaną szerzej opisane w rozdziale 3.2.. Autorzy szczegółowo omówili potencjalne źródła błędów w szacowaniu temperatury, wskazując, że największym ograniczeniem była precyzja w określaniu częstotliwości rezonansowych pików metabolitów, opisane szerzej w rozdziale 3.2. Badanie pokazało, że przy polu magnetycznym 3T możliwe jest uzyskanie dokładności szacowania temperatury na poziomie około 0,5°C, podczas gdy zastosowanie silniejszego pola (11,74 T) pozwalało na osiągnięcie znacznie wyższej precyzji, z błędem wynoszącym jedynie około 0,1°C. Wyniki te stanowiły istotny krok w kierunku bardziej precyzyjnych i wiarygodnych pomiarów temperatury mózgu *in vivo*.

Covaciu i współautorzy w 2010 [93] kalibrowali technikę MRSt za pomocą fantomów wodnych, badając przesunięcia chemiczne woda–NAA, woda–Cho i woda–Cre w zakresie temperatur 3°C–43°C. Pomiary przeprowadzono na skanerze 1,5T (Philips) u 18 zdrowych ochotników, analizując вокsel w płacie ciemieniowym. Średnie temperatury mózgu wyniosły: T_Cho 38,1°C, T_Cre 38,0°C, T_NAA 38,3°C, przewyższając temperaturę ciała (36,9°C, $p < 0,0001$). Nie stwierdzono istotnej korelacji między temperaturą mózgu a ciała ($r = 0,420$, $p > 0,08$). Autorzy podkreślili, że MRSt z kalibracją fantomową jest dokładną metodą pomiaru temperatury mózgu, a jej rozwój może wspierać diagnostykę i monitorowanie terapii pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi.

W 2010 roku Cady i współpracownicy [11] przeprowadzili badania dotyczące pomiaru temperatury mózgu w kontekście udarów i urazów. Autorzy podkreślili, że w przypadkach niedotlenienia podczas porodu, hipotermia może poprawić rokowania noworodków, jednak skuteczna terapia wymaga precyzyjnej informacji o lokalnej temperaturze mózgu. Autorzy wskazali, że N-acetyloasparagian (NAA) jest kluczowym odniesieniem w MRS, choć jego stężenie może ulegać zmianom w wyniku patologii lub niedojrzałości mózgu. Aby zwiększyć dokładność pomiarów, zaproponowali metodę ważonego uśredniania amplitud (AWC) z wykorzystaniem NAA, choliny (Cho) i kreatyny (Cr) jako odniesień opisany dokładniej w rozdziale 3.2. Badania kalibracyjne przeprowadzone zostały na uśpionych prosiętach w 7T skanerze w temperaturze od 39°C do 30°C kontrolowanej za pomocą termometru dousznego. Badania *in vivo* przeprowadzone zostały na 13 noworodkach na skanerze 2.4T

z woksalami badanymi umieszczonymi w regionach wzgórza (Thal) i potyliczno ciemieniowym (OP). Przy pomiarach temperatury zastosowano wyznaczone w badaniu funkcje kalibracyjne korzystające z różnic pomiędzy przesunięciem chemicznym pików wody w referencji do wybranych metabolitów. Następnie korzystając z tych wyników wykonano pomiar temperatury metodą AWC przy pomocy trzech sposobów ważenia: bez ważenia (N), ważeniem amplitudą (A) i kwadratem amplitudy (A^2). Aby zasymulować ciężkie niedotlenienie okołoporodowe, amplitudy ACho, ACre i ANAA zostały zmniejszone odpowiednio o 34%, 14% i 28%. Dzięki temu oceniono odporność T-AWC na zmiany stężenia i relaksacji wynikające z niedotlenienia. Wyniki pokazały, że metoda ważonego uśredniania AWC była bardziej precyzyjna niż stosowanie pojedynczych referencji (NAA, Cho, Cre). Spośród zastosowanych wag, najniższe odchylenia standardowe (SD) osiągnięto przy ważeniu kwadratem amplitudy (A^2). Podsumowując autorzy wnioskują, że metoda uśredniania AWC, szczególnie przy ważeniu kwadratem amplitudy (TAWC, A^2), znacząco poprawia precyzję pomiarów termometrii mózgu i wykazuje odporność na czynniki patologiczne. Badanie potwierdza jej przydatność w monitorowaniu temperatury mózgu noworodków podczas terapii hipotermii.

W 2014 roku Barbourina-Brooks i współpracownicy [15] opublikowali badanie dotyczące wykorzystania termometrii ^1H -MRS do monitorowania urazów mózgu, hipotermii i guzów mózgu, zwracając uwagę na niewystarczająco zbadane zastosowanie tej metody w diagnostyce guzów mózgu. Badacze stwierdzili, że częstotliwość rezonansu protonów wody (PRF) może być zależna od różnych czynników mikrośrodowiskowych, takich jak wymiana protonów z makrocząsteczkami czy stężenie jonów, co może wpływać na dokładność pomiaru. W badaniu przeanalizowano dane MRS z przypadków guzów mózgu u dzieci, obejmujące glejaki, rdzeniaki oraz próbki kontrolne zdrowych mózgów, rejestrowane za pomocą skanera 1,5T. Wyniki pokazały, że średnie wartości PRF były wyższe dla rdzeniaków niż glejaków, a PRF dla glejaków był niższy w porównaniu do grupy kontrolnej. Zauważono, że pozorna temperatura w glejakach była o około $1,5^\circ\text{C}$ wyższa niż w rdzeniakach oraz o około $0,7^\circ\text{C}$ wyższa niż w zdrowym mózgu. Badanie wskazuje na potencjał wykorzystania PRF wody jako narzędzia w precyzyjnej diagnostyce guzów mózgu u dzieci, choć autorzy zauważają, że przesunięcia PRF mogą być również wynikiem zmian mikrostrukturalnych i innych parametrów, co wymaga dalszych badań.

W 2015 roku Rango i współpracownicy [94] przeprowadzili badanie mające na celu replikację eksperymentu Katz-Brulla z 2006 roku [91], analizując temperaturę mózgu w korze wzrokowej podczas jej aktywacji. Badaniem objęto 20 zdrowych ochotników korzystając z 1,5T skanera MR do pomiarów spektroskopowych. Woksel badany umieszczony został wzdłuż bruzdy kalkarynowej oraz w prawym środku półkuli. Dane zbierano w trzech etapach: w spoczynku, podczas stymulacji wzrokowej oraz po jej

zakończeniu. Do pomiarów temperatury wykorzystano dwie niezależne funkcje kalibracyjne opracowanych przez Corbetta [4] i Zhu [92]. U uczestników badania zaobserwowano, że w trakcie aktywacji temperatura mózgu początkowo pozostawała stabilna, a następnie spadała o 0,20°C, po czym wzrastała o 0,60°C po zakończeniu stymulacji. Zmiany te były związane z dynamicznymi procesami metabolicznymi, gdzie przepływ krwi wracał do normy zaraz po aktywacji, ale metabolizm tlenu i glukozy utrzymywał się na podwyższonym poziomie. Badanie wykazało, że zmiany temperatury mózgu w wyniku aktywacji mają kluczowe znaczenie dla jego funkcji biochemicznych i fizjologicznych. Wyniki wskazują, że stabilność temperatury mózgu jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania neuronów, a jej zmiany mogą mieć znaczenie w kontekście chorób takich jak stwardnienie rozsiane czy padaczka.

Artykuł Babourina-Brooks i współpracowników [95] z 2015 roku prezentuje możliwości zastosowania termometrii MRS w diagnostyce urazów i guzów mózgu, podkreślając wyzwania związane z kalibracją temperatury wynikające z czynników niezależnych od samej temperatury. Badacze skupili się na analizie wpływu stężenia białek i jonów na dokładność kalibracji w polu magnetycznym o natężeniu 3T. Eksperymenty przeprowadzono z użyciem fantomów, kontrolując ich temperaturę za pomocą cyrkulacji wody i zamrażania związków organicznych oraz dokonując pomiarów za pomocą sondy fluoro-optycznej. Wyniki wykazały, że wzrost stężenia albuminy surowicy wołowej (BSA) obniża temperaturę o 0,2°C na procent zawartości, natomiast wzrost stężenia jonów o 50 mM powoduje jej wzrost o 0,5°C. Porównanie z wcześniejszymi badaniami w polu 1,5T ujawniło różnice w krzywych kalibracyjnych, szczególnie przy roztworach zawierających 10% BSA, podkreślając wpływ wartości pola magnetycznego na wyniki. Autorzy konkludują, że termometria MRS, dzięki zdolności do precyzyjnego obrazowania temperatury i mikrośrodowiska tkankowego, ma potencjał do rozwoju nowych metod diagnostycznych w neurologii.

Artykuł Posporelisa i współpracowników [13] z 2018 roku przedstawia badanie dotyczące związku między metabolizmem mózgu, przewodnictwem nerwowym i temperaturą u pacjentów we wczesnej fazie schizofrenii. Badanie nawiązuje do wcześniejszych badań nad wykorzystaniem MRSt w badaniu schizofrenii [12]. W eksperymencie, przeprowadzonym przy użyciu spektroskopii MR na skanerze 7T, wzięło udział 20 pacjentów z wczesną schizofrenią oraz 20 zdrowych ochotników. Pomiarów temperatury oraz stężeń N-acetyloasparagianu i glutaminianu dokonano, bazując na funkcjach kalibracyjnych z pracy Cady'ego z 2010 roku [11]. Wyniki wykazały istotną ujemną korelację między poziomem glutaminianu a temperaturą mózgu w przedniej części zakrętu obręczy u osób zdrowych – obszarze odpowiedzialnym za procesy emocjonalne i poznawcze. U pacjentów ze schizofrenią związek ten został zaburzony, co sugeruje zmiany

w metabolizmie mózgu i funkcjonowaniu neuroprzekaźników. Autorzy konkludują, że odkrycia wspierają hipotezę o zakłóceniach w metabolizmie mózgu w schizofrenii i podkreślają potrzebę dalszych badań klinicznych i przedklinicznych.

Sone i współpracownicy [16] w badaniu z 2017 roku analizowali możliwość wykrywania ognisk hipertermii mózgu związanej z ciągłą aktywnością padaczkową za pomocą termometrii MRS. Badanie przeprowadzono na sześciu pacjentach pediatrycznych z padaczką lekooporną, analizując widma spektroskopii pojedynczego woksela w zmianach epileptogennych i ich kontralateralnych odpowiednikach. Pomiarów dokonano na skanerze 3T, obliczając temperaturę na podstawie stosunku pików NAA i wody według funkcji kalibracyjnej Cady'ego z 1995 roku [7]. Wyniki wykazały, że temperatura w ogniskach epileptogennych ($36,81^{\circ}\text{C}$) była istotnie wyższa niż w obszarach kontrolnych ($36,01^{\circ}\text{C}$), przy różnicy średnich $0,81^{\circ}\text{C}$ ($p = 0,017$). Odkrycie to potwierdziło wcześniejsze obserwacje z modeli zwierzęcych, wskazując na związek między wyładowaniami epileptycznymi a lokalną hipertermią. Autorzy konkludują, że termometria MRS może stanowić cenne narzędzie do nieinwazyjnego wykrywania ognisk hipertermii i lepszego zrozumienia mechanizmów padaczki.

W 2019 roku Verius i współpracownicy [96] opublikowali badanie, którego celem było podkreślenie znaczenia kalibracji w termometrii MRS dla precyzyjnego pomiaru temperatury mózgu oraz oceny potencjalnych zastosowań tej metody w praktyce klinicznej. Eksperyment przeprowadzono na skanerze 3T firmy Siemens, wykorzystując sekwencję spektroskopii pojedynczego woksela PRESS. Badanie składało się z dwóch etapów: kalibracji in vitro oraz pomiarów in vivo na zdrowych ochotnikach. W ramach kalibracji in vitro zastosowano fantom z kontrolowaną temperaturą, zawierający metabolity takie jak N-acetyloasparaginian (NAA), kreatyna (Cr), protony metylowe kreatyny (Cr_2), dimetylosilapentanowy kwas sulfonowy (DSS) oraz mrówczan sodu (NaFor). Pomiary in vivo wykonano na grupie 30 zdrowych ochotników, dokonując spektroskopii w trzech lokalizacjach mózgu: w prawej i lewej półkuli mózgu oraz na poziomie robaka mózdzku. Obliczenia temperatury oparto na korelacyjnych zależnościach pomiędzy wodą a metabolitami: NAA, Cr i Cr_2 . Dla porównania wykorzystano również funkcje kalibracyjne opracowane w badaniach takich autorów jak Covaciu [93], Cady [7] czy Corbetta [6,8]. Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem współczynnika korelacji Pearsona, aby ocenić zależność między przesunięciami chemicznymi wody i metabolitów a zmierzonymi temperaturami. Pomiary kalibracyjne wykazały wysokie współczynniki korelacji dla NAA ($0,9975 \pm 0,0609$), Cr ($-0,9979 \pm 0,0621$), Cr_2 ($-0,9973 \pm 0,0577$), DSS ($-0,9976 \pm 0,0615$) i NaFor ($-0,8132 \pm 2,348$). Średnia temperatura mózgu, obliczona na podstawie funkcji korelacyjnych, wynosiła $37,78 \pm 1,447^{\circ}\text{C}$, podczas gdy średnia temperatura błony bębenkowej wyniosła $36,83 \pm 0,2456^{\circ}\text{C}$. Wartości temperatur uzyskane przy użyciu funkcji kalibracyjnych innych badaczy

różniły się średnio o ponad 1°C. Wyniki badania podkreślają kluczową rolę dokładnych pomiarów kalibracyjnych w termometrii MRS. Autorzy zwracają uwagę, że brak kalibracji lub błędy w obróbce danych mogą znacząco obniżyć precyzję pomiarów temperatury, co wymaga szczególnej ostrożności przy interpretacji wyników. Zdaniem badaczy, konieczne są dalsze prace nad rozwojem tej metody, aby mogła zostać zaadaptowana do zastosowań klinicznych.

Artykuł naukowy opublikowany przez Dong i współautorów w 2022 roku [97] przedstawia analizę różnych metod pomiaru temperatury za pomocą termometrii MRS. Główne założenie artykułu koncentruje się podobnie do tej pracy na porównaniu dwóch podejść: wykorzystania widm z nietłumionym sygnałem wody (FW od ang. Full Water, typ WU) oraz widm z częściowo tłumionym sygnałem wody (PW od ang. Partial Water, typ WS). Celem badania było określenie, które z tych podejść prowadzi to mniejszych błędów w ocenie temperatury tkanek, mające znaczenie w zastosowaniach klinicznych. Badanie przeprowadzono na grupie 26 uczestników przy użyciu skanera 3-T GE, stosując spektroskopię pojedynczego woksela. Każdy pacjent uczestniczył w pięciu 13-minutowych sesjach MRS, w trakcie których rejestrowano dwa rodzaje widm: bez tłumienia sygnału wody typu WU oraz 64 z częściowym tłumieniem sygnału wody typu WS. Analiza obejmowała pomiar różnic częstotliwości przesunięcia chemicznego pomiędzy różnymi kombinacjami sygnałów: pików wody z widma typu WU, pików wody z widm typu WS, uśrednionych sygnałów wody (W_AV) przy użyciu N-acetyloasparaginy (NAA) jako metabolitu referencyjnego. W celu oceny dokładności pomiarów autorzy skupili się na analizie zmienności zarówno wewnątrzosobniczej, jak i międzyosobniczej. Wyniki wykazały, że największe błędy pomiarowe występowały w przypadku porównań częstotliwości przesunięcia chemicznego pomiędzy widmami WS i WU, co wynikało z wpływu tłumienia wody na przesunięcia częstotliwości. Stwierdzono, że różnice częstotliwości między drugim WU (WU2) a pierwszym WS (WS1) były istotnie większe niż między dwoma WU lub dwoma WS, co wskazuje na niską stabilność WS jako punktu odniesienia w pomiarach temperatury. Średnia zmienność wewnątrzosobnicza WU2 - WS1 była nawet 4,7 razy większa niż w przypadku WU2 - WS1. Co więcej, błędy w obliczaniu temperatury na podstawie częstotliwości WS były 2,5 razy większe niż w metodach wykorzystujących uśrednione sygnały wodne. Dodatkowym odkryciem była nieoczekiwana "skokowa" zmiana częstotliwości pomiędzy WU i WS sugerująca możliwość wpływu nagrzewania gradientów i tłumienia wody na sygnał w widmie. Analiza wykazała, że efekt ten prowadzi do błędów rzędu 0,83°C w zależności od wybranej metody pomiaru. Autorzy podkreślają, że aby uzyskać najwyższą precyzję, należy stosować techniki umożliwiające jednoczesną rejestrację pełnego sygnału wodnego i metabolitu referencyjnego w jednym widmie. Wnioski płynące z pracy mają duże znaczenie dla dalszego rozwoju nieinwazyjnych metod

termometrii MRI, wskazując na konieczność starannego doboru technik akwizycji sygnału wodnego w kontekście klinicznym i badawczym.

Kolejna praca naukowa przez Dong i in. z 2022 roku [98] omawia zastosowanie spektroskopii protonowego rezonansu magnetycznego (1H MRS) do pomiaru temperatury w mózgu. W szczególności koncentruje się na wykorzystaniu wielu pików odniesienia i proponuje optymalne współczynniki ważenia w celu poprawy dokładności i precyzji pomiarów temperatury. Artykuł rozpoczyna się od podkreślenia zalet uśredniania temperatur mierzonych z więcej niż jednego pików odniesienia. Takie podejście może zwiększyć odtwarzalność (precyzję) pomiaru. Autorzy wprowadzają takie pojęcia jak szum równoważny i stosunek sygnału do szumu w kontekście pomiaru częstotliwości, a także pojęcie częstotliwości względnej, która umożliwia łączenie różnych pików w widmie w celu poprawy precyzji pomiaru częstotliwości. Opierając się na tych koncepcjach, artykuł wyprowadza teoretycznie optymalny współczynnik wagowy i sugeruje empiryczny współczynnik wagowy dla średniej ważonej temperatur mierzonych z trzech odniesień: singletów NAA (N-acetyloasparaginan), Cre (kreatyna) i Cho (cholina) w widmie 1H MR. Autorzy oceniają działanie tych dwóch współczynników wagowych, porównując błędy pomiaru temperatury z błędami uzyskanymi z poszczególnych referencji. Błędy definiuje się jako odchylenia standardowe w powtarzanych pomiarach lub w badaniach przeprowadzonych metodą Monte Carlo. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych zarówno na danych fantomowych (sztucznych), jak i in vivo (żywa tkanka) pokazują, że zarówno proponowane teoretyczne, jak i empiryczne współczynniki ważenia przewyższają dwa wcześniej sugerowane współczynniki ważenia, jak również użycie samych indywidualnych odniesień. Jednak artykuł ujawnia również, że wydajność współczynników wagowych różni się w zależności od konkretnych warunków eksperymentalnych. W eksperymentach z fantomami z poszerzeniem linii o 4 lub 10 Hz teoretyczny współczynnik wagowy działa lepiej, podczas gdy empiryczny współczynnik wagowy okazuje się lepszy w innych testach powtarzanych i testach Monte Carlo przeprowadzonych na danych fantomowych i in vivo. Podsumowując, w artykule przedstawiono nowe współczynniki ważenia, które poprawiają powtarzalność pomiaru temperatury w mózgu za pomocą termometrii opartej na 1H MRS. Proponowane współczynniki wykazują lepszą wydajność w porównaniu z wcześniej sugerowanymi współczynnikami ważenia i indywidualnymi pomiarami referencyjnymi, oferując potencjalny postęp w technikach pomiaru temperatury do badań neurologicznych i zastosowań klinicznych.

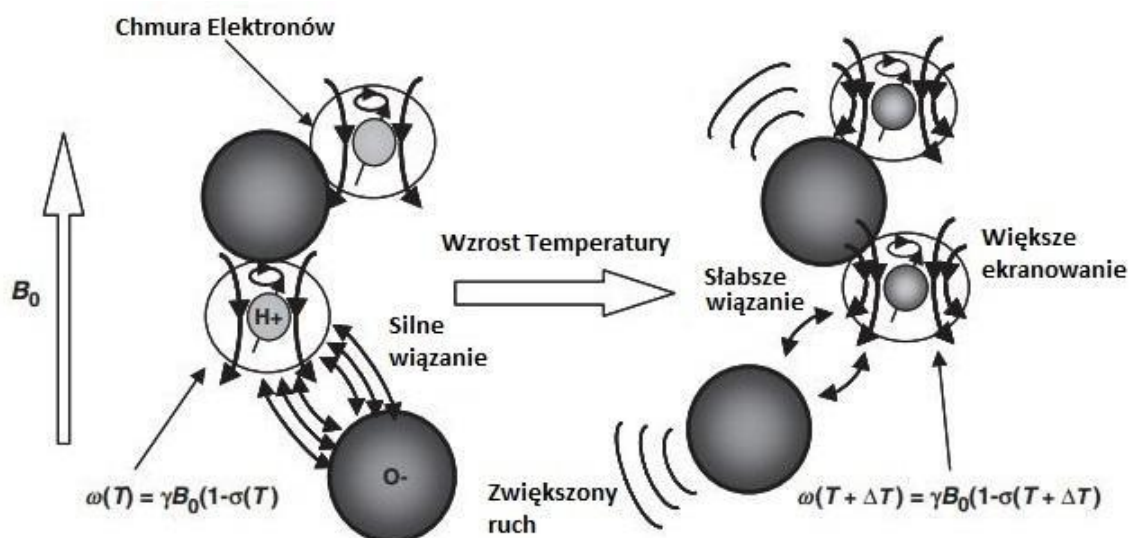
Tabela 1. Przegląd współczynników kalibracyjnych MRSt wyznaczonych przez innych badaczy. Z zaznaczeniem metabolitu (NAA, Cre lub Cho) użytego w odniesieniu do przesunięcia chemicznego pików wody. W tabeli pokazano wzór funkcji liniowej, gdzie temperatura (T) wyznaczana jest za pomocą iloczynu nachylenia kalibracji (α) i różnicy pomiędzy przesunięciem chemicznym pików wody i metabolitu referencyjnego (Δ), zsumowanego z współczynnikiem punktu przecięcia z osią y (β). Pokazano w jakim środowisku przeprowadzona została kalibracja termometrii MRS (Fantom, model zwierzęcy). Wskazane zostały także konkretne metabolity referencyjne, na których oparta została kalibracja, natężenie pola magnetycznego (B_0), nachylenie kalibracji (α), punkt przecięcia z osią y (β), wartość korelacji (R^2). Tam, gdzie to możliwe, w nawiasach przedstawiono zmienność opartą na błędzie dopasowania.

