



Načítání a zpracování spektroskopických dat z magnetické rezonanční spektroskopie

Bakalářská práce

Studijní program:

B3944 Biomedicínská technika

Studijní obor:

Biomedicínská technika

Autor práce:

Dominik Havlíček

Vedoucí práce:

doc. Ing. Daniel Jirák, Ph.D.

Fakulta zdravotnických studií





Zadání bakalářské práce

Načítání a zpracování spektroskopických dat z magnetické rezonanční spektroskopie

Jméno a příjmení: **Dominik Havlíček**
Osobní číslo: D18000053
Studijní program: B3944 Biomedicínská technika
Studijní obor: Biomedicínská technika
Zadávající katedra: Fakulta zdravotnických studií
Akademický rok: **2020/2021**

Zásady pro vypracování:

Cíle práce:

- 1) Popsat a seznámit se s fungováním metody magnetické rezonanční spektroskopie a popsat některé metabolity nebo kontrastní látky detekované pomocí magnetické rezonanční spektroskopie.
- 2) Seznámit se s ovládáním experimentálního magnetického rezonančního tomografu.
- 3) Analyzovat dostupné hardwarové a softwarové možnosti zobrazování pomocí magnetické rezonanční spektroskopie.
- 4) Vytvořit skript v prostředí MATLAB pro načítání a zpracování spektroskopických dat, který zobrazí metabolickou aktivitu jader.
- 5) Porovnat s profesionálním softwarem.

Teoretická východiska (včetně výstupu z kvalifikační práce):

Magnetická rezonanční spektroskopie je neinvazivní diagnostická metoda, která poskytuje informace o biochemických změnách v tkáních. Zatímco magneticko-rezonanční zobrazování poskytuje anatomickou informaci, magnetická rezonanční spektroskopie udává biochemické složení ve vyšetřované oblasti.

Výstupem kvalifikační práce bude článek připravený k publikaci a skript vytvořený v prostředí MATLAB pro načítání a zpracování spektroskopických dat.

Výzkumné předpoklady / výzkumné otázky:

- 1) Předpokládáme, že vytvořený skript bude schopen odlišit různé metabolity nebo kontrastní látky od určité hodnoty poměru signál/šum, která bude stanovena.
- 2) Předpokládáme, že vytvořený skript nebude dosahovat komplexnosti profesionálního softwaru, ale bude umožňovat jednoduchou manipulaci s daty produkované MR tomografem.

Metoda:

Kvantitativní

Technika práce, vyhodnocení dat:

Rešerše, Programování, Naměření experimentálních dat

Místo a čas realizace výzkumu:

Místo: Laboratoře experimentální MR, Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM

Čas: listopad 2020-březen 2021

Vzorek:

Fantom

Rozsah práce:

Rozsah bakalářské práce činí 50-70 stran (tzn. 1/3 teoretická část, 2/3 výzkumná část).

Forma zpracování kvalifikační práce:

Tištěná a elektronická.

Rozsah grafických prací:
Rozsah pracovní zprávy:
Forma zpracování práce:
Jazyk práce:

tištěná/elektronická
Čeština



Seznam odborné literatury:

- ATTIA, Noha M. et al. 2020. Magnetic resonance spectroscopy in pediatric brain tumors: how to make a more confident diagnosis. *Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine*. **51**(14). DOI 10.1186/s43055-020-0135-3.
- BENEŠ, J., D. JIRÁK a F. VÍTEK. 2015. *Základy lékařské fyziky*. 4. vyd. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-2645-1.
- DEZORTOVÁ, M., D. PAJUJLO a M. HÁJEK. 2017. ¹H MR SPEKTROSKOPIE – I. MOZEK. *Česká radiologie*. **71**(4), 296-304. ISSN 1210-7883.
- GRAFF, Robin A. 2019. *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques*. 3rd ed. New Jersey: Wiley. DOI 10.1002/9781119382461.
- HRABAL, Richard. 2017. Role MNR spektroskopie při zkoumání bílkovin. *Bioprospect*. **27**(2), 28-33. ISSN 1210-1737.
- IBRAHIM, Elsayed. 2017. *Heart Mechanics: Magnetic Resonance Imaging. Mathematical Modeling, Pulse Sequences and Image Analysis*. CRC Press. ISBN 978-1-4822-6368-8.
- MARKLEY, John L. et al. 2017. The future of NMR-based metabolomics. *Current opinion in Biotechnology: Analytical biotechnology*. (43), 34-40. DOI 10.1016/j.copbio.2016.08.001.
- MAYFIELD BRAIN & SPINE. Magnetic Resonance Spectroscopy, MR spectroscopy. MAYFIELD BRAIN & SPINE. *Mayfield Brain & Spine, Neurosurgery, Spine surgeons, Brain surgeons, Cincinnati, Ohio* [online]. Ohio: Mayfield Brain & Spine, aktualiz. 2018-4 [cit. 2019-12-27].
- MÜLLER, Meinard. 2015. *Fundamentals of Music Processing: Audio, Analysis, Algorithms, Applications*. Erlangen: Springer. ISBN 978-3-319-21944-8.
- ŠEDIVÝ, Petr et al. 2017. 31P a 19F MR spektroskopie a zobrazování v IKEM. *Česká radiologie*. **71**(4), 312-322. ISSN 1210-7883.
- ULMER S., M. Backens, F. J. Ahlhelm. 2016. Basic Principles and Clinical Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy in Neuroradiology. *Journal of Computer Assisted Tomography*. **40**(1), 1-13. DOI 10.1097/RCT.0000000000000322.

Vedoucí práce:

doc. Ing. Daniel Jirák, Ph.D.
Fakulta zdravotnických studií

Datum zadání práce:

1. září 2020

Předpokládaný termín odevzdání: 30. června 2021

L.S.

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA
děkan

Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Jsem si vědom toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědom následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

16. ledna 2021

Dominik Havlíček

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Danielu Jirákovi, Ph.D. za odborné rady a připomínky, které vedly ke zpracování bakalářské práce. Také bych chtěl poděkovat všem pracovníkům z experimentální MR laboratoře, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, kteří se taktéž podělili se svými znalostmi a poskytli cenné rady při měření experimentálních dat. V neposlední řadě děkuji rodině za neutuchající podporu během studia.

Anotace

Autor: Dominik Havlíček

Instituce: Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií

Název práce: Načítání a zpracování spektroskopických dat z magnetické rezonanční spektroskopie

Vedoucí práce: doc. Ing. Daniel Jirák, Ph.D.

Počet stran: 66

Počet příloh: 5

Rok obhajoby: 2021

Anotace: Bakalářská práce se ve své výzkumné části zabývá procesem vytvoření programu, který slouží ke zpracování spektroskopických dat, které byly naměřeny na experimentálním magnetickém rezonančním tomografu. Vytvořený program byl napsán v programovém prostředí MATLAB. V teoretické části práce je popsán fyzikální princip magnetické rezonance, konstrukce magnetického rezonančního tomografu a představení magnetické rezonanční spektroskopie. Závěr teoretické části je věnován teorii zpracování signálu, která byla využita při tvorbě výsledných skriptů.

Klíčová slova: Magnetická rezonance, spektroskopie, Fourierova transformace, MATLAB

Annotation

Author: Dominik Havlíček

Institution: Technical University of Liberec, Faculty of Health Studies

Title: Retrieving and Processing Spectroscopic Data from Magnetic Resonance Spectroscopy

Supervisor: doc. Ing. Daniel Jiráček, Ph.D.

Pages: 66

Appendix: 5

Year: 2021

Annotation: The Bachelor thesis in its research part deals with developing a program that is used to process the spectroscopic data which were measured on experimental magnetic resonance tomograph. Created program was written in the MATLAB integrated programming environment. The theoretical part of the thesis describes the physical principle of magnetic resonance, construction of magnetic resonance tomograph and introduction of magnetic resonance spectroscopy. The end of the theoretical part is devoted to the theory of signal processing, which was used during the development of the resulting scripts.