Kalibracja termometrii MRS	$T = \alpha\Delta + \beta$				
	Metabolit	Pole B_0 (T)	α	β	R^2
Fantom - Woda, NAA (20 mM), KCl (150 mM), $MgCl_2$ (1,5 mM), 6,6 or 9,9 mM lactate, pH 7.1 [6]	NAA	4,7	-97,26 (0,59)	293,28 (0,34)	0,998
Mózg prosiaka in vivo [7]	NAA	7	-94,0 (3,7)	286,9 (10,1)	-
Mózg szczura in vivo [92]	NAA	11,74	-103,8 (1,9)	313,7 (5,1)	0,99
Mózg szczura in vivo [92]	Cr	11,74	-101,7 (1,72)	204,7 (5,1)	0,99
Mózg szczura in vivo [92]	Cho	11,74	-106,08 (2,07)	192,5 (5,1)	0,98

Fantom - Woda, GPC (25mM), Cre (50mM), NAA (50mM), pH 7,2 [93]	NAA	1,5	-97,134 (0,726)	296,068 (2,055)	0,99
Fantom - Woda, GPC (25mM), Cre (50mM), NAA (50mM), pH 7,2 [93]	Cr	1,5	-94,768 (0,741)	193,291 (1,326)	0,99
Fantom - Woda, GPC (25mM), Cre (50mM), NAA (50mM), pH 7,2 [93]	Cho	1,5	-100,813 (0,986)	184,470 (1,574)	0,99
Mózg prosiaka [11]	NAA	7	-92,2	282,0	0,97
Mózg prosiaka [11]	Cr	7	-99	190,0	0,96
Mózg prosiaka [11]	Cho	7	-88,7	166,4	0,98
Fantom - Woda, NAA (50mM), Cr(50mM) [96]	NAA	3	-104,746	314,967	0,99
Fantom - Woda, NAA (50mM), Cr(50mM) [96]	Cr	3	-102,249	204,816	0,99

3.2. Podsumowanie i zasady działania

Zależność przesunięcia chemicznego od temperatury zachodzi dla związków posiadających wiązania wodorowe [5]. W tkankach biologicznych najbardziej obfita w wiązane wodorowo układy protonowe jest woda. Fizyczna zasada zależności przesunięcia chemicznego w związkach wody od temperatury jest pokazana na rysunku 12 [99].



Rysunek 12. Schematyczne wytłumaczenie zależności pomiędzy temperaturą a przesunięciem chemicznym związku wody; ω to częstotliwość rezonansowa protonów w wodzie, σ to stała ekranowania spowodowana przez chmurę elektronów znajdujących się w pobliżu protonu, a γ to współczynnik żyromagnetyczny. Praca własna.

Częstotliwość rezonansowa protonów w temperaturze T jest określona przez:

- indukcję pola magnetycznego B_0 ,
- efekt osłonowy σ spowodowany przez prądy wywołane przez chmurę elektronów, która stara się osłonić przed zewnętrznym polem.

Wraz ze wzrostem temperatury wzrasta ruch cząsteczek wody, zniekształcając, wydłużając i/lub zrywając wiązania wodorowe w cząsteczkach co sprawia, że chmura elektronowa jest mniej związana przez wiązania elektronowe niż w niższych temperaturach. Tłumienie wiązań wodorowych wzbudza większy prąd w chmurach elektronowych, wzmacniając efekt ekranowania. W rezultacie częstotliwość rezonansowa protonów w wodzie będzie mniejsza. Ta zmiana częstotliwości wraz z temperaturą może być znormalizowana w formie przesunięcia chemicznego lub przesunięcia termalnego [100]. W badaniach zostało określone, że współczynnik temperaturowy przesunięcia chemicznego w czystej wodzie wynosi $-0,01 \text{ ppm/}^\circ\text{C}$. [5]

Na podstawie informacji zawartych w powyższym rozdziale zależność między temperaturą a przesunięciem chemicznym protonów wody można modelować. Jeśli w obserwowanym przez nas regionie znajduje się jakiś związek niebędący wodą, wystarczająco niewrażliwy na temperaturę, może on być wykorzystany jako wewnętrzna referencja do mierzenia częstotliwości rezonansowej protonów w wodzie. Opierając się na pracach Corbetta [6], Zhu [92], Covaciu [93], Cady'ego [7,11] czy Veriusa [96] możemy określić, że najczęściej stosowanymi związkami wykorzystywanymi jako wewnętrzne odnośniki są NAA, kreatyna i cholina.

Związane z temperaturą przesunięcie chemiczne może być zdefiniować podobnie jak równanie 12 i rozwinąć jako [101]:

$$\delta_{W-R}[ppm] = \frac{\omega_W(T) - \omega_R(T)}{\omega_R(T)} \cdot 10^6 \approx \frac{\omega_W(T) - \omega_R(T)}{\omega_{RF}(T)} \cdot 10^6 \approx (-\sigma_W(T) + \sigma_R) \cdot 10^6, \quad (25)$$

$$\omega_W(T) = \gamma B_0 (1 - \sigma_W(T) + \chi(T)), \quad (26)$$

$$\omega_R(T) = \gamma B_0 (1 - \sigma_R + \chi(T)), \quad (27)$$

gdzie:

δ_{W-R} [ppm] – zależne od temperatury przesunięcie chemiczne,

$\omega_W(T) \left[\frac{rad}{s} \right]$ – częstotliwość rezonansowa wody w pewnej temperaturze T,

$\omega_R(T) \left[\frac{rad}{s} \right]$ – częstotliwość rezonansowa cząstki referencyjnej w określonej temperaturze T,

$\omega_{RF}(T) \left[\frac{rad}{s} \right]$ – centralna częstotliwość RF nadajnik-o odbiornika,

$\gamma \left[\frac{rad}{sT} \right]$ – współczynnik żyromagnetyczny,

$\chi(T)$ – podatność magnetyczna tkanki,

$\sigma_W(T)$ i σ_R to stałe ekranowania dla wody i związku referencyjnego oznaczające poziom efektu osłonięcia magnetycznego przez chmurę elektronów.

Kiedy hipotetyczną stałą temperaturową jest $\alpha \left[\frac{ppm}{^\circ C} \right]$, a przesunięcie temperatury, przy którym przesunięcie chemiczne wynosi zero to $\beta [^\circ C]$, związek pomiędzy temperaturą a przesunięciem chemicznym jest oznaczany jako [6]:

$$T = \frac{\sigma_{W-R}}{\alpha} + \beta, \quad (28)$$

Zmiana temperatury ΔT [$^{\circ}\text{C}$] może być oznaczona równaniem:

$$\Delta T = \frac{\delta_{W-R}}{\alpha}, \quad (29)$$

Gdy nie ma wewnętrznej referencji, relatywna zmiana przesunięcia chemicznego od temperatury bazowej T_R , może być wykryta jako:

$$\Delta\delta_W[\text{ppm}] = \frac{\omega_w(T) - \omega_w(T_R)}{\omega_w(T_R)} * 10^6 \approx \frac{\omega_w(T) - \omega_w(T_R)}{\omega_{RF}} * 10^6, \quad (30)$$

$$\approx \left(-\sigma_W(T) + \sigma_W(T_R) + (T) - (T_R) \right) * 10^6, \quad (31)$$

W tym przypadku tylko relatywna zmiana temperatury ΔT może być uzyskana przy użyciu stałej temperaturowej $\alpha \left[\frac{\text{ppm}}{^{\circ}\text{C}} \right]$, w sposób podany poniżej:

$$\Delta T = \frac{\Delta\delta_W}{\alpha}, \quad (32)$$

W przypadku, kiedy w widmie znajduje się sygnał referencyjny, możemy wykonać pomiary absolutnej temperatury poprzez najpierw sporządzenie danych kalibracyjnych, z których można uzyskać współczynniki liniowe $\alpha \left[\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{ppm}} \right]$ i β [$^{\circ}\text{C}$]. Sporządzenie danych kalibracyjnych wykonuje się najczęściej na temperaturowo kontrolowanych fantomach jak pokazały ostatnie badania wykonane przez Covaciu [93] czy Verius [96]. Następnie poprzez zmierzenie przesunięcia chemicznego sygnałów wody δ_W [ppm] i sygnału referencyjnego δ_R [ppm] możemy wykonać pomiar absolutny temperatury według wzoru:

$$T = \alpha(\delta_W - \delta_R) + \beta, \quad (33)$$

Równanie, które w tej pracy posłuży do obliczenia pierwszych modeli regresji liniowej temperatury jest rozwinięciem równania 33:

$$T(^{\circ}\text{C}) = A \cdot \delta_{W-M} + B, \quad (34)$$

gdzie:

A — nachylenie krzywej regresji [$^{\circ}\text{C}/\text{ppm}$],

B — punkt przecięcia linii regresji [$^{\circ}\text{C}$],

δ_{W-M} — różnica pomiędzy częstotliwością położenia pików wody i wybranego metabolitu referencyjnego [ppm]. W niniejszej pracy metabolitami referencyjnymi były NAA, Cre i Cho.

Do obliczenia wartości temperatury zostanie wykorzystany wzór z badań Zhu [92], gdzie wzór 34 przekształcić trzeba na wzór wykorzystywany przez Zhu [92]:

$$T(^{\circ}C) = T_{ref} + A \cdot (\delta_{W-M} - F0_{ref}), \quad (35)$$

gdzie:

T_{ref} — temperatura referencyjna ustalona w czasie kalibracji [$^{\circ}C$],

A to nachylenie krzywej regresji ze wzoru (38) [$^{\circ}C/ppm$],

δ_{W-M} — różnica pomiędzy częstotliwością położenia pików wody i wybranego metabolitu [ppm],

$F0_{ref}$ — różnica pomiędzy częstotliwością położenia pików wody i wybranego pików metabolitu zarejestrowanego w temperaturze T_{ref} [ppm].

W celu przekształcenia wzoru 34 w 35, należało przekształcić wyraz wolny B ze wzoru 34 w T_{ref} i $F0_{ref}$:

$$B = T - A \cdot \delta_{W-M}, \quad (36)$$

Zakładając, że po wykonaniu kalibracji, ustalona zostanie temperatura referencyjna to $T = T_{ref}$, A zostanie takie same, a przekształci się w $\delta_{W-M} = F0_{ref}$ i po podstawieniu wyrazu wolnego B do wzoru 34 otrzymamy wzór 35.

Korzystając z badań Zhu [92] i Dong [98] niepewność temperatury mierzonej przy pomocy wzoru 35 zostanie obliczona za pomocą wzoru:

$$uT(^{\circ}C) = \sqrt{(uT_{ref})^2 + (A \cdot \sqrt{u\delta_{W-M}^2 + uF0_{ref}^2})^2 + ((\delta_{W-M} - F0_{ref}) \cdot uA)^2}, \quad (37)$$

gdzie:

uT — niepewność obliczonej temperatury [$^{\circ}C$],

uT_{ref} — niepewność temperatury referencyjnej zmierzonej w czasie badania kalibracyjnego $\approx 0.07^{\circ}C$, wynikająca z niepewności pomiaru czujników światłowodowych,

A to nachylenie krzywej regresji [$^{\circ}C/ppm$],

uA — niepewność nachylenia krzywej regresji wyznaczona podczas modelowania regresji [$^{\circ}C/ppm$],

δ_{W-M} — różnica pomiędzy częstotliwością położenia pików wody i wybranego metabolitu [ppm],

$u\delta_{W-M}$ — niepewność wyznaczenia położenia pików na osi częstotliwości [ppm],

$F0_{ref}$ — różnica pomiędzy częstotliwością położenia pików wody i wybranego pików metabolitu zarejestrowanego w temperaturze T_{ref} [ppm].

$uF0_{ref}$ — niepewność wyznaczenia położenia pików na osi częstotliwości w temperaturze referencyjnej T_{ref} z widma uzyskanego podczas badań kalibracyjnych [ppm].

W przypadku badań zmian w mózgu wykorzystane zostanie jeszcze uśrednianie wyników przy pomocy amplitud zaproponowane przez Cady'ego w 2010 roku [11] :

$$T_{AWC}(^{\circ}C) = \frac{T_{Cho} A_{Cho}^2 + T_{Cr} A_{Cr}^2 + T_{NAA} A_{NAA}^2}{A_{Cho}^2 + A_{Cr}^2 + A_{NAA}^2}, \quad (38)$$

gdzie:

- T_{Cho} , T_{Cr} , T_{NAA} — to temperatury wyznaczone powyższą metodą używając odpowiednio danych z widma WS i WU [$^{\circ}C$],
- A_{Cho} , A_{Cr} , A_{NAA} — to amplitudy pików NAA, Cre i Cho pochodzących z widma typu WS.

Podobnie jak dla wzoru 35 obliczenia niepewności pomiaru Temperatury uśrednionej z wzoru 38 będzie wynosić:

$$uT_{AWC} = \sqrt{\sum_i \left(\frac{A_i^2}{\sum_j A_j^2} uT_i \right)^2 + \sum_i \left(\frac{2A_i(T_i \sum_j A_j^2 - \sum_j A_j^2 T_j A_j^2)}{(\sum_j A_j^2)^2} uA_i \right)^2}, \quad (39)$$

gdzie:

uA_i — niepewność wyznaczenia amplitudy pików NAA, Cre i Cho,

A_i , A_j — Amplitudy pików NAA, Cre i Cho,

uT_i — niepewności pomiarów temperatury wyznaczone wzorem 41,

T_i — to temperatury wyznaczone wzorem 39 używając odpowiednio danych z widma WS lub WU [$^{\circ}C$], z NAA, Cre i Cho jako metabolitami referencyjnymi.

II. Badania własne

Wszystkie eksperymenty wykonane zostały na skanerze Firmy GE 3T GE Discovery 750w będącym na wyposażeniu Środowiskowej Pracowni Nowych Zastosowań Diagnostycznych Jądrowego Rezonansu Magnetycznego CNS Lab IBIB PAN (<http://www.ibib.waw.pl/pl/o-instytucie/cns-lab>).

Badania własne zawarte w pracy doktorskiej składają się z kilku etapów. Pierwszym etapem było zaprojektowanie i implementacja oprogramowania do analizy i obróbki danych spektroskopowych opisane w rozdziale 5. Kolejnym etapem opisanym w rozdziale 6 był wybór technik i metod badawczych wykorzystanych w trakcie realizowania tej pracy doktorskiej. Aby móc skorzystać z metody termometrii MRS wspomnianej w rozdziale 3 do pomiarów temperatury mózgu in vivo, należało przeprowadzić badania kalibracyjne, które inspirowane były poprzednimi badaniami nad kalibracją w termometrii MRS wykonanych przez Zhu [92], Covaciu [93], Cady'ego[11] czy Veriusa[96]. Następnie niniejsza praca doktorska przedstawia realizację dwóch projektów badawczych przeprowadzonych w pracowni, których dane spektroskopowe posłużyły do pomiarów temperatury mózgu in vivo. Pierwszy projekt, inspirowany badaniami Katz-Brulla[91] i Rango[94], dotyczy wpływu długotrwałych badań czynnościowych na temperaturę mózgu. Drugi, opierający się na pracach Cady'ego[11], Barbouriny-Brooks[15,95] oraz Sone[16], analizuje wpływ zmian w mózgu na jego temperaturę. Rozdział 7 przedstawia wyniki przeprowadzonych badań. A rozdział 8 obejmuje dyskusję i podsumowanie wyników otrzymanych w rozdziale 7.

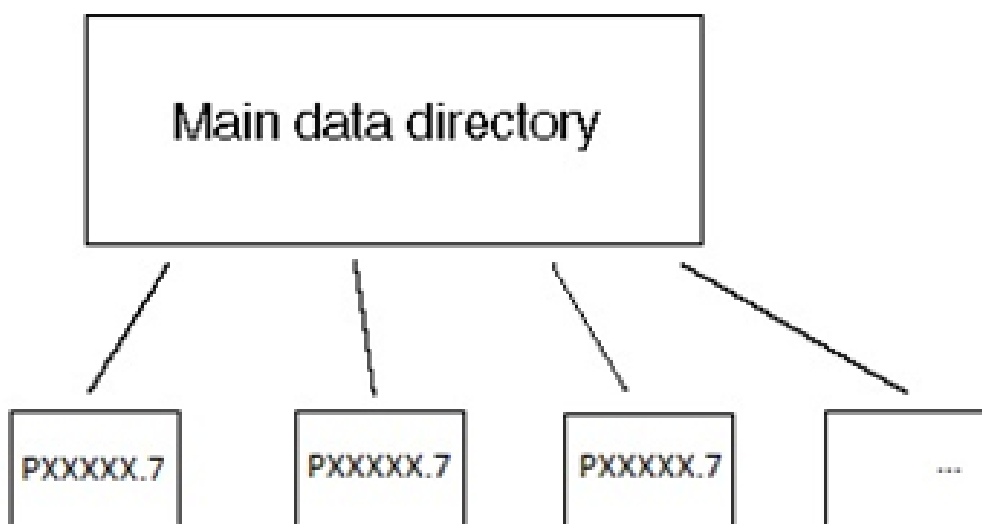
Wszystkie badania przeprowadzono z wykorzystaniem sekwencji PRESS, która - jak wspomniano w rozdziale 2.3. - składa się z dwóch etapów. Pierwszy to sekwencja kalibracyjna, w trakcie której rejestrowane jest nietłumione widmo typu WU. Sygnał ten zazwyczaj wykorzystywany jest jedynie na etapie wstępnej obróbki danych i nie bierze udziału w pomiarze stężeń metabolitów ani dalszej analizie danych. Drugi etap to akwizycja danych diagnostycznych typu WS, której wyniki stanowią kluczowy element analizy MRS. Widmo uzyskane na tym etapie pozwala na identyfikację sygnałów metabolitów, co umożliwia pomiar ich stężeń w badanym wokselu. Obserwując rosnące zainteresowanie nad wykorzystaniem widma typu WU do pomiaru temperatury (Dong [97]) w niniejszej pracy doktorskiej postanowiono wykorzystać oba widma w celu pomiaru temperatury metodą MRSt.

4. Techniki i metody badawcze

4.1. Aplikacja TermoM do obróbki i analizy widm MRS w technice MRSt

Ze względu na brak powszechnie dostępnego oprogramowania dedykowanego pomiarom temperatury z wykorzystaniem spektroskopii rezonansu magnetycznego, pojawiła się potrzeba opracowania zestawu skryptów, które umożliwiają wczytywanie, przetwarzanie danych spektroskopowych oraz obliczanie temperatury na podstawie widm generowanych podczas badań MRS. W odpowiedzi na to zapotrzebowanie opracowano program TermoM, zaimplementowany w środowisku MATLAB, który został zaprojektowany w celu przetwarzania danych spektroskopowych pochodzących z badań na skanerze firmy GE.

Struktura zapisywania danych spektroskopowych w skanerze GE Discovery 750w 3T została przedstawiona na rysunku 13.



Rysunek 13. Struktura danych w pliku zawierającym widmo MRS zarejestrowane w skanerze GE. Praca własna.

W formacie GE dane spektroskopowe są zapisywane w formacie Pfile w katalogu */usr/g/mrraw*. Każda sesja skanowania spektroskopowego jest zapisywana w pojedynczym pliku Pfile, którego nazwa zaczyna się literą „P”, po czym następuje 5-cio cyfrowy kod oznaczający ten skan, a następnie typ pliku „.7”. Każdy taki plik zawiera:

- header – zawierający informacje o parametrach akwizycji danych,
- dane akwizycji – zawierające dane akwizycji danych - format integer 4 bity.

Po każdym badaniu pliki Pfile zostają przeniesione na wewnętrzny serwer znajdujący się na terenie CNSLab.

Program TermoM składa się z 2 elementów, z którego każdy służy do oddzielnych zastosowań:

- Aplikacji TermoM, która jest wykorzystywana do pobierania i wyświetlania pojedynczych widm, a następnie na podstawie podanych wcześniej danych kalibracyjnych obliczania temperatury na podstawie załadowanego i wyświetlonego widma.
- Serii skryptów stanowiących zaawansowaną wersję powyższego programu, które służą do:
 - Ładowania wielu plików z folderów podanych przez operatora;
 - Przeprowadzenia wstępnej obróbki wszystkich plików poprzednio załadowanych przez operatora;
 - Parametryzacji wybranych pików z widm po wstępnej obróbce.

Z powodu potrzeby grupowej analizy danych w tej pracy doktorskiej wykorzystywany był głównie drugi aspekt oprogramowania TermoM.

Pierwszym krokiem w opracowaniu dużej ilości danych jest pogrupowanie ich w folderach. W tym celu opracowano program **getSFFF** (get Spectro Files From Folders). Skrypt ten wskazuje lokalizację każdego pliku spektroskopii pochodzącego ze skanera GE w danym folderze. Aby poprawnie uruchomić program, należy podać:

- folder, w którym skrypt ma działać,
- wspólny mianownik występujący w nazwach folderów zawierających pliki,
- oczekiwaną liczbę plików w każdym z tych folderów.

W wyniku działania programu otrzymuje się ścieżki położenia plików spektroskopowych z folderów, których nazwy zawierają określony wspólny mianownik, w liczbie zadeklarowanej przy uruchomieniu skryptu. Dodatkowo, program generuje listę plików, które nie spełniają podanych kryteriów (tj. foldery zawierające więcej, mniej lub nie posiadające plików spektroskopowych).

5.3.2. Wstępna obróbka spektroskopowa - preProcess

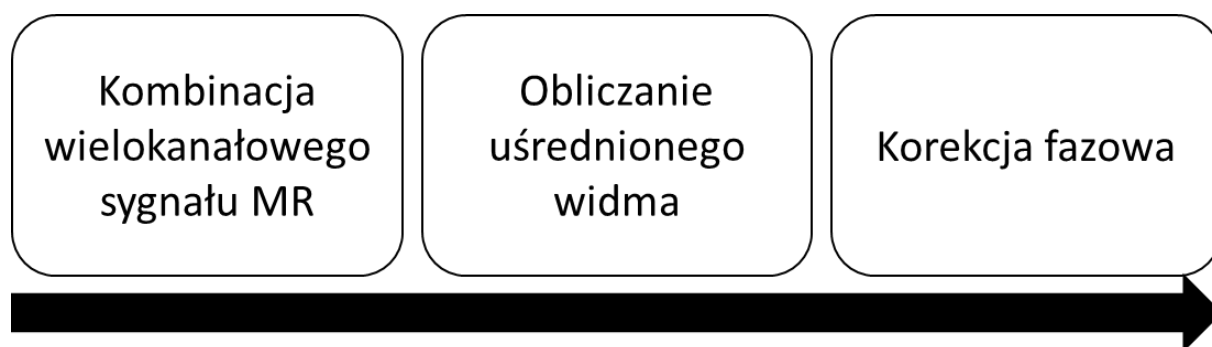
Kolejnym elementem jest wykorzystanie lokalizacji plików uzyskanych w poprzednim kroku do przeprowadzenia wstępnej obróbki spektroskopowej. Wstępna obróbka jest realizowana z użyciem następującego oprogramowania:

- FID-A (Jamie Near, McGill University 2014) - obróbka widm;
- Pfile26x (General Electric Company 2012) - wczytywanie nagłówka;
- własny skrypt "preprocess GE", który skupia się na wykorzystaniu funkcji z powyższych zbiorów oprogramowania w celu przeprowadzenia wstępnej obróbki

danych według najnowszej literatury na temat obróbki danych spektroskopowych [38] opisanej poniżej.

Widma otrzymane i przechowywane w formie plików dla systemu GE P-File zostały wczytywane, a następnie zostały one poddane wstępnej obróbce danych w następującej kolejności (Rys. 14):

1. Połączenie sygnałów MR pochodzących z 8 kanałów cewki RF: Sumacyjne widmo uzyskujemy poprzez ważone uśrednienie sygnałów zebranych przez poszczególne kanały cewki RF. W tym celu w widmie typu WU znajdujemy informacje na temat przesunięcia fazowego odpowiadającego każdemu z kanałów, a następnie na podstawie amplitud sygnałów z każdego kanału wykonujemy ważne uśrednienie dla każdego sygnału pochodzącego z kanałów cewki.
2. Wyliczanie widma uśrednionego: W celu zwiększenia stosunku sygnału do szumu uśredniamy widma zebrane po każdym pobudzeniu.
3. Korekcja fazowa: Polega na wyznaczeniu pików wody w widmie, wyznaczeniu jego wartości fazowej, a następnie dodanie do niego przesunięcia fazowego do momentu otrzymania pożądanej wartości przesunięcia fazowego w widmie określonego przez operatora (w przypadku tego oprogramowania ustalona wartość pożądana wynosiła 0).



Rysunek 14. Schemat wstępnej obróbki danych spektroskopowych zawierający w sobie kombinację sygnału z wielu kanałów cewek MR, wyliczanie widma uśrednionego z wielu pobudzeń w widmie spektroskopowym oraz korekcję fazową spektr. Praca własna.

Skrypt preProcess.m wykorzystuje podane położenia plików spektroskopowych, aby wykonać powyższą wstępną obróbkę danych, a następnie zapisać pliki w formie struktury zawierającej w sobie:

- Dane z widma typu WU,
- Dane z widma typu WS,
- Ścieżka dostępu do pliku,

- Dane nagłówkowe opisujące pliki spektroskopowe.

Tak zapisana struktura zapisywana jest dla każdego z podanych uprzednio plików i jest gotowa do przeprowadzenia na niej dalszej analizy danych.

Następnym elementem analizy jest wykorzystanie danych po wstępnej obróbce do parametryzacji pików w widmach. Przy pomocy funkcji `full_all_specLoad` wyznaczamy położenie pięciu pików z danych spektroskopowych:

- Cztery piki z widma typu WS:
 - Trzy piki metabolitów NAA, Kreatyny i Choliny,
 - Pik wody.
- Pik wody z widma typu WU.

W celu sparametryzowania tych pików, najpierw tworzony jest model pików z użyciem modelowania funkcją Lorentza z funkcją oznaczoną wzorem:

$$f(\omega) = \sqrt{\frac{2}{\pi}} \cdot \frac{\Gamma - i \cdot (\omega - \omega_0)}{\Gamma^2 + (\omega - \omega_0)^2}, \quad (37)$$

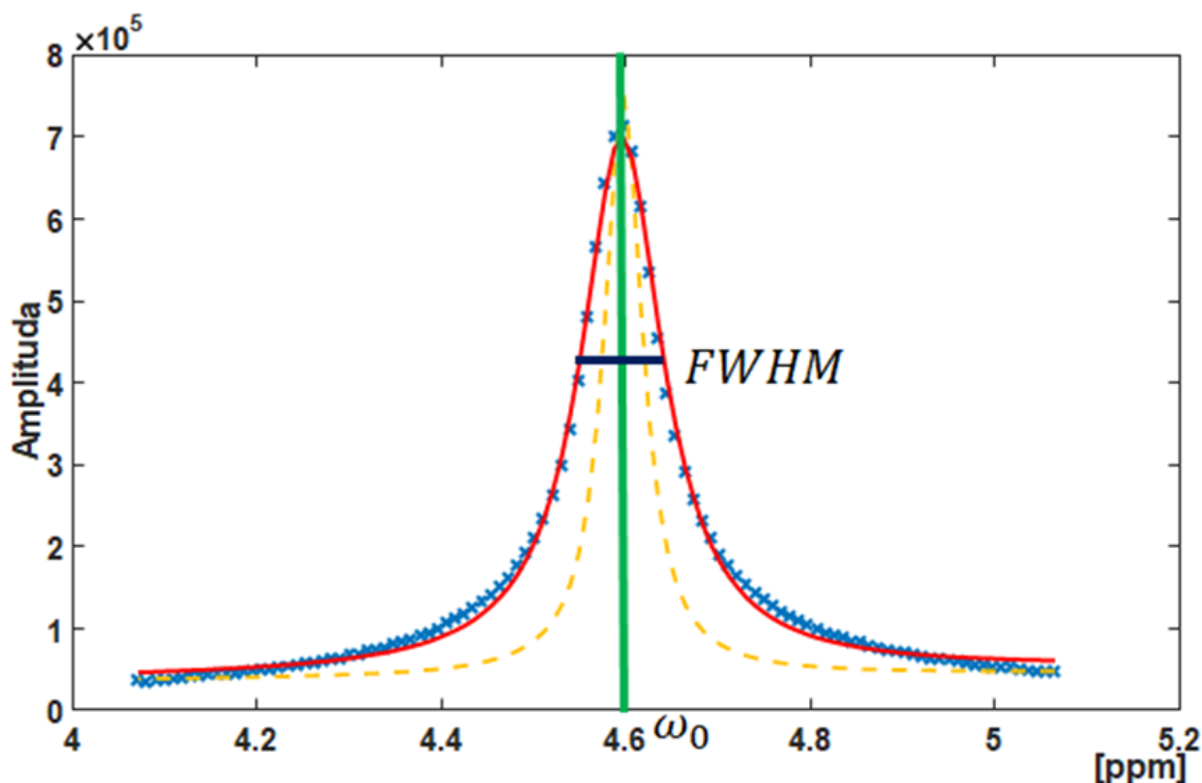
Gdzie,

$$\Gamma = \frac{FWHM}{\pi} \text{ (szerokość połówkowa/\pi),}$$

ω_0 — położenie maksimum pików [ppm],

ω – dziedziła częstotliwości, w przypadku pików wody zawiera się pomiędzy 4 a 5 ppm.

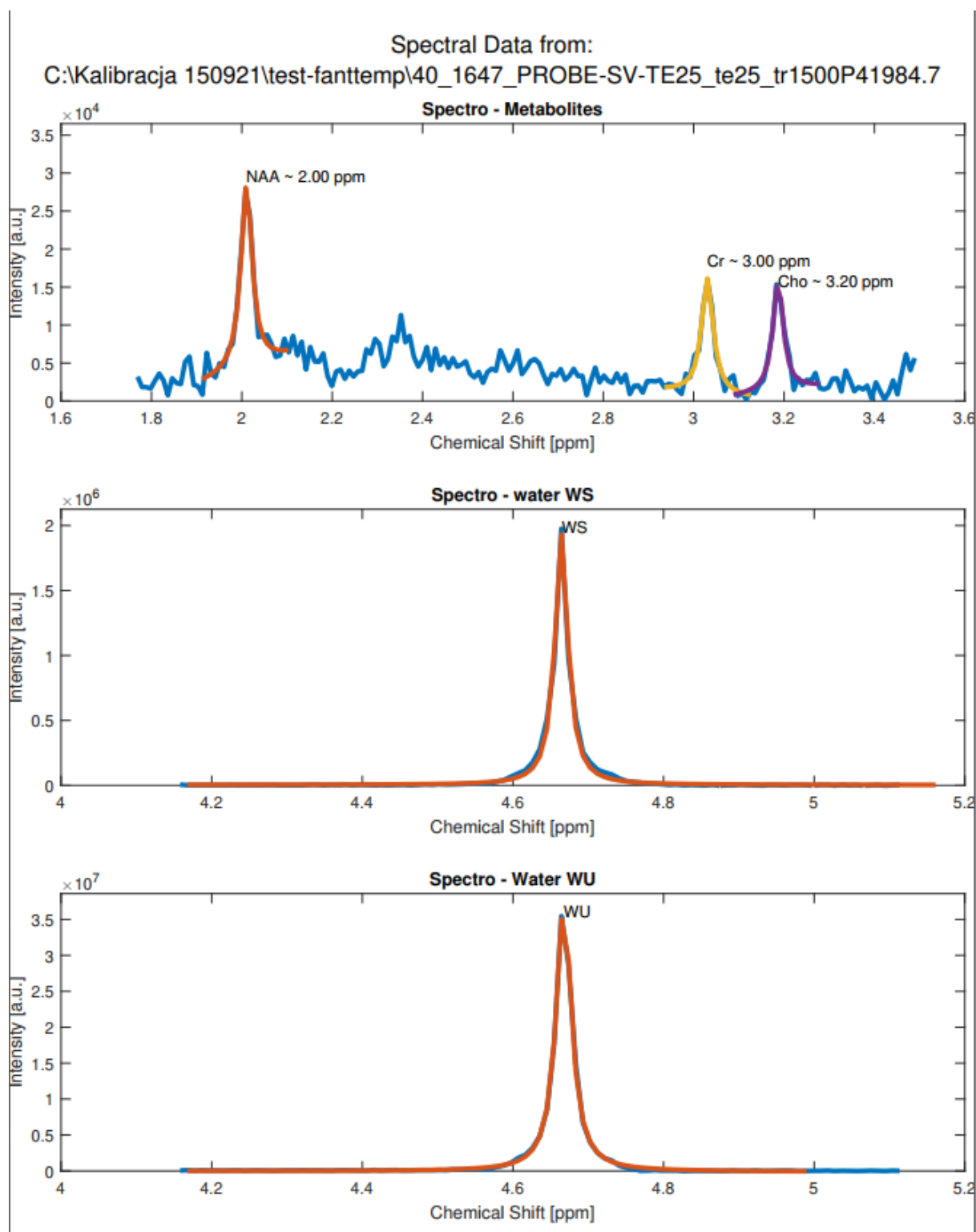
Używając nieliniowej regresji metodą najmniejszych kwadratów iteracyjnie porównujemy modelowy pik z danymi uzyskując końcowo sparametryzowaną funkcję Lorentza najlepiej dopasowaną do zgromadzonych danych (Rys. 15). Parametryzowane przez nas parametry to amplituda, położenie maksimum pików 0 oraz szerokość połówkowa pików FWHM.



Rysunek 15. Graficzne przedstawienie danych $\times$ modelowej funkcji Lorentza $-$ oraz sparametryzowanej funkcji dopasowanej Lorentza $-$.Praca własna.

Po otrzymaniu parametrów każdego z pików uporządkowane i ustrukturyzowane dane zostają dodane do wyjściowego pliku zawierające dane, który jest gotowy do analizy przy pomocy programów zewnętrznych jak Statistica lub Excel.

Ostatecznym krokiem jest otrzymanie przez nas raportu, który zawiera w sobie widma wraz z oznaczonymi pikami oraz dopasowaniami uzyskanymi w poprzednim etapie analizy. Program reportTermo zapisuje raport z danych uzyskanych podczas wstępnej obróbki i analizy, a następnie generuje obrazy widm z nakładającymi się dopasowaniami uzyskanymi podczas parametryzacji pików. Głównym celem tego procesu jest kontrola jakości widm. W ramach tego procesu otrzymujemy plik PDF zawierający ilustracje, z których każda strona zawiera oznaczenia źródła widma, a także trzy wykresy: pierwszy z oznaczonymi metabolitami, drugi z oznaczonym sygnałem wody z widma WS oraz trzeci z oznaczonym sygnałem wody z widma WU (Rys. 16).

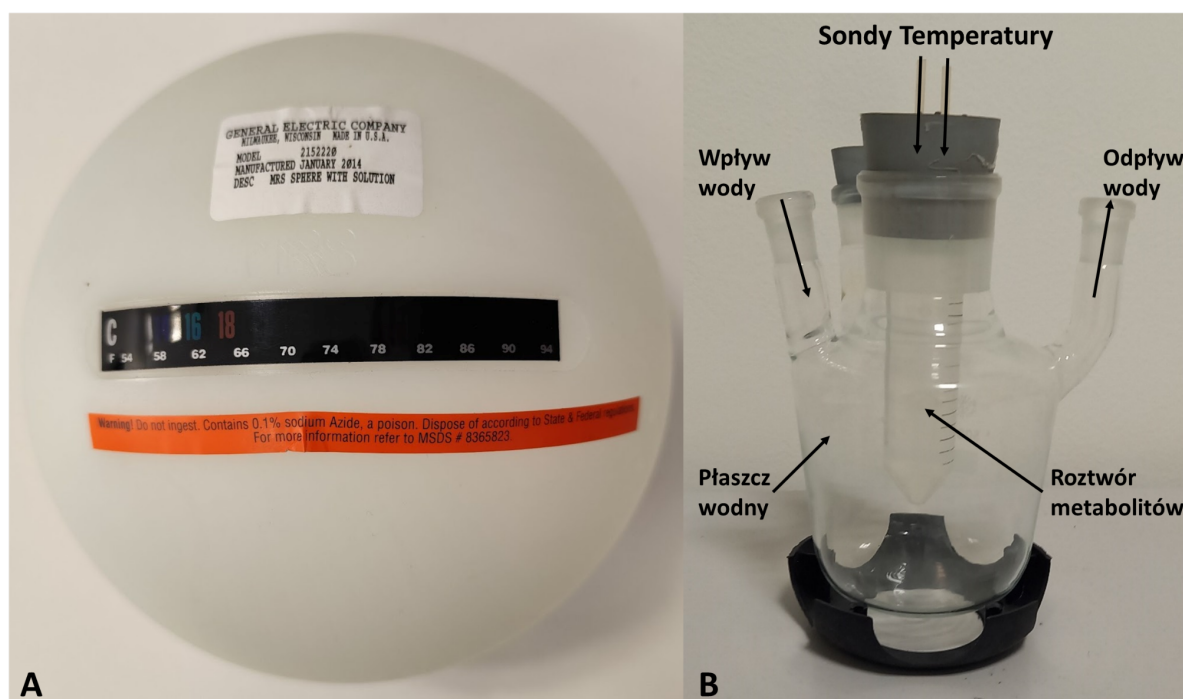


Rysunek 16. Przykładowa strona z pliku PDF pełniąca funkcję wstępnego raportu, jednocześnie stanowiąca kontrolę jakości przeprowadzonej analizy i widma uzyskanego we wcześniejszych etapach. Na tej stronie znajdują się informacje dotyczące pliku Pfile zawierającego danego widma. Przedstawione są 3 wykresy: (A) wykres zawierający dane z widma WS obrazujący położenie metabolitów w widmie: NAA (pomarańczowe), Cr (żółte), Cho (fioletowe). (B) Sygnał wody widoczny w widmie typu WS. (C) Sygnał wody widoczny w widmie typu WU. Praca własna.

4.2. Opracowanie fantomu i procedury kalibracyjnej do bezwzględnego pomiaru temperatury

4.2.1. Projekt Fantomu MRS

Fantom to obiekt, którego właściwości sygnału MR przypominają oryginalny przedmiot badania - w naszym przypadku mózg. W spektroskopii fantomy to pojemniki wypełnione substancjami chemicznymi występującymi w mózgu, często jednak wystarcza tylko ograniczona liczba cech, takich jak główne metabolity mózgu. Obecnie jedyne dostępne na rynku fantomy składają się z pojedynczego zbiornika wypełnionego roztworem wodnym z rozpuszczonymi w nim metabolitami, a jedyną metodą kontroli temperatury jest specjalny naklejany termometr z niską rozdzielczością pomiaru temperatury (Rys. 17 A).



Rysunek 17. A. Fantom GE Spectroscopy Braino zawierający 8 metabolitów, kontrast gadolinowy i azydek sodowy. Najlepiej termometr pozwala na zgrubną kontrolę temperatury fantomu. B. Kulisty szklany fantom używany do kontrolowanej cyrkulacji temperatury; pokazano pozycje sondy światłowodowej, związku organicznego i próbki (np. roztworu metabolitów). Praca własna.

Mając na uwadze to, że w badaniach nad termometrią MRS kontrola temperatury jest jednym z najważniejszych jej elementów, zaszła potrzeba wyprodukowania fantomu, który dawałby możliwość kontroli temperatury wewnątrz fantomu w środowisku skanera MR. Efektem prac był fantom pokazany powyżej (Rys. 17B). Składa się on z szklanej kolby 500mL z czterema otworami, która wypełniona wodą służy za płaszcz wodny. W dużym otworze umieszczona została probówka zawierająca 50 mL roztworu wodnego z kluczowymi metabolitami w stężeniach odpowiadających tym znajdującym się w mózgu człowieka -

dokładny opis poniżej. Na górze probówki został nakręcony specjalny gumowy korek w celu szczelnego umiejscowienia probówki w kolbie i uszczelnienia całego fantomu. Nakrętka i gumowy korek probówki zostały przewiercone aby otrzymać dwa otwory pozwalające na włożenie 2 sond temperaturowych. Z trzech mniejszych otworów w kolbie jedna została zamknięta specjalnym gumowym korkiem w celu użycia jako odpowietrzacz a pozostałe dwie zostały użyte jako dopływy i odpływy wody z kolby. Całość została dodatkowo uszczelniona parafilmem w celu zabezpieczenia skanera przed wyciekami wody z fantomu.

Próbka z roztworem jest wypełniona podstawowym roztworem zawierającym K₂HPO₄ (72 mM), KH₂PO₄ (28 mM), TSP (1 mM), mrówczanu sodu (20 mM) w podwójnie dejonizowanej wodzie o pH równym 7,0. W roztworze rozpuszczone zostały metabolity, których stężenia można znaleźć w tabeli 2 poniżej.

Tabela 2. Stężenia substancji zawartych w fantomie badawczym.

Substancja	Stężenie [mM]	Pełna nazwa
NAA	12,5	N-Acetyl-L-aspartic acid
Glu	12,5	L-Glutamic acid
Cr	10	Creatine anhydrous
mIns	7,5	myo-Inositol
Lac	5	Sodium L-lactate
Cho	3	Choline chloride

4.2.2. Opis zastosowanej procedury kalibracyjnej

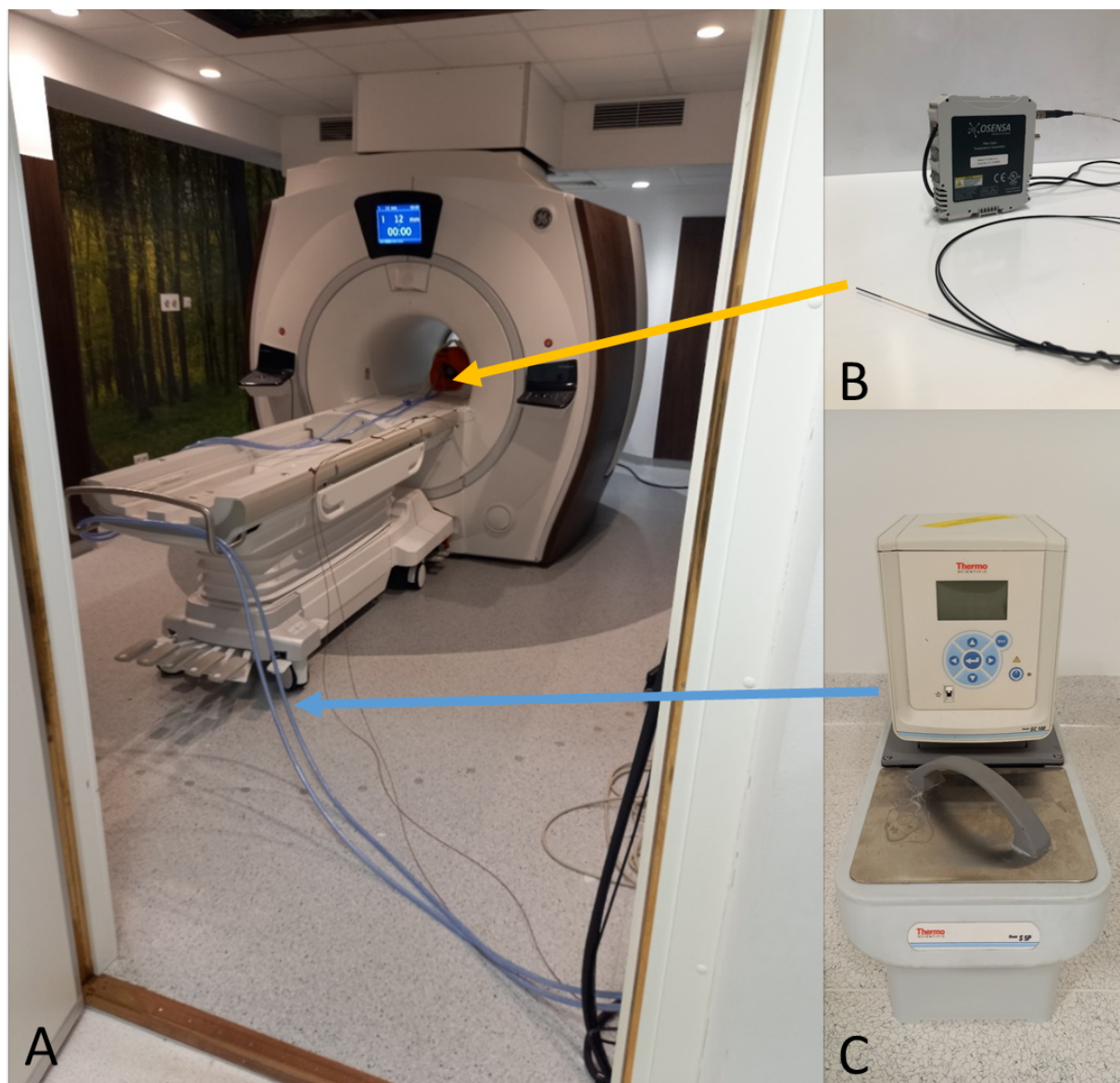
Badanie z udziałem fantomu zostało przeprowadzone używając 3T skanera MR firmy GE (GE Discovery 750w) wyposażonego w standardową 8 kanałową cewkę nadawczo-odbiorczą. Skaner znajduje się na terenie CNSLab Instytutu Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN w Warszawie. Sekwencje użyte w badaniu to:

- wysokorozdzielcza sekwencja strukturalna (Parametry: TR/TE = 6,936ms/2,968ms, macierz 256x256, woksel 1,0547 × 1,0547 × 1,2 mm³) - użyta w celu lokalizacji woksela w późniejszych sekwencjach
- spektroskopia pojedynczego woksela 1H-MRS PRESS (Parametry TR/TE 1500ms/30ms, pasmo danych 5kHz, 4096 punktów, NEX = 8, z 96 uśrednieniami w przypadku widm z tłumionym sygnałem wody i 16 uśrednieniami w przypadku widm z nietłumionym sygnałem wody) - użyta w celu zdobycia widm spektroskopowych typu WS i WU.