Keywords: Magnetic Resonance, Spectroscopy, Fourier Transform, MATLAB

Obsah

Seznam použitých zkratek	11
Seznam použitých symbolů	12
1. Úvod.....	13
2. Teoretická část	14
2.1 Historie.....	14
2.2 Základní principy	15
2.2.1 Magnetický moment a spin.....	15
2.2.2 Zeemanův jev	17
2.2.3 Boltzmannovo rozdělení	18
2.2.4 Precese	18
2.2.5 Jev magnetické rezonance	19
2.2.6 Sklápěcí úhel.....	20
2.2.7 Relaxace.....	20
2.2.7.1 Relaxační čas T_1	21
2.2.7.2 Relaxační čas T_2	21
2.3 MR pulzní sekvence.....	22
2.3.1 Spin-echo	22
2.3.2 Gradient-echo.....	22
2.4 Vážení signálu.....	23
2.5 MR spektroskopie	23
2.5.1 Chemický posun	24
2.5.2 Vodíková magnetická rezonanční spektroskopie (^1H MRS)	24
2.5.3 Fosforová magnetická rezonanční spektroskopie (^{31}P MRS)	26
2.6 Konstrukce magnetické rezonance	26
2.6.1 Magnet	27
2.6.2 Radiofrekvenční cívka	27
2.6.3 Gradientní cívky	27
2.7 Zpracování MRS signálu	28
2.7.1 Analogově digitální převodník	28
2.7.2 Fourierova transformace	29
2.7.2.1 Diskrétní Fourierova transformace	29
2.7.3 Zero-filling	30
2.7.4 Apodizace	31
3. Výzkumná část.....	32
3.1 Cíle a výzkumné předpoklady	32
3.2 Metodika výzkumu	32

3.3 Softwarové vybavení MR tomografu	32
3.4 Vlastní program pro načtení a zpracování spektroskopických dat	33
3.4.1 Aplikování metody zero-filling	34
3.4.2 Spektrogram.....	36
3.4.3 Ovládací panel	38
3.4.4 Aplikování metody apodizace	39
3.4.5 Výpočet hodnoty SNR	42
3.4.6 Koncentrace metabolitu	45
3.4.7 Export dat.....	47
3.5 Ukázka využití prohlížeče spekter	48
3.5.1 Kalibrační křivka	49
3.5.2 Příprava vzorků.....	49
3.5.3 Měření pomocí MR tomografu	50
3.5.4 Výsledky měření kalibrační křivky.....	51
4. Diskuze	55
5. Návrh doporučení pro praxi.....	57
6. Závěr	58
Seznam použité literatury	59
Seznam tabulek	62
Seznam grafů	63
Seznam obrázků.....	64
Seznam zdrojových kódů.....	65
Seznam příloh	66

Seznam použitých zkratek

arb. u.	Zástupná jednotka
ADC	Analogově digitální převodník
ADP	Adenosindifosfát
ATP	Adenosintrifosfát
BW	Šířka pásma
CaIP ₆	Fytát vápenatý
Cr	Kreatin
DFT	Diskrétní Fourierova transformace
FFT	Rychlá Fourierova transformace
FID	Volné doznívání indukce
FWHM	Pološířka
GUI	Grafické uživatelské rozhraní
IDFT	Inverzí diskrétní Fourierova transformace
mI	Myo-Inositol
MR	Magnetická rezonance
MRI	Zobrazování magnetickou rezonancí
MRS	Magnetická rezonanční spektroskopie
NAA	N-acetylaspartát
NMR	Nukleární magnetická rezonance
PCr	Fosfokreatin
PD	Protonová hustota
Pi	Anorganický fosfát
ppm	Částic na milion
RF	Radiofrekvenční
SNR	Poměr signál-šum
TE	Echo čas
tCho	Cholinové sloučeniny
TR	Repetiční čas

Seznam použitých symbolů

<i>Veličina</i>	<i>Jednotka</i>	<i>Význam veličiny</i>
B_0	[T]	Vnější magnetické pole
B_1	[T]	Magnetické pole RF pulzu
E	[J]	Energie
f	[Hz]	Frekvence
f_L	[Hz]	Larmorova frekvence
I	[A]	Proud
I_s	[–]	Spinové kvantové číslo
L	[kg · m ²]	Moment hybnosti
m	[kg]	Hmotnost
m_I	[–]	Počet možných spinových stavů
M	[–]	Vektor magnetizace
N	[–]	Počet vzorků
N	[–]	Hodnota šumu
N_E	[–]	Počet jader v energetické hladině
q	[C]	Náboj
r	[m]	Poloměr
S	[–]	Amplituda signálu
t	[s]	Čas
T	[K]	Termodynamická teplota
T_1	[s]	Podélná relaxační doba
T_2	[s]	Příčná relaxační doba
T_2^*	[s]	Efektivní příčná relaxační doba
v	[m · s ⁻¹]	Rychlost
α	[rad]	Úhel vychýlení
γ	[T ⁻¹ · s ⁻¹]	Gyromagnetický poměr
δ	[ppm]	Chemický posun
μ	[A · m ²]	Magnetický moment
k	$1,3807 \times 10^{-23} [J \cdot K^{-1}]$	Boltzmannova konstanta
h	$6,6262 \times 10^{-34} [J \cdot s]$	Planckova konstanta
\hbar	$1,0546 \times 10^{-34} [J \cdot s]$	Redukovaná Planckova konstanta