Fantom (Rys. 17B) został owinięty materiałem izolującym w celu zmniejszenia dyssypacji temperatury do otoczenia z fantomu. Następnie całość została umieszczona w cewce nadawczo odbiorczej wewnątrz skanera MR. Dwa elastyczne węże z polichlorku winylu (PCV) zostały podłączone do napływu i odpływu wody w fantomie (Rys. 18), a następnie zabezpieczone izolacją w celu zabezpieczenia skanera przed wyciekami wody. Dalej oba węże zostały poprowadzone do łaźni wodnej s5P z termostatem cyrkulującym Thermo Scientific SC100, która służyła do kontroli i stabilizacji temperatury wewnątrz skanera. Urządzenie to wyposażone jest w grzałkę, a zanurzony w zbiorniku z wodą sterownik pozwala na regulację temperatury z dokładnością do 0,1 °C. Rozwiązanie to pozwalało na ciągłą cyrkulację wody i kontrolę nad stanem termicznym próbówki znajdującej się wewnątrz fantomu. Przewody wodne zostały dodatkowo otulone warstwą izolacji w celu zabezpieczenia zmniejszenia uciekania temperatury do otoczenia. Wewnątrz skanera pomiar temperatury w fantomie był realizowany przy pomocy dwóch światłowodowych czujników temperatury OSENSA PRB-G40-2.0M-STM-MR umieszczonych wewnątrz próbówki. Czujniki te były połączone za pomocą przedłużaczy światłowodowych z przetwornikiem FTX-200-LUX+ (Rys. 18). Układ monitorujący został połączony przy pomocy kabla USB z komputerem, w którym odczyt temperatury odbywał się z użyciem dedykowanej aplikacji dostarczonej przez firmę OSENSA. Dokładność czujników zgodnie z podanymi danymi producenta wynosiła 0.1°C. Pomiar badawczy wyglądał następująco:

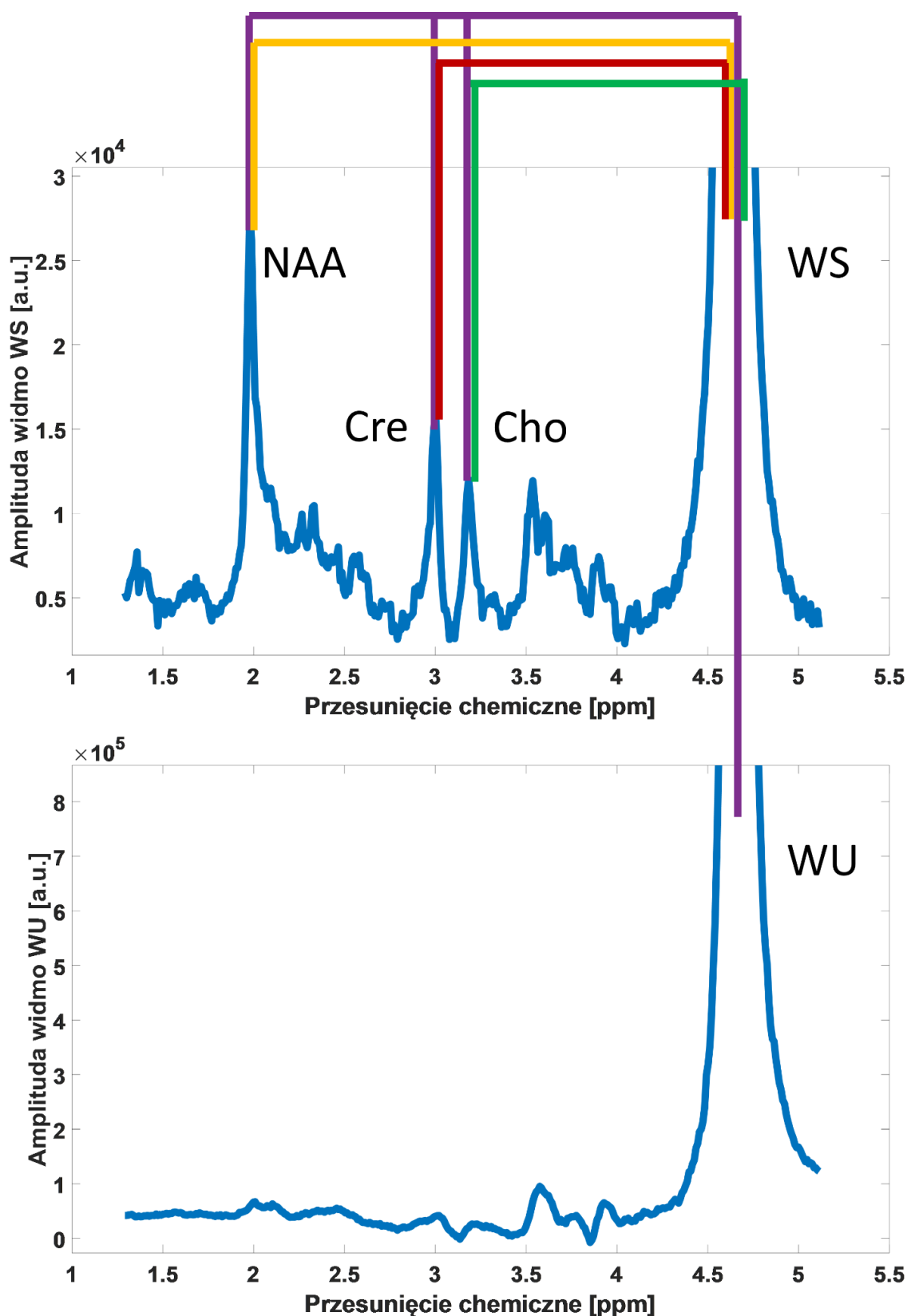
- Najpierw wykonano wysokorozdzielczą sekwencję strukturalną (opisaną w powyższym rozdziale) w celu określenia czy fantom został poprawnie umieszczony w skanerze, a także w celu poprawnego zlokalizowania woksela do pomiarów spektroskopowych.
- Woksel badany umieszczony został w środku próbówki blisko światłowodowych czujników temperatury.
- Następnie uruchomiona została łaźnia wodna, która zaczęła podgrzewać wodę i transportować ją do fantomu w celu podgrzania próbówki wewnątrz fantomu.
- Pomiary spektroskopowe przeprowadzono gdy roztwór wodny wewnątrz fantomu osiągał stabilną temperaturę na jedenastu różnych poziomach w zakresie od 31,5 °C do 39,5 °C. Minimum 20 minut było przeznaczonych na ustabilizowanie się temperatury na wybranym poziomie temperatury. Średnia fluktuacja temperatury podczas każdego pomiaru wynosiła zawsze nie więcej niż 0.02°C. Aby jak najbardziej zmniejszyć dryft temperatury w fantomie cyrkulacja wody była utrzymywana przez cały czas badania w skanerze.
- Na każdym z poziomów temperaturowych wykonywanych zostało pięć pomiarów spektroskopowych (specyfikacja w rozdziale powyżej).

- Po akwizycji sygnałów dane spektroskopowe zostały przeniesione na lokalną stację roboczą w celu dalszej analizy danych.



Rysunek 18. Skaner GE z fantomem umieszczonym w cewce nadawczo odbiorczej (Zdjęcie A.). Fantom podłączony jest do przepływu wody przy pomocy dwóch rur pcv doprowadzających i odprowadzających wodę (niebieskie rury) do łaźni wodnej Thermo pozwalająca na kontrolę temperatury (Prawy dolny róg, niebieska strzałka, zdjęcie C). Temperatura w fantomie mierzona jest przy pomocy dwóch światłowodowych sond temperaturowych, doprowadzonych do skanera (brązowe kable) do przetwornik firmy Osensa (Prawy górny róg, żółta strzałka, zdjęcie B). Praca własna.

Przetwarzanie wstępne, dopasowanie kształtu linii oraz przetwarzanie końcowe zostały przeprowadzone za pomocą naszego autorskiego, zautomatyzowanego oprogramowania opartego na FID-A [49]. Zgodnie z najnowszym konsensusem dotyczącym przetwarzania danych MRS [102], proces przetwarzania wstępnego obejmował transformację Fouriera danych, kombinację cewek RF, uśrednianie sygnałów oraz korekcję fazową. Do dalszych analiz w pracy używano tylko pików wody, NAA, Cre i Cho. Na końcu sygnały metabolitów NAA, Cre i Cho znalezionych w widmie typu WS oraz piki wody z widm typu WS i WU zostały przetworzone wykorzystując modelowanie linii Lorentzowskich. W rezultacie otrzymano amplitudę, szerokość połówkową pików oraz położenie centrum każdego z badanych pików. Przy użyciu modelowania regresji liniowej oszacowano zależność między przesunięciem chemicznym różnic pomiędzy położeniem pików NAA, Cre i Cho z widm typu WS, a położeniem pików wody z widm WS i WU w funkcji mierzonej temperatury w fantomie (Rysunek 19). Co pozwoliło na wygenerowanie sześciu funkcji kalibracyjnych liniowej regresji.



Rysunek 19. Przykładowe widma z fantomu. Na górze widmo typu WS z częściowo tłumionym pikiem wody (WS), gdzie widoczne są istotne dla nas piki N-acetyloasparagianu (NAA), Kreatyny (Cre) i Choliny (Cho). Na dole widmo typu WU z nietłumionym sygnałem wody (WU) w widmie brak widocznych pików metabolitów. Fioletowe linie przedstawiają połączenie pików metabolitów z widma WS z pikiem wody z widma WU. Linie żółta, pomarańczowa i zielona oznaczają połączenia metabolitów z widma WS z pikiem wody z widma WS. Praca własna.

4.3. Pomiary temperatury mózgu in vivo

4.3.1. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę

Zrozumienie wpływu temperatury na procesy biochemiczne ma ogromne znaczenie, ze względu na jej fundamentalną rolę w środowisku. Związek między temperaturą a neuronalnymi, poznawczymi i behawioralnymi aspektami człowieka nie został wystarczająco zbadany, głównie z powodu inherentnych ryzyk związanych z inwazyjnymi technikami pomiaru temperatury mózgu. W niniejszym badaniu pierwotnie zamierzano pierwotnie wykorzystać połączenie MRS-t i MRI w celu zbadania interakcji między temperaturą mózgu, wydajnością pamięci operacyjnej i aktywacją mózgu. W niniejszej pracy omawiana jest jedynie temperatura mózgu uzyskana w ramach tego badania, jak również wpływ długotrwałego przebywania w skanerze MR na temperaturę mózgu. Badanie to było częścią fundowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju grantu nr. POIR-01.01.01-00-178/15.

W badaniach in vivo zostało zrekrutowanych 146 zdrowych osób dorosłych, które były praworęczne. Ich średni wiek wynosił 28 lat z odchyleniem standardowym (SD) 6 lat, a przedział wiekowy 24-45 lat. Spośród tych uczestników 69 stanowiły kobiety. Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami etycznymi dotyczącymi badań medycznych z udziałem ludzi i uzyskano zgodę lokalnej komisji etycznej. Wszyscy ochotnicy wyrazili świadomą zgodę po szczegółowym wyjaśnieniu procedur badania i ryzyka. Aby zapewnić bezpieczeństwo uczestnikom, przed przystąpieniem do badania w formie wywiadu weryfikowano potencjalne przeciwwskazania do badania MRI, takie jak implanty ślimakowe, fragmenty metalu w oku lub głowie oraz rozruszniki serca.

Badania in vivo wykonywane były w godzinach pomiędzy 8 a 16. Przed i po badaniu trzykrotnie rejestrowano temperaturę w prawym uchu za pomocą termometru dousznego na podczerwień (Braun ThermoScan® 3). Podczas badania osoby badane były wygodnie ułożone wewnątrz skanera, z głową umieszczoną centralnie w cewce i podpartą wyściółką i pianką, aby zminimalizować ruch w dowolnej płaszczyźnie. Badanym zapewniono zatyczki do uszu. Badanie zostało wykonane przy użyciu skanera 3-T GE (GE Discovery 750w) ze standardową 8-kanalową cewką nadawczo/odbiorczą. Temperaturę pokojową i oświetlenie utrzymywano na stałym poziomie 20,5°C (odchylenie standardowe [SD] $\pm$ 0,5°C). Strukturalną sekwencję MRI o wysokiej rozdzielczości (TR/TE = 6936ms/2968ms, macierz 256x256, woksel $1,0547 \times 1,0547 \times 1,2$ mm³) uzyskano po standardowym dopasowaniu w celu poprawy lokalizacji wokseli. Widma 1H-MRS pojedynczego wokseli (PRESS) uzyskano z VOI (20 × 20 × 20 mm³) zlokalizowanego w prawym dolnym płątku

ciemieniowym (rIPL). (Rys. 20) Tak duży VOI zapewniał rozsądny stosunek sygnału do szumu w celu uzyskania wystarczającego sygnału 1H-MRS do dalszego przetwarzania danych. Parametry sekwencji PRESS wynosiły TR=1500ms, TE=30ms, szerokość pasma 5kHz, 4096 punktów, NEX=8, z 96 uśrednieniami i czasem skanowania 3 minuty. Proces tłumienia wody został zrealizowany przez zautomatyzowany moduł CHESS [23] wbudowany w ogólnodostępną sekwencję GE PRESS. Przed każdą sekwencją skanowania MRS wykonywany był skan kalibracyjny bez tłumienia sygnału wody z parametrami identycznymi jak skan diagnostyczny (z jedyną zmianą, że ilość uśrednień wynosi 16 zamiast 96).



Rysunek 20. Położenie woksela badanego w badaniu in vivo położony w prawym dolnym płatku ciemieniowym (rIPL). Praca własna.

Podczas badań in vivo po pierwszej sekwencji skanowania MRS wykonano sześć funkcjonalnych skanów MRI (fMRI), stosujących sekwencję obrazowania echa planarnego ważonego gradientem t_2^* (TR = 2500 ms, TE - 25 ms, woksel $3 \times 3 \times 3$ mm³). Podczas pierwszych dwóch skanów, z którego każdy trwał 5 minut 50 sekund, badani wykonywali zadanie testujące antycypacyjną uwagę (ATT) [103], podczas gdy w ostatnich czterech skanach zadanie N-Back [104], gdzie każdy skan trwał 4 minuty i 25 sekund - łącznie skany fMRI trwały około 30 minut. Po skanach funkcjonalnych przeprowadzono drugi skan PRESS z tymi samymi parametrami.

Przeprowadzono kompleksowe przetwarzanie danych przy użyciu zaawansowanego, autorskiego oprogramowania opartego na FID-A [49] opisanego w rozdziale 5. Zgodnie z najnowszymi zaleceniami dotyczącymi przetwarzania danych MRS [102], proces przetwarzania wstępnego obejmował transformację Fouriera danych, korektę fazową, kombinację cewek RF oraz uśrednianie sygnałów. W dalszej analizie uwzględniono jedynie sygnały wody, NAA, Cre i Cho, które jako najintensywniejsze zostały wybrane spośród otrzymanych sygnałów.

Następnie, sygnały metabolitów NAA, Cre i Cho, znajdujące się w widmach typu WS, wraz z sygnałami wody z widm typu WS i WU, poddano przetwarzaniu przy użyciu modelowania linii Lorentzowskich. W wyniku tego procesu określono amplitudę, szerokość połówkową pików oraz położenie centrum pików dla każdego z analizowanych sygnałów. W

przypadku kiedy końcowe dane spektroskopowe były złej jakości osoba badana była usuwana z dalszej analizy.

Kolejnym krokiem było obliczenie temperatury na podstawie badań kalibracyjnych opisanych we wcześniejszych rozdziałach.

4.3.2. Pomiary temperatury w zmianach nowotworowych

Zmiany nowotworowe w mózgu stanowią poważne wyzwanie dla medycyny i pacjentów na całym świecie. Nowotwory mózgu są niezwykle złożonymi i różnorodnymi chorobami, które rozwijają się w tkankach mózgu lub w jego otoczeniu. W tym badaniu głównym celem było zidentyfikowanie obszarów elokwentnych mózgu w ramach przygotowania do chirurgicznego usunięcia nowotworu przez chirurga. Do protokołu dodano dwa pomiary spektroskopii ^1H MRS. Z uzyskanych w badaniu widm spektroskopii zmiany i jej kontralateralnej części chciałem zbadać czy wykorzystując technikę MRS termometrii udałoby się zreplikować badania przeprowadzone przez Babourina-Brooks z 2014 roku opisanych w sekcji o literaturze [15].

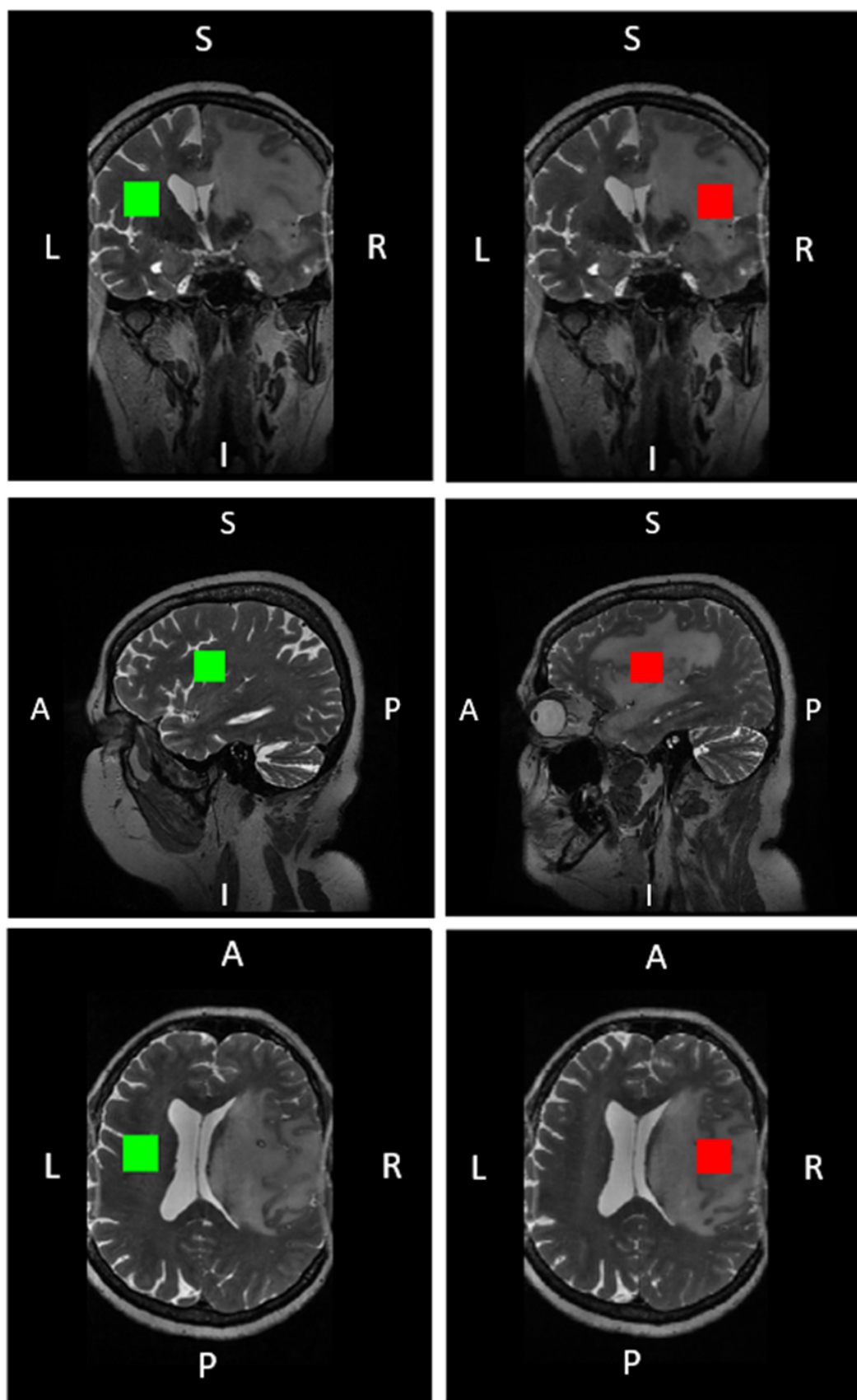
Do badania zrekrutowano 9 pacjentów ze zmianami nowotworowymi w mózgu. Średnia wieku pacjentów wynosiła 36,4 lat z odchyleniem standardowym (SD) 9 lat, wiek pacjentów mieścił się pomiędzy 22 a 50 lat. Spośród tych pacjentów 5 było kobietami. Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami etycznymi dotyczącymi badań medycznych z udziałem ludzi i uzyskano zgodę lokalnej komisji etycznej. Wszyscy ochotnicy wyrazili świadomą zgodę po szczegółowym wyjaśnieniu procedur badania i ryzyka. Aby zapewnić bezpieczeństwo uczestnikom, przed przystąpieniem do badania w formie wywiadu weryfikowano potencjalne przeciwwskazania do badania MRI, takie jak implanty ślimakowe, fragmenty metalu w oku lub głowie oraz rozruszniki serca.

Badanie wykonywane było w godzinach pomiędzy 8 a 15. Podczas badania osoby badane były wygodnie umieszczone wewnątrz skanera, z głową umieszczoną centralnie w cewce i podpartą wyściółką i pianką, aby zminimalizować ruch w dowolnej płaszczyźnie. Badaniem zapewniono zatyczki do uszu. Badanie zostało wykonane przy użyciu skanera 3-T GE (GE Discovery 750w) ze standardową 8-kanalową cewką nadawczo/odbiorczą. Temperaturę pokojową i oświetlenie utrzymywano na stałym poziomie $20,5^{\circ}\text{C}$ (odchylenie standardowe [SD] $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Struktura badania wyglądała następująco: Po pierwszych skanach lokalizacyjnych, ustawiano wysokorozdzielczą sekwencję strukturalną obrazowania T1 (TR/TE = 6936ms/2968ms, macierz 256x256, woksel $1,0547 \times 1,0547 \times 1,2 \text{ mm}^3$), następnie przeprowadzono sekwencję strukturalną sekwencję T2 zależną (TR/TE = 2500ms/83,816ms, macierz 512x512, woksel $0,4688 \times 0,4688 \times 1,2 \text{ mm}^3$). Te dwie sekwencje służyły do identyfikacji obszarów zmienionych w wyniku procesu chorobowego w mózgach każdego z pacjentów. Następnie w celu identyfikacji obszarów elokwentnych

przeprowadzane były badania fMRI stosujące sekwencję obrazowania echa planarnego ważonego gradientem t_2^* (TR = 2500 ms, TE = 25 ms, woksel $3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$) ustalone w zależności od tego gdzie zmiana zachodziła u pacjenta. Podczas każdego z tych skanów pacjenci wykonywali zadania wymagające od nich konkretnych czynności wpływających na ich korę rozpoznawania mowy i ruchu. Wyniki z tych badań przedstawiane później były chirurgowi w celu rozpoznania istotnych obszarów działania w mózgu pacjenta przed planowaną operacją. Następną sekwencją była sekwencja DTI (TR/TE = 9050ms/95,4ms, macierz 256x256, woksel $1,3672 \times 1,3672 \times 2,7 \text{ mm}^3$).

Na koniec były wykonywane 2 skany 1H-MRS pojedynczego woksela (PRESS) z VOI ($20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$) zlokalizowanym odpowiednio w zmianie nowotworowej (Rys. 21) i po stronie kontralateralnej w mózgu pacjenta (Rys. 21). Skany PRESS były wykonywane przy pomocy 2 sekwencji. W przypadku 3 pacjentów sekwencja PRESS była wykonywana z parametrami TR = 1500ms, TE = 35ms, szerokość pasma 5kHz, 4096 punktów, NEX=8, z 96 uśrednieniami w przypadku widma tłumionego i 16 uśrednieniami w przypadku nietłumionego widma. W przypadku 6 pacjentów sekwencja PRESS była wykonywana z parametrami TR = 2000ms, TE = 35ms, szerokość pasma 5kHz, 4096 punktów, NEX = 8, z 32 uśrednieniami w widmie typu WS i 8 uśrednieniami w widmach typu WU. W obydwu przypadkach tłumienie sygnału wody było realizowane przez zautomatyzowany moduł CHESS [23] dostępny w sekwencjach GE.

Podobnie jak w poprzednim badaniu wykonano kompleksowe przetwarzanie danych przy użyciu zaawansowanego, autorskiego oprogramowania opartego na FID-A [49]. Zgodnie z najnowszymi zaleceniami dotyczącymi przetwarzania danych MRS [102], proces przetwarzania wstępnego obejmował transformację Fouriera danych, korektę fazową, kombinację cewek RF oraz uśrednianie sygnałów. W dalszej analizie skupiono się tylko na sygnałach wody, NAA, Cre i Cho, które jako najwidoczniejsze zostały wybrane spośród otrzymanych sygnałów. Następnie, sygnały metabolitów NAA, Cre i Cho, występujące w widmach typu WS wraz z pikami wody z widm WS i WU, zostały poddane przetwarzaniu przy użyciu modelowania linii Lorentzowskich. W wyniku tego procesu otrzymano amplitudę, szerokość połówkową pików oraz położenie centrum dla każdego z analizowanych pików. W przypadku kiedy końcowe dane spektroskopowe były złej jakości osoba badana była usuwana z dalszej analizy. W końcowej analizie zostało 6 osób. Powyższe dane zostały wykorzystane do obliczenia temperatury w tkance zmienionej i zdrowej korzystając z wyników badań kalibracyjnych na fantomie.