1. Úvod

Zobrazování magnetickou rezonancí (MRI) i magnetická rezonanční spektroskopie (MRS) jsou neinvazivní diagnostické metody založené na principu měření indukovaného signálu z excitovaných atomových jader. Zatímco MRI poskytuje anatomickou informaci zkoumaného objektu, MRS udává biochemické složení ve vyšetřované oblasti. Obě metody se neustále vyvíjejí, čímž dochází ke zrychlování a zpřesňování diagnostiky.

Úvod teoretické části práce bude věnován historickému exkurzu z oblasti jevu magnetické rezonance i s následným popisem těchto fyzikálních principů. Podstatná část teoretické části se bude zabývat vlastnostmi a využitím MRS, součástí bude i teorie z oblasti signálů, která bude využita při zpracovávání výzkumné části.

Výzkumná část této práce si klade za cíl vytvoření počítačového programu, který bude schopen získaná spektroskopická data z magnetického rezonančního tomografu zpracovat na základě získaných teoretických znalostí a rešerše profesionálního software, s kterým bude námi napsaný program porovnán.

2. Teoretická část

2.1 Historie

Zobrazování magnetickou rezonancí je v současnosti jednou z nejčastějších diagnostických metod užívaných v lékařství. Cesta, která vedla k dnešní podobě, byla ovšem dlouhá. Od objevů základních fyzikálních principů jevu magnetické rezonance až po samotné prvotní aplikace v medicíně uběhly desítky let.

V roce 1922 se uskutečnil Stern-Gerlachův experiment, při kterém byl vyslán paprsek iontů stříbra skrz nehomogenní magnetické pole na detektor. Bylo předpokládáno, že ionty dopadnou na přibližně stejnou pozici detektoru, ovšem kromě jednoho spojitého místa, kam ionty měly dopadnout, vznikly takové oblasti dvě. Tato situace nastala z důvodu existence elektronového spinu, a tedy rozdělení do energetických hladin. U stříbra dochází ke vzniku právě dvou energetických hladin. Jedná se o praktickou ukázkou Zeemanova jevu (více v kapitole 2.2.2 *Zeemanův jev*). O této vlastnosti částic nemělo duo vědců Otto Stern a Walther Gerlach ponětí. S interpretací tohoto experimentu přišla o tři roky později dvojice Samuel Goudsmit a George Uhlenbeck (Milner, 2013).

V témže roce byl Wolfgangem Paulim vysloven tzv. Pauliho vylučovací princip, který popisuje, že každá elementární částice se od jiné liší v hodnotě alespoň jednoho kvantového čísla, což bez předchozího popsání spinového kvantového čísla nebylo teoreticky splněno (Milner, 2013).

Jev magnetické rezonance (MR) byl poprvé pozorován a správně popsán roku 1938 Isidorem Isaacem Rabi. Roku 1944 získává Nobelovu cenu za fyziku, za vývoj v oblasti rezonančních metod při pozorování magnetických vlastností atomového jádra (Edelman, 2014).

Roku 1946 došlo k nezávislému objevu, že MR jde aplikovat i na kapaliny a pevné látky. Edward Purcell a Felix Bloch, získali společně za toto zjištění Nobelovu cenu za fyziku v roce 1952 (Hrabal, 2017).

Na začátku 50. let zjistilo duo vědců Fuchun Yu a Warren Proctor, že rezonanční frekvence funkčních skupin v molekule se liší a díky tomu jsou schopni stanovit strukturu dané molekuly (Graff, 2019).