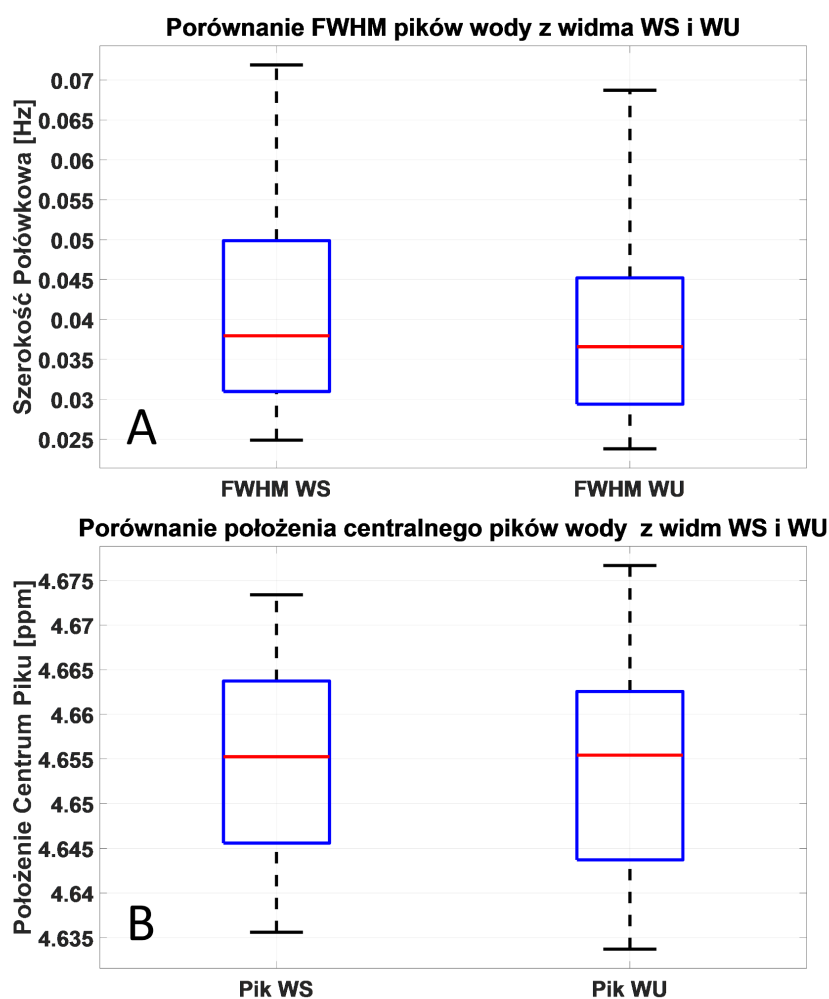


Rysunek 21. Przykład rozmieszczenia dwóch wokseli w badaniach in vivo mózgu zobrazonego w sekwencji T2. Po lewej przedstawiono wksel w kolorze zielonym, umieszczony kontralateralnie do zmiany, a po prawej wksel w kolorze czerwonym, zlokalizowany w obszarze zmiany. Praca własna.

5. Wyniki badań własnych

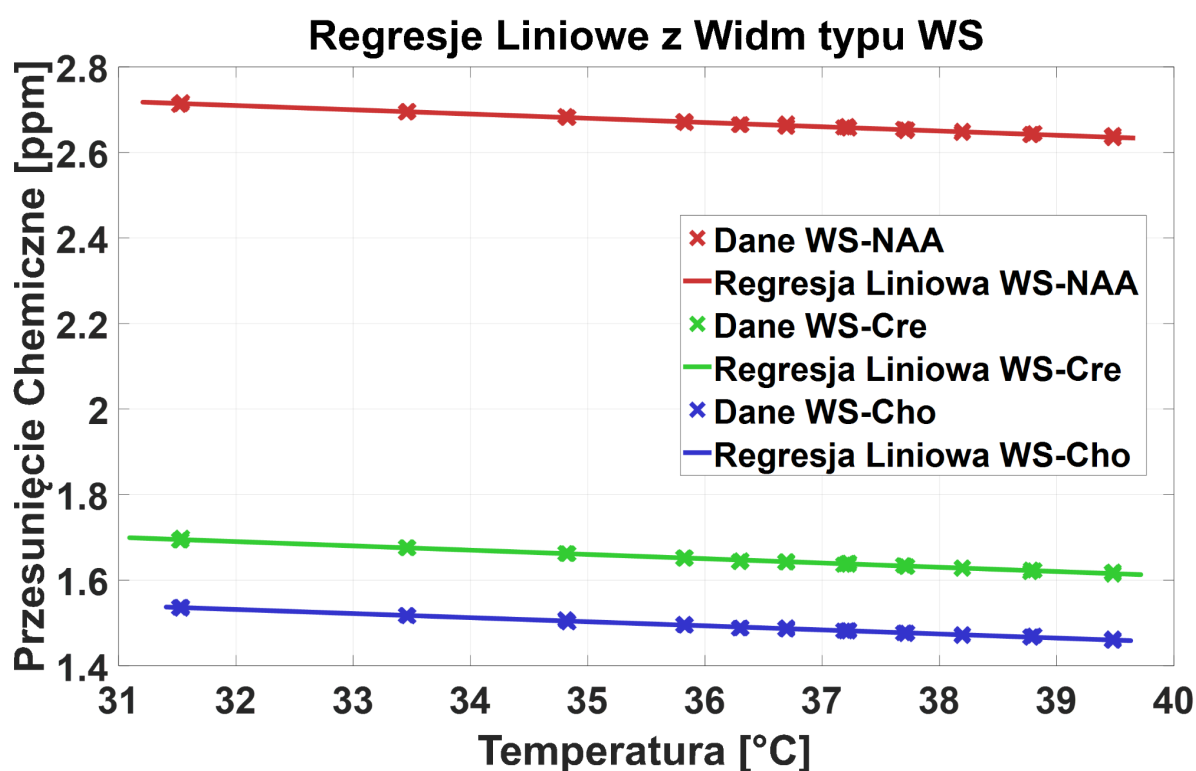
5.1. Przetwarzanie i analiza danych z fantomu MRS

Zgodnie z opisem zawartym w rozdziale 4.2, przeprowadzono badania kalibracyjne, w wyniku których uzyskano 55 widm typu WS i WU. Po przeprowadzeniu kontroli jakości do końcowej analizy zakwalifikowano 53 widma. Dane z widm porównujące piki wody z widm typu WU i WS wykazały średnie tłumienie sygnału wody na poziomie 95,72% w widmach WS. Średnia szerokość połówkowa pików wody z widm WS była znacząco wyższa niż z widm WU (średnia WS = 0,0408 Hz, SD = 0,0119 Hz, w porównaniu z WU = 0,0393 Hz, SD = 0,0112 Hz, $p < 0,005$). Dane były silnie skorelowane ($r = 0,96$, $p < 0,001$). Chociaż średnie położenia częstotliwości centralnej pików wody w widmie WS nie różniły się istotnie od położenia pików w widmie WU (średnia WS = 4,6538 ppm, SD = 0,0106 ppm, w porównaniu do WU = 4,6541 ppm, SD = 0,0114 ppm, $p = 0,53$) patrz Rys. 22.

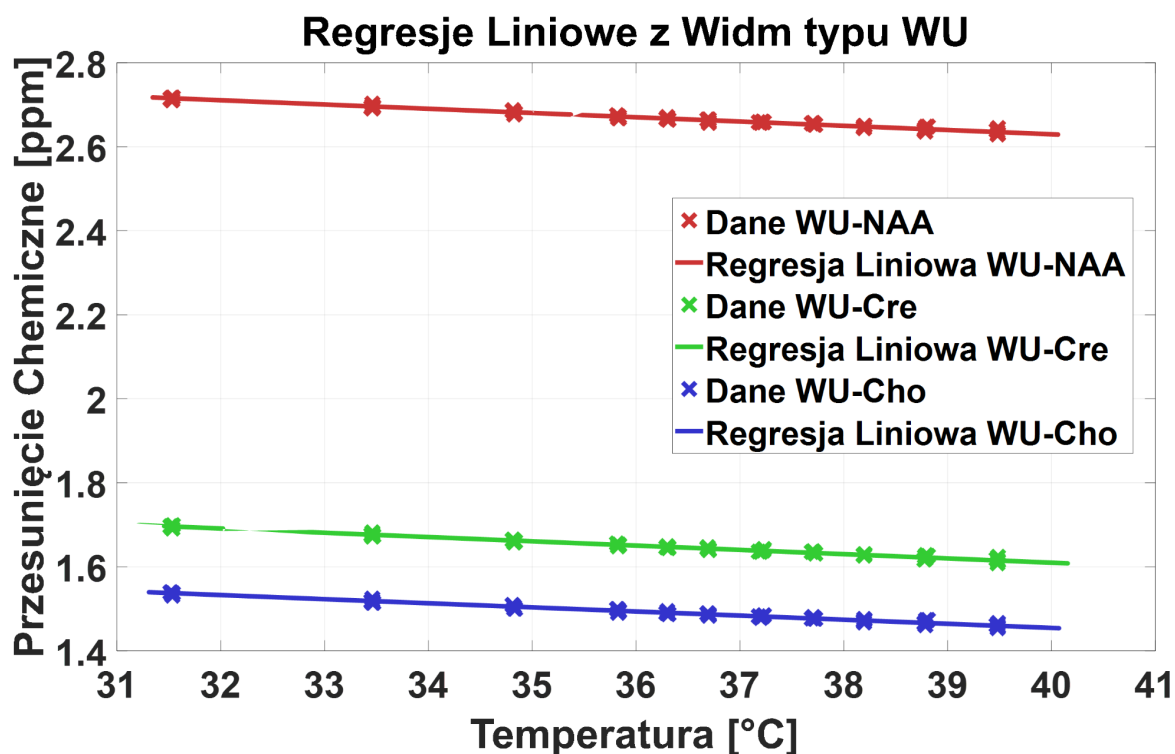


Rysunek 22. Porównanie danych fantomowych: (a) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (b) położenia piku centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.

Zebrano jedenaście zestawów danych z pomiarów temperatury od 31,5 °C do 39,5 °C. Zależności pomiędzy temperaturą a przesunięciem chemicznym metabolitów oszacowano za pomocą analizy regresji liniowej i otrzymano sześć współczynników regresji: trzy z nich wykorzystujące sygnał wody z widma typu WS wraz z jednym z metabolitów NAA, Kreatyną lub Choliną z widm typu WS (Rys. 23); trzy z nich wykorzystując sygnał wody z widma typu WU wraz z jednym z metabolitów NAA, Kreatyną lub Choliną z widma typu WS (Rys 24). Każda regresja dała doskonałe współczynniki korelacji (Tabela 3).



Rysunek 23. Wyniki kalibracji. Porównanie liniowych regresji korzystających z różnic pomiędzy położeniem pików wody z widma WS a pikami każdego z trzech metabolitów referencyjnych: NAA (czerwony), Kreatyną (zielony) i Choliną (niebieski) od zmierzonej temperatury w fantomie. Punkty oznaczają dane pomiarowe, a linie modele regresji liniowej. Wyniki zostały wykorzystane do wyznaczenia równań kalibracyjnych, ponieważ temperatura fantomu była znana. Praca własna.



Rysunek 24. Wyniki kalibracji. Porównanie liniowych regresji korzystających z różnic pomiędzy położeniem pików wody z widma WU a pikami każdego z trzech metabolitów referencyjnych: NAA (czerwony), Kreatyną (zielony) i Choliną (niebieski) od zmierzonej temperatury w fantomie. Punkty oznaczają dane pomiarowe, a linie modele regresji liniowej. Wyniki zostały wykorzystane do wyznaczenia równań kalibracyjnych, ponieważ temperatura fantomu była znana. Praca własna.

Tabela 3. Parametry współczynników (nachylenie prostej (α), punkt przecięcia z osią y (β)) kalibracyjnych regresji liniowej uzyskanej z danych kalibracyjnych. Parametry uzyskane dla relacji pomiędzy położeniem pików wody z widma WS lub pików wody z widma WU a metabolitami NAA (WS-NAA, WU-NAA), Kreatyny (WS-Cr, WU-Cr) i Choliny (WS-Cho, WU-Cho).

Metabolity Δ	α (°C/ppm)	β (°C)	R^2
WS-NAA	-101,08	305,15	0,99
WS-Cr	-100,01	201,04	0,99
WS-Cho	-104,74	192,41	0,99
WU-NAA	-98,74	299,66	0,99
WU-Cr	-98,26	198,18	0,99
WU-Cho	-102,27	188,75	0,99

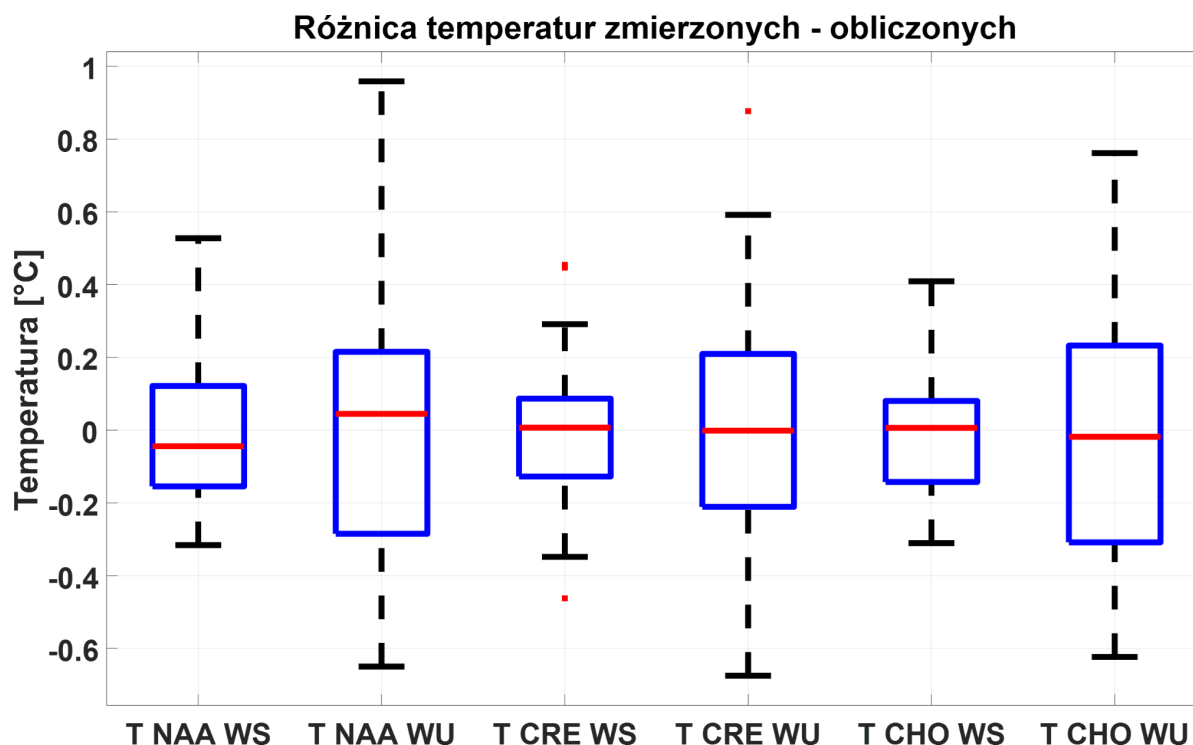
Zgodnie z rozdziałem 3.2. dane kalibracyjne zawarte w tabeli 3 zostały przetransformowane zgodnie ze wzorem (39) zmodyfikowanym w formę wzoru poniżej (44) i zawarte w tabeli 4.

$$T(^{\circ}C) = 36,7 + A \cdot (\delta_{W-M} - F0_{ref}) \quad (44)$$

Tabela 4. Współczynniki wyliczone dla wzoru 44 wraz z niepewnościami (nachylenie prostej (α), wartość różnicy przesunięcia chemicznego pomiędzy pikiem wody z widm WS lub WU i wybranego metabolitu (NAA, Cre lub Cho) dla temperatury $36,7^{\circ}C$ ($F0_{ref}$)). Parametry uzyskane dla relacji pomiędzy położeniem pików wody z widma WS (WS-metabolit) lub pików wody z widma WU (WU-metabolit) a metabolitami NAA, Kreatyna i Cholina. Przykładowo WS-NAA oznacza różnicę przesunięć chemicznych pomiędzy pikiem wody z widma WS i pikiem NAA.

Metabolity Δ	A ($^{\circ}C/ppm$)	$F0_{ref}$ (ppm)	R ²
WS-NAA	-101,081($\pm 1,2768$)	2,6631($\pm 0,00077$)	0,99
WS-Cre	-100,01($\pm 1,0740$)	1,6433($\pm 0,00073$)	0,99
WS-Cho	-104,74($\pm 1,1031$)	1,4868($\pm 0,00069$)	0,99
WU-NAA	-98,74($\pm 2,1561$)	2,6633($\pm 0,00093$)	0,99
WU-Cre	-98,26($\pm 1,9007$)	1,6435($\pm 0,00079$)	0,99
WU-Cho	-102,27($\pm 2,2630$)	1,4870($\pm 0,00076$)	0,99

Porównując temperatury zmierzone w fantomie za pomocą sondy temperatury do temperatur obliczonych za pomocą wzoru 44 ze współczynnikami zawartymi w tabeli 4 otrzymano różnicę temperatur przedstawioną na Rys. 25. Niepewności pomiarowe wyznaczone dla danych obliczonych z fantomu zawierały się na średnim poziomie dla uT NAA WS $\pm 0,1545^{\circ}C$, uT NAA WU $\pm 0,1645^{\circ}C$, uT CRE WS $\pm 0,1505^{\circ}C$, uT CRE WU $\pm 0,1613^{\circ}C$, uT CHO WS $\pm 0,1613^{\circ}C$, uT CHO WU $\pm 0,1676^{\circ}C$. Spośród 6 metod na podstawie odchylenia standardowego różnicy temperatury sonda vs obliczenia można określić, że najbardziej skupioną jest metoda wykorzystująca WS-Cre oraz WS-Cho ($0,17^{\circ}C$) do pomiaru temperatury, następnie WS-NAA ($0,21^{\circ}C$). Wśród metod wykorzystujących WU, najlepiej sprawdzała się WU-Cre ($0,32^{\circ}C$), następnie WU-NAA ($0,35^{\circ}C$) a najmniej WU-Cho ($0,36^{\circ}C$).

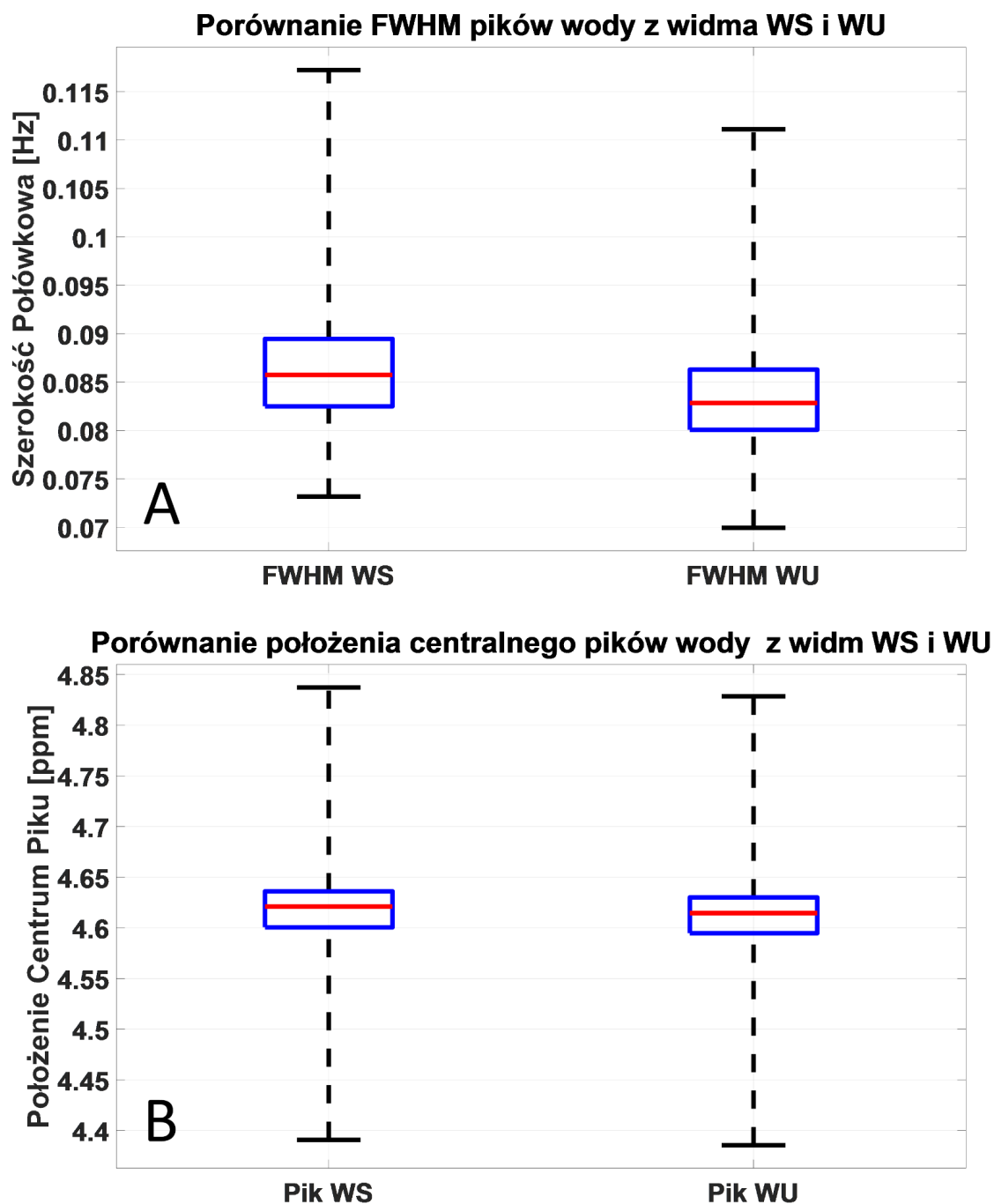


Rysunek 25. Różnica temperatury pomiędzy temperaturą zmierzoną w fantomie za pomocą sond temperaturowych, a temperaturą zmierzoną z widm typu WS i WU za pomocą obliczonych funkcji kalibracyjnych. Praca własna.