S potenciálním lékařským využitím přišel roku 1971 Raymond Damadian, který popsal, jak se liší relaxační časy T_1 a T_2 mezi různými tkáněmi, zdravými či kancerózními. Následujícího roku si nechal podat žádost o patent na zařízení, které by bylo schopno detekovat rakovinné tkáně. Roku 1977 Damadienova společnost sestrojila první zařízení, které umožňovalo celotělové zobrazení lidského organismu. Doba měření se pohybovala v jednotkách hodin (Vlaardingerbroek a Boer, 1999).

Ovšem už v roce 1972 Paul Lauterbur vytvořil první MR snímek zobrazující vodu ve zkumavce za pomoci gradientů, které umožňují prostorově kódovat informaci. Lauterbur také provedl první sken živého tvora – škeble (Becker, 2007).

Roku 2003 získává společně Paul Lauterbur a Peter Mansfield, který se zapříčinil za zdokonalení Lauterburovi metody a vytvoření matematického postupu, pro rychlejší analýzu signálu a rekonstrukci MR obrazu, Nobelovu cenu za jejich objevy (Edelman, 2014).

První MR tomograf na našem území byl instalován v roce 1987 v pražském Institutu klinické a experimentální medicíny, pod vedením profesora Alfréda Belána. V současnosti se v České republice vyskytuje kolem jedné stovky MR zařízení (Tintěra, 2017). První tomograf s podporou ^1H spektroskopie byl zprovozněn v roce 1991 ve Fakultní nemocnici Královské Vinohrady (Dezortová, Pajuelo a Hájek, 2017).

2.2 Základní principy

Fyzikální principy, které umožnily vznik MR zobrazování, či spektroskopii, byly objeveny povětšinou už na konci 19. století, nebo v průběhu první poloviny 20. století. V následujících kapitolách jsou tyto principy popsány.

2.2.1 Magnetický moment a spin

Každý otáčející objekt se vyznačuje momentem hybnosti, jenž popisuje snahu tělesa tento pohyb zachovat dle 1. Newtona pohybového zákona – Zákon setrvačnosti. Pro subatomární částice (elektrony, protony, neutrony) platí, že mají tzv. vlastní moment hybnosti neboli spin (Graff, 2019).

Tab. 1 Pravidla pro číselnou hodnotu spinu (Ibrahim, 2017, s. 85)

Nukleonové číslo	Počet protonů	Počet neutronů	Spin.kvantové číslo (I_s)	Příklad
Sudé	Sudé	Sudé	0	^{16}O
	Liché	Liché	(1, 2,...)	^2H
Liché	Sudé	Liché	(1/2, 3/2,...)	^{13}C
	Liché	Sudé	(1/2, 3/2,...)	^{31}P , ^1H , ^{19}F

Pokud nabitě částice v systému rotují, platí že magnetický moment μ je úměrný momentu hybnosti L . Představíme-li si částici o hmotnosti m , náboji q pohybující se po kružnici s poloměrem r , rychlostí v , kde čas jedné otočky je $t = \frac{2\pi r}{v}$ je tímto vytvářena vodivá smyčka. Poté můžeme říct, že proud je roven

$$I = \frac{q}{t} = \frac{qv}{2\pi r}$$

Rovnice 1 (Tipler, 2012 s. 78)

Moment hybnosti částice se rovná

$$L = mrv$$

Rovnice 2 (Tipler, 2012 s. 78)

Magnetický moment μ vodivé smyčky je definován pomocí elektrického proudu I , který prochází vodivou smyčkou o obsahu S .

$$\mu = IS = \left(\frac{qv}{2\pi r}\right) (\pi r^2) = \frac{1}{2} qrv$$

Rovnice 3 (Tipler, 2012 s. 78)

Porovnáním Rovnice 2 a 3 získáme vztah, pomocí kterého můžeme magnetický moment zapsat jako

$$\mu = \frac{q}{2m} L = \gamma L$$

Rovnice 4 (Mills et al., 1993 s. 21)

Kde γ značí gyromagnetický poměr, což je konstanta daná pro každý izotop, a je rovna magnetickému momentu jádra a jeho celkovému momentu hybnosti.