5.2. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę mózgu

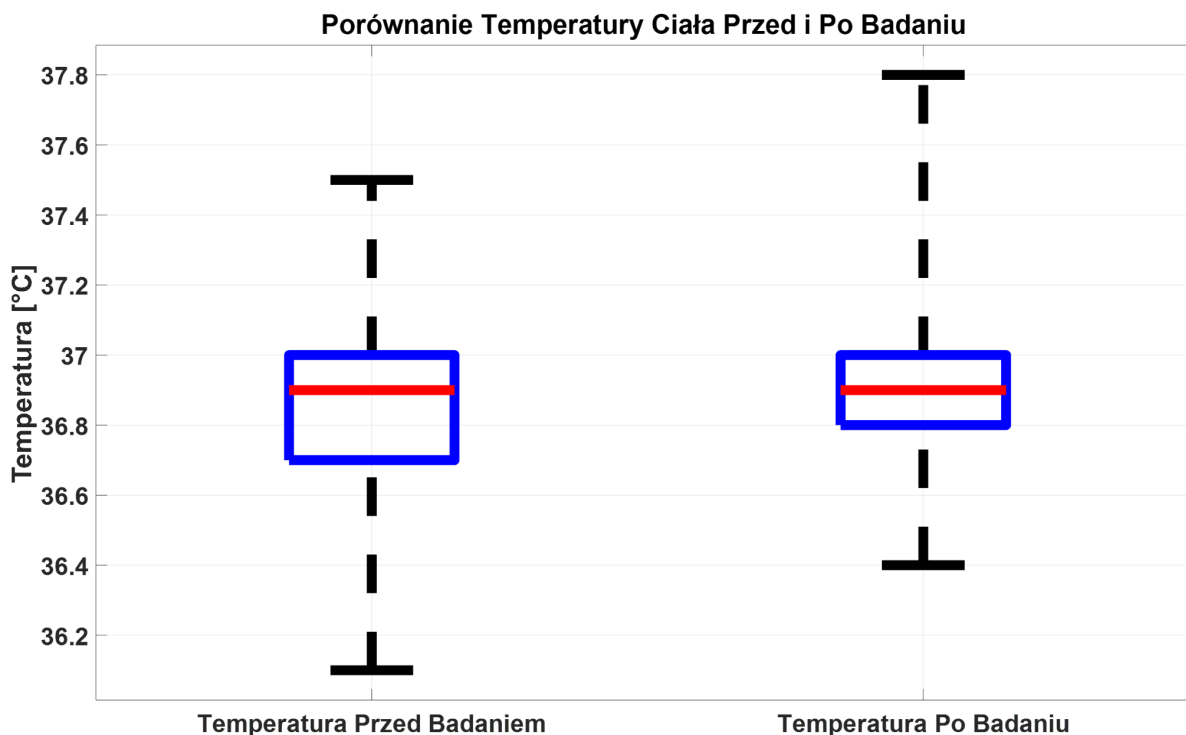
Zgodnie z opisem zawartym w rozdziale 4.3.1., przeprowadzono badania in vivo na 146 zdrowych ochotnikach, uzyskując łącznie 292 widma typu WS i WU. Widma te podzielono na 164 pary zebrane przed badaniami fMRI oraz 164 pary zebrane po ich zakończeniu.

Dane z widm porównujące piki wody z widm typu WU i WS wykazały średnie tłumienie sygnału wody na poziomie 96,01% w widmach WS. Średnia szerokość połówkowa pików wody z widm WS była znacznie wyższa niż z widm WU (średnia WS = 0,0866 Hz, SD = 0,0068 Hz, w porównaniu do WU = 0,0835 Hz, SD = 0,0058 Hz, $p < 0,0000$). Dane szerokości połówkowej pików wody z widm WS i WU były silnie skorelowane ($r = 0,87$, $p < 0,0000$). Położenia częstotliwości centralnej pików wody WS były znacząco wyższe niż te z widm WU (średnia WS = 4,6129 ppm, SD = 0,0489 ppm, w porównaniu do WU = 4,6071 ppm, SD = 0,0486 ppm, $p < 0,0000$) oraz były silnie skorelowane ($r = 0,99$, $p < 0,0000$) (zob. Rys. 26).



Rysunek 26. Porównanie danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (B) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.

Średnia temperatura ciała mierzona w uchu osób badanych po skanowaniu wykazała znaczny wzrost (Rys. 27). Średnia temperatura przed skanowaniem = 36,86°C, SD = 0,23, w porównaniu do po skanowaniu = 36,95°C, SD = 0,22, $p < 0,0000$. Nie stwierdzono istotnych różnic w zmianach temperatury między płciami.



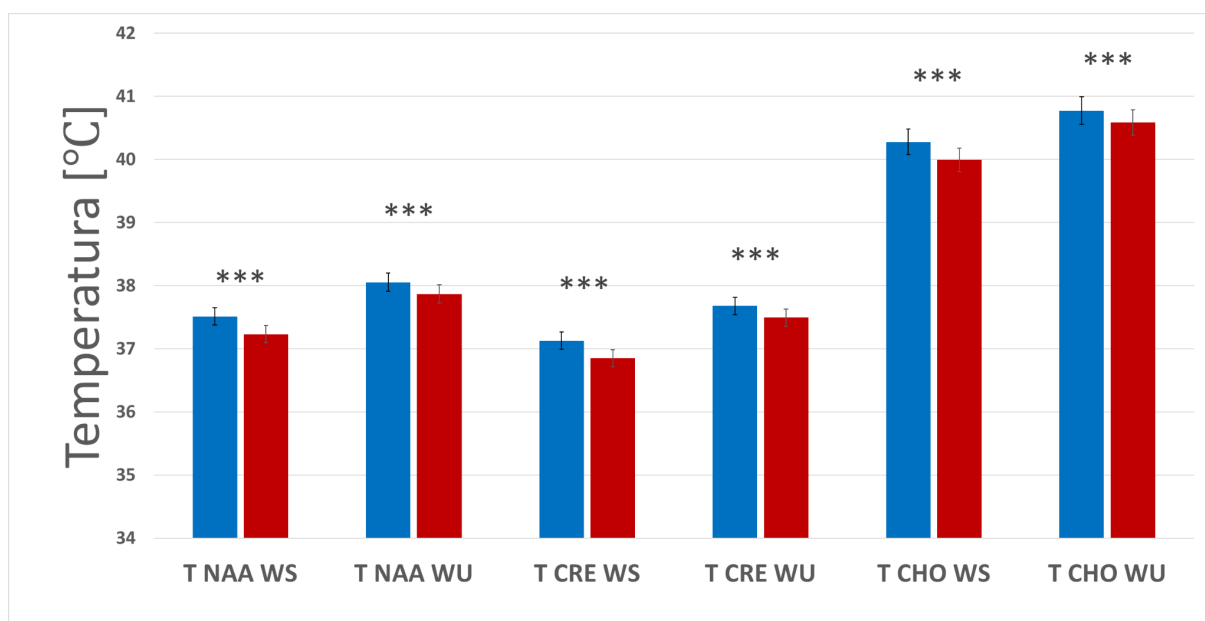
Rysunek 27. Porównanie temperatury ciała mierzonej w prawym uchu przed (po lewej) i po (po prawej) badaniu. Praca własna.

Temperatura i niepewności 146 osób badanych zostały obliczone przy użyciu wzorów opisanych w rozdziale 3.2. i stałych kalibracyjnych przedstawionych w rozdziale 5.1. Temperatura mózgu in vivo została obliczona na podstawie różnic pomiędzy położeniami pików wody z widm WS i WU a metabolitami NAA(T-NAA-WS, T-NAA-WU), Cre(T-Cre-WS, T-Cre-WU) i Cho(T-Cho-WS, T-Cho-WU) dla każdej osoby badanej (patrz Tabela 5, Rys. 28).

W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WS i pojedynczych metabolitów (T NAA WS, T CRE WS, T CHO WS), wykazano znaczące różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. W porównaniu do T NAA WS średnia temperatura T CRE WS jest o 0,38°C niższa gdzie średnia temperatura T CHO WS jest o 2,77°C wyższa. Niepewności pomiaru wynosiły $\pm 0,14^\circ\text{C}$ dla T NAA WS i T CRE WS i $\pm 0,20^\circ\text{C}$ dla T CHO_WS. Najmniejsze odchylenie standardowe (SD) zaobserwowano dla T CRE WS, następnie T CHO WS, a następnie T NAA WS (patrz Tabela 5, Rys. 28).

W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WU i pojedynczych metabolitów (T NAA WU, T CRE WU, T CHO WU), wykazano znaczące różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. W porównaniu do T NAA WU średnia temperatura T CRE WU jest o $0,37^{\circ}\text{C}$ niższa gdzie średnia temperatura T CHO WU jest o $2,72^{\circ}\text{C}$ wyższa. Niepewności pomiaru wynosiły $\pm 0,15^{\circ}\text{C}$ dla T NAA WU i T CHO WU i $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$ dla T CRE WU. Najmniejsze SD zaobserwowano dla T CRE WU, następnie T CHO WU, a następnie T NAA WU były podobne (patrz Tabela 5, Rys. 28).

Porównanie temperatur obliczonych przy wykorzystaniu pików wody z widm WS i WU w referencji do pików metabolitów z widma WS wykazało znaczny wzrost temperatury o około $0,58^{\circ}\text{C}$. Niepewności pomiaru obliczone dla każdej z metod nie wykazało znaczących różnic (patrz Tabela 5, Rys. 28). Dodatkowo, analiza korelacji Pearsona między temperaturami uzyskanymi obiema metodami wykazała korelację na poziomie 0.7, co wskazuje na silny związek pomiędzy pomiarami.



Rysunek 28. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm WS i WU z wybranymi pikami odniesienia NAA (T NAA WS i T NAA WU), Cre (T CRE WS i T CRE WU) lub Cho (T CHO WS i T CHO WU). Obliczenia temperatury przedstawione w stanie przed (niebieski) i po (czerwony) akwizycji fMRI. Gwiazdki na obrazku oznaczają istotność statystyczną. Praca własna.

Wszystkie metody wykorzystane do obliczenia temperatury mózgu wykazały znaczny spadek temperatur o około $-0,28^{\circ}\text{C}$ dla metod wykorzystujących pików wody z widma WS i $-0,19^{\circ}\text{C}$ używając pików wody z widma WU (patrz Tabela 5 i Rys. 28).

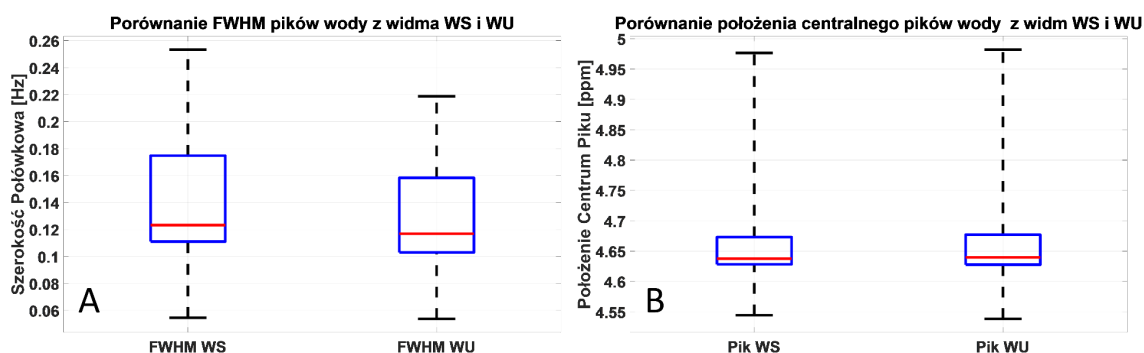
Tabela 5. Porównanie średnich temperatur zmierzonych przed i po akwizycji fMRI z odchyleniami standardowymi i niepewnościami pomiaru wykorzystując wyznaczone funkcje kalibracyjne.

Models	T NAA WS	T NAA WU	T CRE WS	T CRE WU	T CHO WS	T CHO WU
PRE fMRI (°C)	37,51(±0,14)	38,05(±0,15)	37,13(±0,14)	37,68(±0,14)	40,28(±0,20)	40,77(±0,22)
POST fMRI (°C)	37,23(±0,14)	37,87(±0,15)	36,85(±0,13)	37,49(±0,14)	39,99(±0,19)	40,58(±0,20)
Różnica PRE-POST (°C)	-0,28	-0,19	-0,27	-0,18	-0,28	-0,19
SD PRE (°C)	0,44	0,49	0,35	0,42	0,37	0,44
SD POST (°C)	0,47	0,54	0,40	0,49	0,37	0,50

5.3. Pomiary temperatury zmian nowotworowych mózgu

Zgodnie z opisem zawartym w rozdziale 4.3.2., przeprowadzono badania in vivo na 6 pacjentach, w wyniku których uzyskano 12 widm typu WS i WU. Te widma podzielone są pomiędzy 6 par widm zebranych z tkanki nowotworowej mózgu i 6 par widm zebranych w tkance zdrowej mózgu.

Dane z widm porównujące piki wody z widm typu WU i WS wykazały średnie tłumienie sygnału wody na poziomie 95,41% w widmach WS. Średnia szerokość połówkowa pików wody z widm WS nie wykazywała znaczących różnic w porównaniu z widmami WU, jednakże odchylenie standardowe szerokości połówkowej pików w przypadku z widm WS było wyższe niż w przypadku widm z WU ($fwhm_SD_WS = 0,1$ ppm; $fwhm_SD_WU = 0,05$ ppm). Dane szerokości połówkowej pików wody z widm WS i WU były silnie skorelowane ($r = 0,9$, $p < 0,0000$). Położenia częstotliwości centralnej pików wody z widm WS nie różniły się znacząco od tych z widm WU, jednakże odchylenia standardowe pików wody z widm WS były wyższe niż z WU ($peak_SD_WS = 0,16$ ppm; $peak_SD_WU = 0,09$ ppm), a oba zestawy danych były średnio skorelowane ($r = 0,5$, $p < 0,05$) (zob. Rys. 29).



Rysunek 29. Porównanie danych in vivo: (a) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (b) położenia pików centralnych pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.

Temperatura i niepewności dla 6 osób badanych zostały obliczone przy użyciu wzorów opisanych w rozdziale 3.2. i stałych kalibracyjnych przedstawionych w rozdziale 5.1. Temperatura mózgu in vivo została obliczona na podstawie różnic pomiędzy położeniami pików wody z widm WS i WU a metabolitami NAA($T_{NAA\ WS}$, $T_{NAA\ WU}$), Cre($T_{C\ RE\ WS}$, $T_{C\ RE\ WU}$) i Cho($T_{CHO\ WS}$, $T_{CHO\ WU}$) dla każdej osoby badanej (patrz Tabela 6,7, Rys. 30).

W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WS i pojedynczych metabolitów ($T_{NAA\ WS}$, $T_{CRE\ WS}$, $T_{CHO\ WS}$) i metody korzystającej z amplitudowego uśrednienia ($T_{AWC\ WS}$), wykazano znaczące różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. Porównując średnią temperaturę zmierzoną w

zmianie przy pomocy T NAA WS wykazało, że jej temperatura była wyższa od temperatury zmierzonej przy pomocy T CRE WS o 0,59°C, gdzie średnia temperatura mierzona przy pomocy T CHO WS była wyższa o 2,25°C. Średnia temperatura zmierzona przy pomocy T AWC WS była o 0,83°C wyższa od T NAA WS, o 1,42°C wyższa od T CRE WS i o 1,43°C niższa od T CHO WS. Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla zmienionej tkanki wynosiły $\pm 0,32^{\circ}\text{C}$ dla T NAA WS, $\pm 0,23^{\circ}\text{C}$ dla T CRE WS, $\pm 0,23^{\circ}\text{C}$ dla T CHO WS i $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$ dla T AWC WS. Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla normalnej tkanki wynosiły $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$ dla T NAA WS, $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$ dla T CRE WS, $\pm 0,28^{\circ}\text{C}$ dla T CHO WS i $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$ dla T AWC WS. Badanie odchylenia standardowego (SD) wykazało, że dane pochodzące z widm z tkanki zdrowej mają niższe SD w porównaniu z tymi z tkanki zmienionej w przypadku T CRE WS i T AWC WS. Odchylenia standardowe pomiędzy tkanką zdrową i zmienioną dla T NAA WS i T CHO WS było porównywalne. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zdrowej zaobserwowano dla T CRE WS, następnie dla T AWC WS, następnie dla T CHO WS, a następnie dla T NAA WS. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zmienionej zaobserwowano dla T CRE WS, następnie dla T CHO WS, następnie dla T NAA WS, a następnie dla T AWC WS (patrz Tabela 6 i Rys. 30).

Tabela 6. Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WS.

Modele	T NAA WS	T CRE WS	T CHO WS	T AWC WS
Zmiana ($^{\circ}\text{C}$)	37.86($\pm 0,32$)	37.27($\pm 0,23$)	40,12($\pm 0,23$)	38,69($\pm 0,18$)
Norma ($^{\circ}\text{C}$)	37,42($\pm 0,22$)	36.76($\pm 0,22$)	40,15($\pm 0,28$)	37,79($\pm 0,18$)
Różnica ($^{\circ}\text{C}$)	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
SD Zmiana($^{\circ}\text{C}$)	1.20	0,82	0,98	1.24
SD Norma($^{\circ}\text{C}$)	1.24	0.69	1.01	0.95

W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WU i pojedynczych metabolitów (T NAA WU, T CRE WU, T CHO WU) i metody korzystającej z amplitudowego uśrednienia (T AWC WU), wykazano znaczące różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. Porównując średnią temperaturę zmierzoną w zmianie przy pomocy T NAA WU wykazało, że jej temperatura była wyższa od temperatury zmierzonej przy pomocy T CRE WU o 0,58°C, gdzie średnia temperatura mierzona przy pomocy T CHO WU była wyższa o 2,22°C. Średnia temperatura zmierzona przy pomocy T

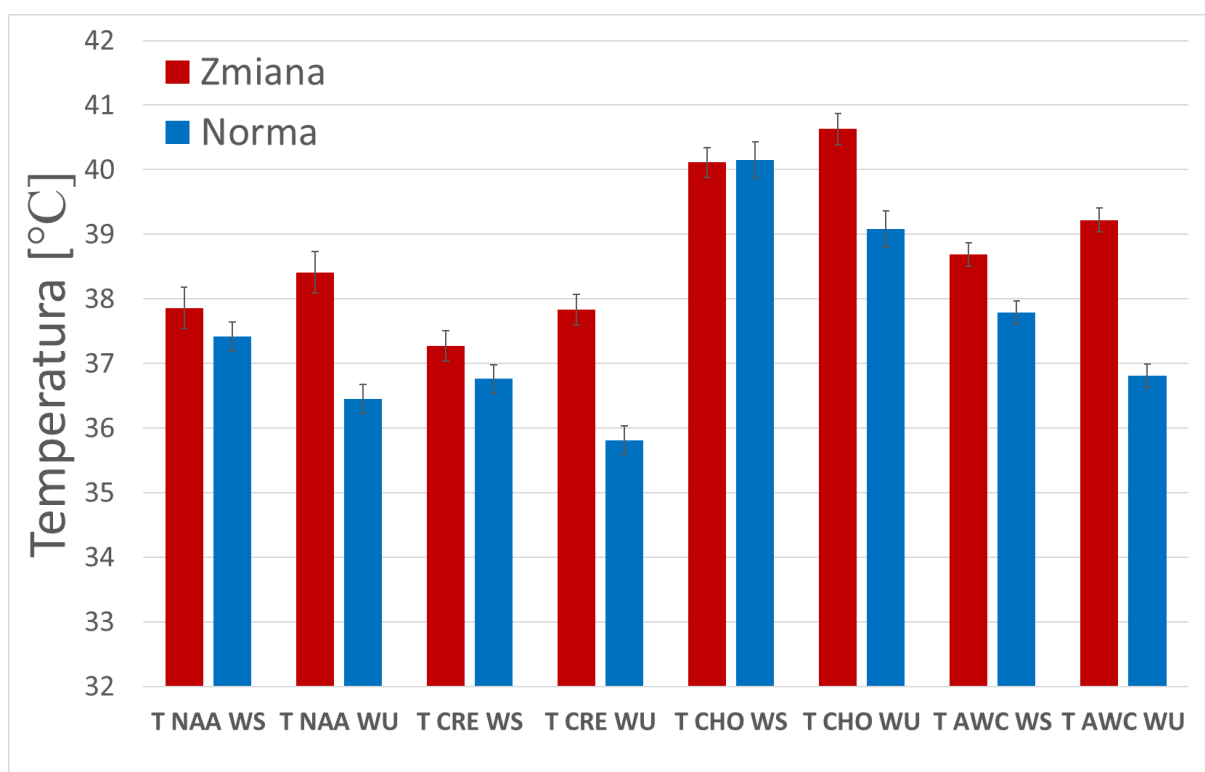
AWC WU była o 0,81°C wyższa od T NAA WU, o 1,39°C wyższa od T CRE WU i o 1,41°C niższa od T CHO WU. Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla zmienionej tkanki wynosiły $\pm 0,32^{\circ}\text{C}$ dla T NAA WU, $\pm 0,23^{\circ}\text{C}$ dla T CRE WU, $\pm 0,24^{\circ}\text{C}$ dla T CHO WU i $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$ dla T AWC WU. Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla normalnej tkanki wynosiły $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$ dla T NAA WU, $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$ dla T CRE WU, $\pm 0,28^{\circ}\text{C}$ dla T CHO WU i $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$ dla T AWC WU. Badanie odchylenia standardowego (SD) wykazało, że dane pochodzące z widm z tkanki zdrowej mają niższe SD w porównaniu z tymi z tkanki zmienionej w przypadku T NAA WU, T CHO WU i T AWC WU. Odchylenia standardowe w tkance zdrowej było wyższe niż dla tkanki zmienionej w przypadku T CRE WU. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zdrowej zaobserwowano dla T NAA WU, następnie dla T CHO WU, następnie dla T AWC WU, a następnie dla T CREWU. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zmienionej zaobserwowano dla T CRE WU, następnie dla T CHO WU, następnie dla T AWC WU, a następnie dla T NAA WU (patrz Tabela 7 i Rys. 30).

Tabela 7. Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WU.

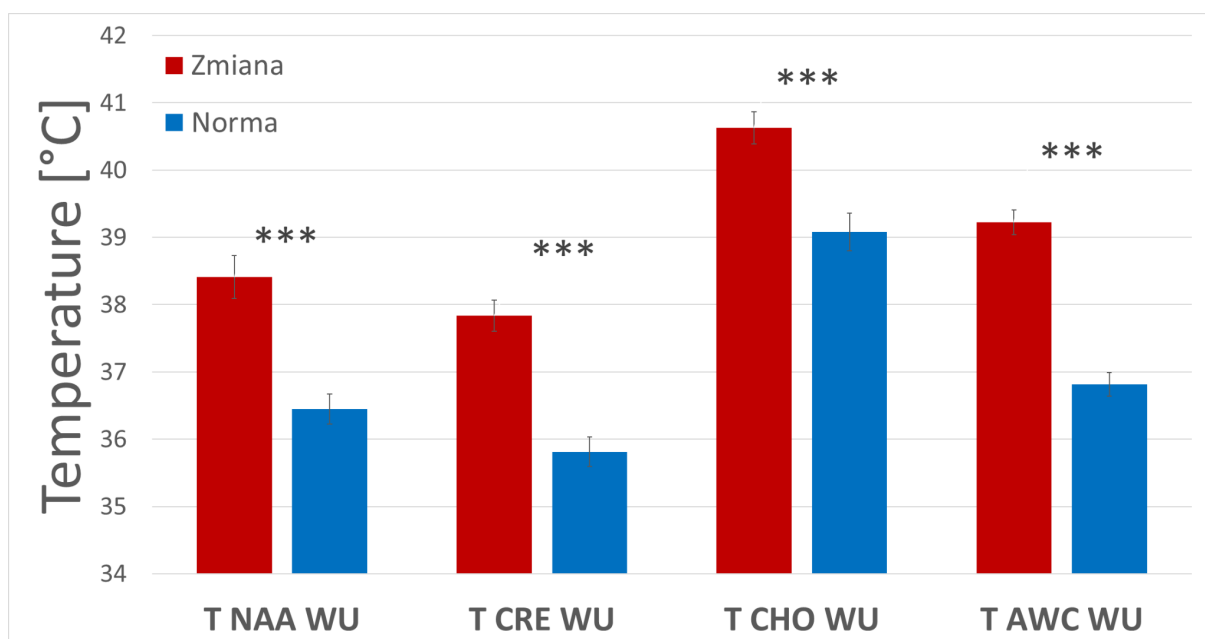
Modele	T NAA WU	T CRE WU	T CHO WU	T AWC WU
Zmiana ($^{\circ}\text{C}$)	38,41($\pm 0,32$)	37,84($\pm 0,23$)	40,63($\pm 0,24$)	39,22($\pm 0,18$)
Norma ($^{\circ}\text{C}$)	36,45($\pm 0,22$)	35,81($\pm 0,22$)	39,01($\pm 0,28$)	36,81($\pm 0,18$)
Różnica ($^{\circ}\text{C}$)	1,96	2,02	1,55	2,41
SD Zmiana ($^{\circ}\text{C}$)	1,28	0,75	0,82	0,98
SD Norma ($^{\circ}\text{C}$)	0,68	1,19	0,69	0,84

Porównanie temperatur obliczonych przy wykorzystaniu pików wody z widm WS i WU w referencji do pików metabolitów z widma WS wykazało znaczny wzrost temperatury o około $0,54^{\circ}\text{C}$ w tkankach zmienionych i spadek o $0,99^{\circ}\text{C}$ w tkance zdrowej. Niepewności pomiaru obliczone dla każdej z metod nie wykazało znaczących różnic (patrz Tabela 6, 7, Rys. 30,31).

Metody obliczeniowe używające pików wody z widma WU do pomiarów temperatury wykazały znaczący wzrost temperatury w tkance zmienionej w stosunku do temperatury zmierzonej w tkance zdrowej dla modelu T NAA WU o $1,96^{\circ}\text{C}$ ($p=0,028$), dla T CRE WU o $2,02^{\circ}\text{C}$ ($p = 0,016$), dla T CHO WU o $1,55^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,01$) i dla T AWC WU o $2,41$ ($p < 0,01$) (patrz Tabela 8 i Rys. 30, 31).



Rysunek 30. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WS lub WU z wybranymi metabolitami odniesienia NAA, Cre lub Cho oraz przy pomocy uśredniania amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.



Rysunek 31. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WU z wybranymi pikami odniesienia NAA, Cre i Cho oraz przy pomocy uśredniania amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.

6. Podsumowanie i wnioski końcowe

Niniejsza praca przedstawia badania nad termometrią MRS, koncentrując się na pomiarze temperatury mózgu in vivo na podstawie przesunięcia chemicznego pików wody z widm typu WS i WU. **Wyniki badań potwierdzają tezę, że piki wody z widm kalibracyjnych sekwencji MRS-PRESS typu WU mogą być wykorzystane do pomiaru temperatury mózgu z substopniową dokładnością.** Opracowana metoda otwiera możliwość wykorzystania danych klinicznych widm MRS do retrospektywnego pomiaru temperatury.

W ramach prac osiągnięto następujące cele:

- **Zaprojektowanie oprogramowania Termom**

Stworzono skrypty komputerowe umożliwiające przetwarzanie i analizę danych MRS w środowisku MATLAB. Oprogramowanie to pozwala na parametryzację pików wody z widm WS i WU oraz pików metabolitów obecnych w widmach WS.

- **Opracowanie procedury kalibracyjnej**

Na podstawie badań Cady'ego [7,11], Zhu [92], Covaciu [93] oraz Veriusa [96] opracowano procedurę kalibracyjną, która pozwala na pomiar temperatury w jednostkach bezwzględnych (w stopniach Celsjusza) z wykorzystaniem metabolitów NAA, kreatyny i choliny jako referencji.

- **Badania kalibracyjne na fantomie wodnym MRS**

Przeprowadzono eksperymenty na temperaturowo kontrolowanym fantomie wodnym zawierającym metabolity występujące w mózgu, m.in. NAA, kreatynę i cholinę. Uzyskano 53 widma typu WS i WU, które po analizie, parametryzacji i kontroli jakości pozwoliły na wyznaczenie sześciu funkcji kalibracyjnych, wykorzystywanych później do pomiarów temperatury z widm in vivo. Wyniki pomiarów na fantomie wykazały wysoką zgodność danych kalibracyjnych uzyskanych z widm WS i WU, potwierdzając stabilność i powtarzalność opracowanej procedury kalibracyjnej w szerokim zakresie temperatur. **Wyznaczono błąd pomiaru dla widm kalibracyjnych wynoszący od $\pm 0,15^{\circ}\text{C}$ do $\pm 0,16^{\circ}\text{C}$ przy wykorzystaniu pików wody WS oraz $\pm 0,16^{\circ}\text{C}$ przy wykorzystaniu pików wody WU.**

- **Badania in vivo**

Zgodnie z protokołem opisanym w rozdziale 4.3.1. przeprowadzono badania na 146 zdrowych ochotnikach, których celem była ocena wpływu długotrwałych badań fMRI na temperaturę mózgu. Podobnie jak w poprzednich badaniach dotyczących aktywacji kory wzrokowej (Katz-Brull [91], Rango [94]), zaobserwowano istotny spadek temperatury mózgu po długotrwałym skanowaniu fMRI. **Zmierzony spadek temperatury wyniósł $-0,28^{\circ}\text{C}$ dla metod opartych na pikach wody WS i $-0,19^{\circ}\text{C}$ dla metod opartych na pikach WU.** Przy

niepewnościach pomiarowych w zakresie od $\pm 0,14^{\circ}\text{C}$ do $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$ można stwierdzić, że wszystkie zastosowane metody, pozwoliły na pomiar temperatury z substopniową dokładnością. Uzyskane wyniki potwierdzają, że długotrwałe skanowanie fMRI wpływa na temperaturę mózgu, co może być tłumaczone większym zapotrzebowaniem mózgu na utlenowaną krew, która dostarczana z chłodniejszych rejonów ciała obniża temperaturę mózgu. Co może stanowić istotny punkt wyjścia do badań potencjalnego wpływu temperatury mózgu na wyniki badań fMRI. Dodatkowo badania wykazały także istotne różnice absolutnej temperatury w zależności od wybranego widma, obserwując wzrost mierzonej temperatury o $0,5^{\circ}\text{C}$ przy wykorzystaniu pików wody z widma WU w porównaniu do temperatury mierzonej przy pomocy wyłącznie widma WS. Jest to spowodowane wpływem tłumienia na piki wody i obserwowany jest wyłącznie w badaniach in vivo, co zgadza się z wcześniejszymi obserwacjami Donga [97]. Zaobserwowano również wpływ metabolitu referencyjnego na temperaturę co widoczne jest w szczególności w pomiarach przy użyciu choliny. Wynik ten, obserwowany wyłącznie w widmach in vivo, może świadczyć o obecności różnych związków chemicznych zawierających cholinę, które w przeciwieństwie do czystej choliny użytej w fantomie mogą zniekształcać sygnał piku choliny wpływając na pomiar temperatury. W badaniu zaobserwować może również, że pomimo wzrostu temperatury ciała po długotrwałym skanowaniu fMRI, zmierzony spadek temperatury mózgu sugeruje, że mózg wykazuje niezależne mechanizmy termoregulacyjne, co wymaga dalszych badań. Badanie dostarcza nowych danych na temat zastosowania MRSt w pomiarach temperatury mózgu, wskazując na potencjalne ograniczenia i źródła niepewności pomiarowych. Jednakże potrzebne są dalsze badania nad zmianami temperatury mózgu zachodzącymi w długotrwałych badaniach fMRI i potencjalnych wpływach tej temperatury na wyniki badań fMRI.

● **Badania kliniczne**

Zgodnie z protokołem opisanym w rozdziale 4.3.2., przeprowadzono badania na 6 pacjentach z nowotworami mózgu. **Wyniki wykazały, że temperatura w tkankach nowotworowych była wyższa o $1,96^{\circ}\text{C}$ dla T NAA WU, o $2,02^{\circ}\text{C}$ dla T CRE WU, o $1,55^{\circ}\text{C}$ dla T CHO WU i o $2,41^{\circ}\text{C}$ dla T AWC WU w porównaniu do zdrowych tkanek.** Istotne różnice zaobserwowano tylko w przypadku funkcji kalibracyjnych opartych na widmach WU. Porównując wcześniejsze badania dotyczące zmian chorobowych w mózgu, można zauważyć, że wzrost temperatury w tkankach zmienionych jest zgodny z dotychczasowymi doniesieniami literaturowymi, np. w padaczce [16] czy w badaniu Barbourina-Brooks [15] w którym wykazano, że temperatura w glejakach była o $0,7^{\circ}\text{C}$ wyższa niż w zdrowym mózgu, co jest zgodne z wynikami niniejszej pracy. Podsumowując, uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia wskazujące na wzrost temperatury

w tkankach zmienionych nowotworowo. Ponadto wykazano, że wybór metabolitu referencyjnego wpływa na wartości temperatury, a metoda amplitudowego uśredniania (T AWC) może być bardziej stabilna. Badanie to dostarcza cennych danych na temat zastosowania techniki MRSt w diagnostyce nowotworów mózgu, jednak dalsze analizy na większej grupie pacjentów są konieczne dla optymalizacji metodologii i potwierdzenia wyników.

Wyniki pracy potwierdzają, że piki wody z kalibracyjnych widm typu WU mogą być wykorzystywane do pomiarów temperatury mózgu z substopniową dokładnością, co udowadnia wstępnie postawioną tezę. Ponadto widma typu WU pozwalają na identyfikację różnic temperatur pomiędzy obszarem zmienionym w wyniku nowotworu, a tkanką zdrową. Oryginalne artykuły [105,106] i aktualna rozprawa otwierają możliwość innym badaczom do retrospektywnego użycia techniki MRSt w poprzednio zakończonych badaniach MRS dodając temperaturę jako dodatkowy biomarker mogący tłumaczyć zmiany zachodzące w mózgu.

Bibliografia

1. Blatteis CM. The onset of fever: new insights into its mechanism. *Prog Brain Res*. 2007;162:3–14.
2. Satinoff E. Neural organization and evolution of thermal regulation in mammals. *Science*. 1978;201(4350):16–22.
3. Garami A, Steiner AA, Romanovsky AA. Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handb Clin Neurol*. 2018;157:565–597
4. Romanovsky AA. The thermoregulation system and how it works. *Handb Clin Neurol*. 2018;156:3–43.
5. HINDMAN, J. C. Proton resonance shift of water in the gas and liquid states. *The Journal of Chemical Physics*, 1966, 44.12: 4582-4592.
6. CORBETT, Ronald JT, et al. Validation of a noninvasive method to measure brain temperature in vivo using ¹H NMR spectroscopy. *Journal of neurochemistry*, 1995, 64.3: 1224-1230.
7. CADY, Ernest B., et al. The estimation of local brain temperature by in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Magnetic resonance in medicine*, 1995, 33.6: 862-867.
8. CORBETT, Ron; LAPTOOK, Abbot; WEATHERALL, Paul. Noninvasive measurements of human brain temperature using volume-localized proton magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1997, 17.4: 363-369.
9. CORBETT, Ronald JT, et al. Noninvasive Measurement of Brain Temperature after Stroke. *American journal of neuroradiology*, 1999, 20.10: 1851-1857.
10. KARASZEWSKI, Bartosz, et al. Measurement of brain temperature with magnetic resonance spectroscopy in acute ischemic stroke. *Annals of neurology*, 2006, 60.4: 438-446.
11. CADY, Ernest B.; PENRICE, Juliet; ROBERTSON, Nicola J. Improved reproducibility of MRS regional brain thermometry by 'amplitude-weighted combination'. *NMR in Biomedicine*, 2011, 24.7: 865-872.
12. SHILOH, Roni, et al. In vivo occipital–frontal temperature-gradient in schizophrenia patients and its possible association with psychopathology: A magnetic resonance spectroscopy study. *European neuropsychopharmacology*, 2008, 18.8: 557-564.
13. POSPORELIS, Sotirios, et al. Decoupling of brain temperature and glutamate in recent onset of schizophrenia: a 7T proton magnetic resonance spectroscopy study.

- Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, 2018, 3.3: 248-254.
14. VESCOVO, E., et al. High-precision calibration of MRS thermometry using validated temperature standards: effects of ionic strength and protein content on the calibration. *NMR in Biomedicine*, 2013, 26.2: 213-223.
 15. BABOURINA-BROOKS, Ben, et al. MRS water resonance frequency in childhood brain tumours: a novel potential biomarker of temperature and tumour environment. *NMR in Biomedicine*, 2014, 27.10: 1222-1229.
 16. SONE, Daichi, et al. Noninvasive detection of focal brain hyperthermia related to continuous epileptic activities using proton MR spectroscopy. *Epilepsy Research*, 2017, 138: 1-4.
 17. HOULT, David I.; RICHARDS, R. E. The signal-to-noise ratio of the nuclear magnetic resonance experiment. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 1976, 24.1: 71-85.
 18. BOTTOMLEY, P. Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy. 1984.
 19. WILSON, Martin, et al. Methodological consensus on clinical proton MRS of the brain: Review and recommendations. *Magnetic resonance in medicine*, 2019, 82.2: 527-550.
 20. Haase A, Frahm J, Hanicke W, Matthai D. 1H NMR chemical shift selective imaging. *Phys Med Biol* 1985; 30: 341–4.
 21. Moonen CTW, van Zijl PCM. Highly efficient water suppression for in vivo proton NMR spectroscopy. *J Magn Reson* 1990; 88: 28–41.
 22. Ogg RJ. WET, a T1- and B1-insensitive watersuppression method for in vivo localized 1 H NMR spectroscopy. *J Magn Reson B* 1994; 104: 1–10.
 23. Tkac I, Starcuk Z, Choi IY, Gruetter R. In vivo 1 H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. *Magn Reson Med* 1999; 41: 649–56.
 24. DROST, Dick J.; RIDDLE, William R.; CLARKE, Geoffrey D. Proton magnetic resonance spectroscopy in the brain: report of AAPM MR Task Group# 9. *Medical physics*, 2002, 29.9: 2177-2197.
 25. CHMURNY, Gwendolyn N.; HOULT, David I. The ancient and honourable art of shimming. *Concepts in Magnetic Resonance*, 1990, 2.3: 131-149.
 26. JUCHEM, Christoph; DE GRAAF, Robin A. B0 magnetic field homogeneity and shimming for in vivo magnetic resonance spectroscopy. *Analytical biochemistry*, 2017, 529: 17-29.

27. McLean MA [Internet] 1D and 2D Quantification Methods. Available from: http://afni.nimh.nih.gov/sscc/staff/rwcox/ISMRM_2006/Syllabus%202006%20-%203340/files/G_04.pdf .
28. HULL, William E. NMR Tips for Shimming, Part II. *Computerized shimming with the Simplex algorithm. Bruker SpinReport*, 2004, 154-155.
29. TKÁČ, Ivan. Methodology of MRS in animal models: technical challenges and solutions. *Magnetic Resonance Spectroscopy of Degenerative Brain Diseases*, 2016, 13-30.
30. SCHNEIDER, Erika; GLOVER, Gary. Rapid in vivo proton shimming. *Magnetic Resonance in Medicine*, 1991, 18.2: 335-347.
31. ZEINALI-RAFSANJANI, B., et al. MRS shimming: an important point which should not be ignored. *Journal of biomedical physics & engineering*, 2018, 8.3: 261.
32. ZHANG, Haibo, et al. Integrated shimming improves lesion detection in whole-body diffusion-weighted examinations of patients with plasma disorder at 3 T. *Investigative radiology*, 2016, 51.5: 297-305.
33. O'Reilly T. *New Developments in Dielectric Shimming for Neuroimaging in MRI at 7T* 2015.
34. Siemens Healthineers. *Syngo MR B19, basic manual- spectroscopy*. 2012.
35. CARLSSON, Åsa, et al. Degraded water suppression in small volume 1 H MRS due to localised shimming. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 2011, 24: 97-107.
36. KREIS, Roland. Issues of spectral quality in clinical 1H-magnetic resonance spectroscopy and a gallery of artifacts. *NMR in Biomedicine*, 2004, 17.6: 361-381.
37. WOO, Dong-Cheol, et al. Development of a QA phantom and protocol for proton magnetic resonance spectroscopy. *Concepts in Magnetic Resonance Part B: Magnetic Resonance Engineering: An Educational Journal*, 2009, 35.3: 168-179.
38. OSORIO-GARCIA, Maria Isabel, et al. Quantification of in vivo 1H magnetic resonance spectroscopy signals with baseline and lineshape estimation. *Measurement Science and Technology*, 2011, 22.11: 114011.
39. MARSHALL, Ian, et al. Choice of spectroscopic lineshape model affects metabolite peak areas and area ratios. *Magnetic resonance in medicine*, 2000, 44.4: 646-649.

40. KEATING, Brian, et al. Prospective motion correction for single-voxel ¹H MR spectroscopy. *Magnetic resonance in medicine*, 2010, 64.3: 672-679.
41. BARTHA, Robert. Effect of signal-to-noise ratio and spectral linewidth on metabolite quantification at 4 T. *NMR in Biomedicine: An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In vivo*, 2007, 20.5: 512-521.
42. SHAKIR, Tahir M., et al. ¹H-MR spectroscopy in grading of cerebral glioma: A new view point, MRS image quality assessment. *Acta Radiologica Open*, 2022, 11.2: 20584601221077068.
43. STEFAN, D. D. C. F., et al. Quantitation of magnetic resonance spectroscopy signals: the jMRUI software package. *Measurement Science and Technology*, 2009, 20.10: 104035.
44. CADZOW, James A. Direction-of-arrival estimation using signal subspace modeling. *IEEE transactions on aerospace and electronic systems*, 1992, 28.1: 64-79.
45. REYNOLDS, Greg, et al. An algorithm for the automated quantitation of metabolites in in vitro NMR signals. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2006, 56.6: 1211-1219.
46. WILSON, Martin, et al. A constrained least-squares approach to the automated quantitation of in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy data. *Magnetic resonance in medicine*, 2011, 65.1: 1-12.
47. PROVENCHER, Stephen W. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magnetic resonance in medicine*, 1993, 30.6: 672-679.
48. PROVENCHER, Stephen W. Automatic quantitation of localized in vivo ¹H spectra with LCModel. *NMR in Biomedicine: An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In Vivo*, 2001, 14.4: 260-264.
49. SIMPSON, Robin, et al. Advanced processing and simulation of MRS data using the FID appliance (FID-A)—an open source, MATLAB-based toolkit. *Magnetic resonance in medicine*, 2017, 77.1: 23-33.
50. BLOCH, Felix. Nuclear induction. *Physical review*, 1946, 70.7-8: 460.
51. PURCELL, Edward M.; TORREY, Henry Cutler; POUND, Robert V. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Physical review*, 1946, 69.1-2: 37.

52. CHANCE, Britton, et al. Detection of ^{31}P nuclear magnetic resonance signals in brain by in vivo and freeze-trapped assays. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1978, 75.10: 4925-4929.
53. BEHAR, K. L., et al. High-resolution ^1H nuclear magnetic resonance study of cerebral hypoxia in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1983, 80.16: 4945-4948.
54. BEHAR, K. L., et al. Detection of cerebral lactate in vivo during hypoxemia by ^1H NMR at relatively low field strengths (1.9 T). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81.8: 2517-2519.
55. BOTTOMLEY, Paul A., et al. In vivo solvent-suppressed localized hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy: a window to metabolism?. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1985, 82.7: 2148-2152.
56. LUYTEN, Peter R.; DEN HOLLANDER, Jan A. Observation of metabolites in the human brain by MR spectroscopy. *Radiology*, 1986, 161.3: 795-798.
57. HANSTOCK, C. C., et al. Spatially localized ^1H NMR spectra of metabolites in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1988, 85.6: 1821-1825.
58. BAX, Ad; FREEMAN, Ray. Enhanced NMR resolution by restricting the effective sample volume. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 1980, 37.1: 177-181.
59. Aue WP. Localization methods for in vivo NMR spectroscopy. *Rev Magn Reson Med* 1986; 1: 21-72.
60. FRAHM, Jens; MERBOLDT, Klaus-Dietmar; HÄNICKE, Wolfgang. Localized proton spectroscopy using stimulated echoes. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 1987, 72.3: 502-508.
61. GRANOT, Joseph. Selected volume excitation using stimulated echoes (VEST). Applications to spatially localized spectroscopy and imaging. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 1986, 70.3: 488-492.
62. KIMMICH, R.; HOEPFEL, D. Volume-selective multipulse spin-echo spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 1987, 72.2: 379-384.

63. FRAHM, J. al, et al. Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: initial applications to human brain in vivo. *Magnetic resonance in medicine*, 1989, 9.1: 79-93.
64. BOTTOMLEY, P. Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy. 1984.
65. SLOTBOOM, J.; MEHLKOPF, A. F.; BOVEE, W. M. M. J. The effects of frequency-selective RF pulses on J-coupled spin-1/2 systems. *Journal of Magnetic Resonance, Series A*, 1994, 108.1: 38-50.
66. SCHEENEN, Tom WJ, et al. Short echo time 1H-MRSI of the human brain at 3T with minimal chemical shift displacement errors using adiabatic refocusing pulses. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2008, 59.1: 1-6.
67. ÖZ, Gülin; TKÁČ, Ivan. Short-echo, single-shot, full-intensity proton magnetic resonance spectroscopy for neurochemical profiling at 4 T: validation in the cerebellum and brainstem. *Magnetic resonance in medicine*, 2011, 65.4: 901-910.
68. CHAKRABORTY, Goutam, et al. Intraneuronal N-acetylaspartate supplies acetyl groups for myelin lipid synthesis: evidence for myelin-associated aspartoacylase. *Journal of neurochemistry*, 2001, 78.4: 736-745.
69. MIYAKE, Masaham; KAKIMOTO, Yasuo; SORIMACHI, Masaru. A gas chromatographic method for the determination of N-acetyl-L-aspartic acid, N-acetyl- α -aspartylglutamic acid and β -citryl-L-glutamic acid and their distributions in the brain and other organs of various species of animals. *Journal of neurochemistry*, 1981, 36.3: 804-819.
70. BIRKEN, David L.; OLDENDORF, William H. N-acetyl-L-aspartic acid: a literature review of a compound prominent in 1H-NMR spectroscopic studies of brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 1989, 13.1: 23-31.
71. GOVINDARAJU, Varanavasi; YOUNG, Karl; MAUDSLEY, Andrew A. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR in Biomedicine: An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In Vivo*, 2000, 13.3: 129-153.
72. TALLAN, Harris H. Studies on the distribution of N-acetyl-L-aspartic acid in brain. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 224.1: 41-45.

73. TALLAN, Harris H.; MOORE, Stanford; STEIN, William H. N-Acetyl-L-aspartic acid in brain. *Journal of Biological Chemistry*, 1956, 219.1: 257-264.
74. BASLOW, Morris H. Brain N-acetylaspartate as a molecular water pump and its role in the etiology of Canavan disease: a mechanistic explanation. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2003, 21: 185-189.
75. TSAI, Guochuan; COYLE, Joseph T. N-acetylaspartate in neuropsychiatric disorders. *Progress in neurobiology*, 1995, 46.5: 531-540.
76. BASLOW, Morris H. Evidence supporting a role for N-acetyl-L-aspartate as a molecular water pump in myelinated neurons in the central nervous system: an analytical review. *Neurochemistry international*, 2002, 40.4: 295-300.
77. BARKER, Peter B. N-acetyl aspartate—a neuronal marker?. *Annals of neurology*, 2001, 49.4: 423-424.
78. URENJAK, Jutta, et al. Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy unambiguously identifies different neural cell types. *Journal of Neuroscience*, 1993, 13.3: 981-989.
79. JACOBS, Michael A., et al. Quantitative proton MR spectroscopic imaging of normal human cerebellum and brain stem. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2001, 46.4: 699-705.
80. ROSS, B. Michaelis T. Clinical Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy. *Magnetic Resonance Quarterly*, 1994, 1: 0,191-247.
81. BIZZI, Alberto, et al. X-linked creatine deficiency syndrome: a novel mutation in creatine transporter gene SLC6A8. *Annals of neurology*, 2002, 52.2: 227-231.
82. CECIL, Kim M., et al. Irreversible brain creatine deficiency with elevated serum and urine creatine: a creatine transporter defect?. *Annals of neurology*, 2001, 49.3: 401-404.
83. STÖCKLER, S., et al. Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. *Pediatric Research*, 1994, 36.3: 409-413.
84. GILL, S. S., et al. Brain metabolites as ¹H NMR markers of neuronal and glial disorders. *NMR in biomedicine*, 1989, 2.5-6: 196-200.

85. GILL, Steven S., et al. Proton MR spectroscopy of intracranial tumours: in vivo and in vitro studies. *Journal of computer assisted tomography*, 1990, 14.4: 497-502.
86. DAVIE, C. A., et al. Detection of myelin breakdown products by proton magnetic resonance spectroscopy. *The Lancet*, 1993, 341.8845: 630-631.
87. BRENNER, R. E., et al. The proton NMR spectrum in acute EAE: the significance of the change in the Cho: Cr ratio. *Magnetic resonance in medicine*, 1993, 29.6: 737-745.
88. ABOAGYE, Eric O.; BHUJWALLA, Zaver M. Malignant transformation alters membrane choline phospholipid metabolism of human mammary epithelial cells. *Cancer research*, 1999, 59.1: 80-84.
89. KREIS, Roland, et al. Metabolic disorders of the brain in chronic hepatic encephalopathy detected with H-1 MR spectroscopy. *Radiology*, 1992, 182.1: 19-27.
90. STOLL, Andrew L., et al. Choline ingestion increases the resonance of choline-containing compounds in human brain: an in vivo proton magnetic resonance study. *Biological Psychiatry*, 1995, 37.3: 170-174.
91. KATZ-BRULL, Rachel, et al. Limits on activation-induced temperature and metabolic changes in the human primary visual cortex. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2006, 56.2: 348-355.
92. ZHU, M., et al. Improved calibration technique for in vivo proton MRS thermometry for brain temperature measurement. *Magnetic resonance in medicine*, 2008, 60.3: 536-541.
93. COVACIU, Lucian, et al. Human brain MR spectroscopy thermometry using metabolite aqueous-solution calibrations. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2010, 31.4: 807-814.
94. RANGO, Mario; BONIFATI, Cristiana; BRESOLIN, Nereo. Post-activation brain warming: a 1-H MRS thermometry study. *PLoS One*, 2015, 10.5: e0127314.
95. BABOURINA-BROOKS, Ben, et al. MRS thermometry calibration at 3 T: effects of protein, ionic concentration and magnetic field strength. *NMR in Biomedicine*, 2015, 28.7: 792-800.

96. VERIUS, Michael, et al. Magnetic resonance spectroscopy thermometry at 3 tesla: importance of calibration measurements. *Therapeutic Hypothermia and Temperature Management*, 2019, 9.2: 146-155.
97. DONG, Zhengchao; MILAK, Matthew S.; MANN, J. John. Proton magnetic resonance spectroscopy thermometry: Impact of separately acquired full water or partially suppressed water data on quantification and measurement error. *NMR in Biomedicine*, 2022, 35.6: e4681.
98. DONG, Zhengchao; KANTROWITZ, Joshua T.; MANN, J. John. Improving the reproducibility of proton magnetic resonance spectroscopy brain thermometry: Theoretical and empirical approaches. *NMR in Biomedicine*, 2022, 35.9: e4749.
99. KURODA, Kagayaki; TSUTSUMI, Shiro. Temperature imaging by proton chemical shift. In: *Non-invasive thermometry of the human body*. CRC Press, 2020. p. 63-103.
100. KURODA, K. Temperature mapping using water proton chemical shift. In: *Proceeding of the 2 nd Annual Scientific Meeting of the Society of Magnetic Resonance Imaging*. Society of Magnetic Resonance Imaging, 1994.
101. KURODA, Kagayaki. Non-invasive MR thermography using the water proton chemical shift. *International journal of hyperthermia*, 2005, 21.6: 547-560.
102. NEAR, Jamie, et al. Preprocessing, analysis and quantification in single-voxel magnetic resonance spectroscopy: experts' consensus recommendations. *NMR in Biomedicine*, 2021, 34.5: e4257.
103. JUREWICZ, Katarzyna, et al. EEG-neurofeedback training of beta band (12–22 Hz) affects alpha and beta frequencies—A controlled study of a healthy population. *Neuropsychologia*, 2018, 108: 13-24.
104. KIRCHNER, Wayne K. Age differences in short-term retention of rapidly changing information. *Journal of experimental psychology*, 1958, 55.4: 352.
105. SIŃCZUK, Marcin, et al. Application of Unsuppressed Water Peaks for MRS Thermometry. In: *Polish Conference on Biocybernetics and Biomedical Engineering*. Cham: Springer Nature Switzerland, 2023. p. 407-420.
106. ROGALA, Jacek, et al. Local variation in brain temperature explains gender-specificity of working memory performance. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2024, 18: 1398034.

Wykaz użytych skrótów

^1H – proton (wodór), najczęściej badany izotop w spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS) oraz obrazowaniu MRI

CHES – *CHEmical Shift Selective Saturation* – sekwencja tłumiąca sygnał wody w widmie MRS

Cho – cholina, metabolit widoczny w spektroskopii MRS, związany z metabolizmem błon komórkowych

Cr, Cre – kreatyna, marker metabolizmu energetycznego komórek

CSI – *Chemical Shift Imaging* – technika wielowokselowego mapowania składu chemicznego metodą MRSI

FID – *Free Induction Decay* – swobodne zanikanie indukcji, sygnał rejestrowany w NMR/MRS po impulsie RF

FID-A – oprogramowanie do analizy surowych danych MRS (np. przetwarzanie FID, rekonstrukcja widm)

fMRI – *functional Magnetic Resonance Imaging* – funkcjonalne obrazowanie mózgu MRI oparte na BOLD (sygnale zależnym od poziomu utlenowania krwi)

FWHM – *Full Width at Half Maximum* – pełna szerokość na połowie wysokości, miara rozdzielczości pików w widmie MRS

MRS – *Magnetic Resonance Spectroscopy* – spektroskopia rezonansu magnetycznego, metoda analizy składu chemicznego tkanek

MRSI – *Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging* – połączenie MRS z obrazowaniem przestrzennym (CSI)

MRI – *Magnetic Resonance Imaging* – obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego

NAA – *N-Acetylaspartate* (N-acetyloasparaginian) – marker neuronów w MRS, wskaźnik integralności neuronalnej

NMR – *Nuclear Magnetic Resonance* – jądrowy rezonans magnetyczny, fizyczna podstawa MRI/MRS

PRESS – *Point-Resolved Spectroscopy* – sekwencja do jednowokselowego MRS

RF – *Radio Frequency* – fale radiowe używane do wzbudzania spinów w MRI/MRS

SNR – *Signal-to-Noise Ratio* – stosunek sygnału do szumu, kluczowy parametr jakości obrazowania i spektroskopii

STEAM – *Stimulated Echo Acquisition Mode* – alternatywna sekwencja dla PRESS, stosowana w MRS

SVS – *Single Voxel Spectroscopy* – jednowokselowa spektroskopia MRS

TAWC – uśredniona temperatura mierzona wagowo przy zastosowaniu ważenia amplitudą

TE – *Echo Time* – czas echa, czas między impulsem RF a rejestracją sygnału w MRI/MRS

TR – *Repetition Time* – czas powtórzenia, odstęp między kolejnymi impulsami RF

WS – *Water Suppression* – diagnostyczne widmo MRS z częściowo tłumionym pikiem wody

WU – *Water Unsuppressed* - kalibracyjne widmo MRS bez tłumienia piku wody

Spis Rysunków

Rysunek 1. Porównanie widm z częściowo tłumionym (niebieska linia) i nietłumionym (czerwona linia) sygnałem wody. Na wykresie widma z częściowo tłumionym sygnałem wody, sygnały metabolitów zostały oznaczone na niebiesko. Na obu wykresach rzędy wielkości oraz różnice w amplitudzie sygnałów zaznaczono na żółto. Praca własna.....9

Rysunek 2. Poziomy energii dla jądra o spinowej liczbie kwantowej $I = \pm 1/2$. W przypadku braku zewnętrznego pola B_0 , oba poziomy energii są wyrównane. Jądra o spinie $1/2$ mają dwa poziomy energii odpowiadające dwóm dyskretnym wartościom I . Spin o $I = +1/2$ jest wyrównany z zewnętrznym polem magnetycznym i dlatego ma niższą energię. Praca własna.....13

Rysunek 3. Przykład dwóch sygnałów w dziedzinie czasu (a) i częstotliwości (b). Wykres (a) przedstawia sygnał w dziedzinie czasu (FID), gdzie linia niebieska reprezentuje składową rzeczywistą, a linia szara składową urojoną. Wykres (b) przedstawia widmo w dziedzinie częstotliwości, z którego wynika, że sygnał składa się z jednego pikę położonego na częstotliwości 2, niebieska linia oznacza składową rzeczywistą widma, a jasnoniebieska składową urojoną. źródło: https://resources.drcmr.dk/www/Docs/fid_spec_1peak.html.....19

Rysunek 4. Sygnał FID uzyskany podczas badania NMR w polu magnetycznym 3T z fantomu (PRESS, TE=25ms, TR = 2000ms, 4096 punktów, z woksela badanego $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$, 3T GE Discovery 750w). Oddzielno rzeczywiste (niebieski) i urojone (czerwony) składowe sygnału - wraz z umieszczeniem wzoru opisującego ogólny sygnał FID. Praca Własna.....20

Rysunek 5. (A) Całkowite widmo po przekształceniu sygnału FID transformatą Fouriera, z przedstawieniem części rzeczywistej (niebieska linia) i urojonej (czerwona linia) widma. Wskazano obszar (pomarańczowe zaznaczenie), którego przybliżenie przedstawiono w panelu poniżej. (B) Przybliżenie widma z wyraźnym pikem wody oraz widocznymi pikami metabolitów. Obszar zaznaczony pomarańczowym kolorem wskazuje region przybliżony w panelu (C). (C) Przybliżenie widma uwidaczniające metabolity: NAA (2.0 ppm), Cre (3.0 ppm) i Cho (3.2 ppm). Widmo uzyskano z fantomu badanego w skanerze 3T (PRESS, TE = 25 ms, TR = 2000 ms, 4096 punktów, woksel $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$, 3T GE Discovery 750w). Praca własna.....22

Rysunek 6. Diagram sekwencji PRESS przedstawiający: 3 impulsy (90, 180, 180), po których następuje sygnał echa spinowego w górnej linii; TE – definicja czasu echa; 3 linie odzwierciedlające impulsy gradientu do kodowania przestrzennego i wynikającej z tego definicji przestrzeni prostopadłościanu woksela. Przedruk z <https://mriquestions.com/press.html>, dzięki uprzejmości Allena D. Elstera, MRIquestions.com.....24

Rysunek 7. (A) Widmo typu WS z częściowo tłumionym sygnałem wody: w czerwonym zaznaczeniu rząd wielkości amplitudy sygnału, w zielonym zaznaczeniu widoczne piki metabolitów. (B) Widmo typu WU z nietłumionym sygnałem wody: w czerwonym zaznaczeniu rząd wielkości amplitudy sygnału, w zielonym zaznaczeniu brak widocznych metabolitów. (C) Porównanie amplitud widm typu WS i WU. Praca własna.....27

Rysunek 8. Diagram sekwencji impulsów dla modułu CHES do supresji sygnału wody. Moduł CHES składa się z trzech impulsów RF, po których następują rozfazowujące impulsy gradientowe o dużej amplitudzie i czasie trwania. Efektem tych impulsów jest wzbudzenie oscylacyjnego ruchu i dekoherencja magnetyzacji poprzecznej sygnału wody w wąskim zakresie częstotliwości (wokół pików wody), przy minimalnym wpływie na sygnały poza tym zakresem częstotliwości. W każdym okresie TR moduł CHES poprzedza akwizycję danych, w tym przypadku z wykorzystaniem sekwencji PRESS. Supresja sygnału wody za pomocą modułu CHES powoduje, że sygnał pochodzący z wody pojawia się w widmie w minimalnym stopniu. Praca własna..... 28

Rysunek 9 Przykład złego shimmowania (lewy obraz) z widocznymi szerokimi pikami i niewyraźnymi pikami znajdującymi się koło siebie w porównaniu z przykładem dobrego shimmingu (prawy obraz) gdzie obserwujemy wąskie piki z uwidocznionymi pikami, które znajdują się blisko siebie. Ilustracja dzięki uprzejmości Allena D. Elstera, MRIquestions.com.....29

Rysunek 10. Widmo spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS) białej materii w zdrowym mózgu. (Lewa strona) Widma z średnim czasem echa (TE) 135-144 ms mają mniejsze zniekształcenie linii bazowej i są łatwiejsze w obróbce i analizie, ale wykazują mniej metabolitów niż widma z krótkim TE. (Prawa Strona) Krótkie TE pokazują piki większej ilości metabolitów, włączając lipidy i makromolekuły, glutaminę, glutaminian i myo-inozytol.....35

Rysunek 11. Obraz metabolitów występujących w mózgu in vivo wraz z ich położeniem na osi przesunięcia chemicznego. Na pomarańczowo N-acetyloasparaginian (NAA) z położeniem 2.02 ppm, na żółto Kreatyna (Cr) z położeniem na 3.03 ppm i na fioletowo Cholina (Cho) z położeniem na 3.20 ppm. Praca własna.....36

Rysunek 12. Schematyczne wytłumaczenie zależności pomiędzy temperaturą a przesunięciem chemicznym związku wody; ω to częstotliwość rezonansowa protonów w wodzie, σ to stała ekranowania spowodowana przez chmurę elektronów znajdujących się w pobliżu protonu, a γ to współczynnik żyromagnetyczny. Praca własna.....50

Rysunek 13. Struktura danych w pliku zawierającym widmo MRS zarejestrowane w skanerze GE. Praca własna.....56

Rysunek 14. Schemat wstępnej obróbki danych spektroskopowych zawierający w sobie kombinację sygnału z wielu kanałów cewek MR, wyliczanie widma uśrednionego z wielu pobudeń w widmie spektroskopowym oraz korekcję fazową spektr. Praca własna.....58

Rysunek 15. Graficzne przedstawienie danych  modelowej funkcji Lorentza  oraz sparametryzowanej funkcji dopasowanej Lorentza . Praca własna.....60

Rysunek 16. Przykładowa strona z pliku PDF pełniąca funkcję wstępnego raportu, jednocześnie stanowiąca kontrolę jakości przeprowadzonej analizy i widma uzyskanego we wcześniejszych etapach. Na tej stronie znajdują się informacje dotyczące pliku Pfile zawierającego danego widma. Przedstawione są 3 wykresy: (A) wykres zawierający dane z widma WS obrazujący położenie metabolitów w widmie: NAA (pomarańczowe), Cr (żółte), Cho (fioletowe). (B) Sygnał wody widoczny w widmie typu WS. (C) Sygnał wody widoczny w widmie typu WU. Praca własna.....61

Rysunek 17. A. Fantom GE Spectroscopy Braino zawierający 8 metabolitów, kontrast gadolinowy i azydek sodowy. Najlepiej termometr pozwala na zgrubną kontrolę temperatury fantomu. B. Kulisty szklany fantom używany do kontrolowanej cyrkulacji temperatury; pokazano pozycje sondy światłowodowej, związku organicznego i próbki (np. roztworu metabolitów). Praca własna.....62

Rysunek 18. Skaner GE z fantomem umieszczonym w cewce nadawczo odbiorczej (Zdjęcie A.). Fantom podłączony jest do przepływu wody przy pomocy dwóch rur pcv doprowadzających i odprowadzających wodę (niebieskie rury) do łaźni wodnej Thermo pozwalająca na kontrolę temperatury (Prawy dolny róg, niebieska strzałka, zdjęcie C). Temperatura w fantomie mierzona jest przy pomocy dwóch światłowodowych sond temperaturowych, doprowadzonych do skanera (brązowe kable) do przetwornik firmy Osensa (Prawy górny róg, żółta strzałka, zdjęcie B). Praca własna.....65

Rysunek 19. Przykładowe widma z fantomu. Na górze widmo typu WS z częściowo tłumionym pikiem wody (WS), gdzie widoczne są istotne dla nas piki N-acetyloasparagianu (NAA), Kreatyny (Cre) i Choliny (Cho). Na dole widmo typu WU z nietłumionym sygnałem wody (WU) w widmie brak widocznych pików metabolitów. Fioletowe linie przedstawiają połączenie pików metabolitów z widma WS z pikiem wody z widma WU. Linie żółta, pomarańczowa i zielona oznaczają połączenia metabolitów z widma WS z pikiem wody z widma WU. Praca własna.....67

Rysunek 20. Położenie woksela badanego w badaniu in vivo położony w prawym dolnym płatku ciemieniowym (rIPL). Praca własna.....69

Rysunek 21. Przykład rozmieszczenia dwóch wokseli w badaniach in vivo mózgu zobrazonego w sekwencji T2. Po lewej przedstawiono woksel w kolorze zielonym, umieszczony kontralateralnie do zmiany, a po prawej woksel w kolorze czerwonym, zlokalizowany w obszarze zmiany. Praca własna.....72

Rysunek 22. Porównanie danych fantomowych: (a) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (b) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.....73

Rysunek 23. Wyniki kalibracji. Porównanie liniowych regresji korzystających z różnic pomiędzy położeniem pików wody z widma WS a pikami każdego z trzech metabolitów referencyjnych: NAA (czerwony), Kreatyną (zielony) i Choliną (niebieski) od zmierzonej temperatury w fantomie. Punkty oznaczają dane pomiarowe, a linie modele regresji liniowej. Wyniki zostały wykorzystane do wyznaczenia równań kalibracyjnych, ponieważ temperatura fantomu była znana. Praca własna.....74

Rysunek 24. Wyniki kalibracji. Porównanie liniowych regresji korzystających z różnic pomiędzy położeniem pików wody z widma WU a pikami każdego z trzech metabolitów referencyjnych: NAA (czerwony), Kreatyną (zielony) i Choliną (niebieski) od zmierzonej temperatury w fantomie. Punkty oznaczają dane pomiarowe, a linie modele regresji liniowej. Wyniki zostały wykorzystane do wyznaczenia równań kalibracyjnych, ponieważ temperatura fantomu była znana. Praca własna.....75

Rysunek 25. Różnica temperatury pomiędzy temperaturą zmierzona w fantomie za pomocą sond temperaturowych, a temperaturą zmierzona z widm typu WS i WU za pomocą obliczonych funkcji kalibracyjnych. Praca własna.....77

Rysunek 26. Porównanie danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (B) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.....78

Rysunek 27. Porównanie temperatury ciała mierzonej w prawym uchu przed (po lewej) i po (po prawej) badaniu. Praca własna.....79

Rysunek 28. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm WS i WU z wybranymi pikami odniesienia NAA (T NAA WS i T NAA WU), Cre (T CRE WS i T CRE WU) lub Cho (T CHO WS i T CHO WU). Obliczenia temperatury przedstawione w stanie przed (niebieski) i po (czerwony) akwizycji fMRI. Gwiazdki na obrazku oznaczają istotność statystyczną. Praca własna.....80

Rysunek 29. Porównanie danych in vivo: (a) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (b) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.....82

Rysunek 30. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WS lub WU z wybranymi metabolitami odniesienia NAA, Cre lub Cho oraz przy pomocy uśredniania amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.....85

Rysunek 31. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WU z wybranymi pikami odniesienia NAA, Cre i Cho oraz przy pomocy uśredniania amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.....85

Spis Tabel

Tabela 1. Przegląd współczynników kalibracyjnych MRSt wyznaczonych przez innych badaczy. Z zaznaczeniem metabolitu (NAA, Cre lub Cho) użytego w odniesieniu do przesunięcia chemicznego pików wody. W tabeli pokazano wzór funkcji liniowej, gdzie temperatura (T) wyznaczana jest za pomocą iloczynu nachylenia kalibracji (α) i różnicy pomiędzy przesunięciem chemicznym pików wody i metabolitu referencyjnego (Δ), zsumowanego z współczynnikiem punktu przecięcia z osią y (β). Pokazano w jakim środowisku przeprowadzona została kalibracja termometrii MRS (Fantom, model zwierzęcy). Wskazane zostały także konkretne metabolity referencyjne, na których oparta została kalibracja, natężenie pola magnetycznego (B_0), nachylenie kalibracji (α), punkt przecięcia z osią y (β), wartość korelacji (R^2). Tam, gdzie to możliwe, w nawiasach przedstawiono zmienność opartą na błędzie dopasowania.....48

Tabela 2. Stężenia substancji zawartych w fantomie badawczym.....63

Tabela 3. Parametry współczynników (nachylenie prostej (α), punkt przecięcia z osią y (β)) kalibracyjnych regresji liniowej uzyskanej z danych kalibracyjnych. Parametry uzyskane dla relacji pomiędzy położeniem pików wody z widma WS lub pików wody z widma WU a metabolitami NAA (WS-NAA, WU-NAA), Kreatyny(WS-Cr, WU-Cr) i Choliny(WS-Cho, WU-Cho).....75

Tabela 4. Współczynniki wyliczone dla wzoru 44 wraz z niepewnościami (nachylenie prostej (α), wartość różnicy przesunięcia chemicznego pomiędzy pikami wody z widm WS lub WU i wybranego metabolitu (NAA, Cre lub Cho) dla temperatury $36,7^\circ\text{C}$ ($F_{0_{ref}}$)). Parametry uzyskane dla relacji pomiędzy położeniem pików wody z widma WS (WS-metabolit) lub pików wody z widma WU (WU-metabolit) a metabolitami NAA, Kreatyna i Cholina. Przykładowo WS-NAA oznacza różnicę przesunięć chemicznych pomiędzy pikami wody z widma WS i pikami NAA.....76

Tabela 5. Porównanie średnich temperatur zmierzonych przed i po akwizycji fMRI z odchyleniami standardowymi i niepewnościami pomiaru wykorzystując wyznaczone funkcje kalibracyjne.....81

Tabela 6. Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WS.....83

Tabela 7. Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WU.....84