Z kvantového pohledu je celkový moment hybnosti jádra L roven

$$L = \frac{h}{2\pi} \sqrt{I_s(I_s + 1)}$$

Rovnice 5 (Atkins, Paula a Keeler, 2018 s. 488)

Veličina h odpovídá Planckově konstantě, I_s značí hodnotu spinového kvantového čísla. Z tohoto vztahu vyplývá, že pouze jádra s hodnotou spinového kvantového čísla $I_s \geq \frac{1}{2}$, mají magnetický moment a jsou tedy MR aktivní (Ibrahim, 2017).

V klinické praxi i při experimentálních měření je nejužívanější atom vodíku ^1H . Mezi izotopy, které se taktéž používají patří ^{13}C , ^{19}F , ^{23}Na a ^{31}P . Tato nevodíková jádra se zkráceně označují jako X-jádra (Šedivý et al., 2017). Atom vodíku ^1H je nejpoužívanějším z důvodu vysoké abundance, neboli přirozeného výskytu v těle. Základní parametry užívaných jader můžeme vidět v Tab. 2 (Ulmer, Backens a Ahlhelm, 2016).

Tab. 2 Vlastnosti nejčastěji užívaných jader při MR (Graf, 2019, s. 7)

<i>Izotopy</i>	<i>Spinové kvantové číslo (I_s)</i>	<i>Gyromagnetický poměr (γ)</i>	<i>Abundance [%]</i>
^1H	1/2	42,58	99,99
^{13}C	1/2	10,71	1,108
^{19}F	1/2	40,06	100,0
^{23}Na	3/2	11,26	100,0
^{31}P	1/2	17,24	100,0

Nepůsobí-li na jádra vnější magnetické pole, je poté orientace těchto jader v prostoru náhodná. Dochází k tomu, že se vlivy magnetických momentů navzájem vyruší a nevytvoří makroskopický magnetický efekt (Ibrahim, 2017).

2.2.2 Zeemanův jev

Vložíme-li jádra, jejichž hodnota spinového kvantového čísla $I_s \geq \frac{1}{2}$, do magnetického pole, dojde k rozštěpení jejich energetických hladin. Počet vzniklých energetických hladin a tedy možných tzv. spinových stavů je dán vztahem

$$m_l = 2I_s + 1$$

Rovnice 6 (Atkins, Paula a Keeler, 2018, s. 488)

Vezmeme v potaz jádra vodíku, jejichž spinové kvantové číslo je rovno $I_s = \frac{1}{2}$. Platí, že se jádra vodíku, budou nacházet v jednom ze dvou možných spinových stavů, které jsou označovány jako $s\left(\pm\frac{1}{2}\right)$. Jev vzniku energetických hladin se nazývá Zeemanův jev (Graff, 2019).

Hodnota energetického rozdílu mezi dvěma hladinami je definována jako

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0$$

Rovnice 7 (Atkins, Paula a Keeler, 2018, s. 489)

Z rovnice vyplývá, že rozdíl energetických hladin ΔE je přímo úměrný velikosti magnetického pole B_0 , protože \hbar (redukováná Planckova konstanta) a γ jsou konstanty.

Stav o nižší energetické hodnotě se označuje jako $s\left(+\frac{1}{2}\right)$ a nazývá se spin-up. Vektor magnetizace je souhlasný s vektorem B_0 . Stav o vyšší energetické hladině se říká spin-down a značí se $s\left(-\frac{1}{2}\right)$. Vektor magnetizace je taktéž rovnoběžný s vektorem B_0 , ale má opačný směr. Být v nižším energetickém stavu je pro jádra pravděpodobnější, proto se s rostoucím B_0 jich více uspořádá shodně právě se směrem vektoru B_0 (Graff, 2019).

2.2.3 Boltzmannovo rozdělení

Poměr spin-up a spin-down jader je dán Boltzmannovým rozdělením

$$\frac{N_{E-}}{N_{E+}} = \exp\left\{\frac{\Delta E}{kT}\right\}$$

Rovnice 8 (Beneš, Jiráček a Vítek, 2015, s. 301)

Hodnoty N_{E-} a N_{E+} udávají počet spinů nacházejících se v nižší a vyšší energetické hladině, ΔE energetický rozdíl mezi dvěma hladinami, k je Boltzmannova konstanta a T termodynamická teplota.

Přibližný rozdíl, ve prospěch spinů nacházejících se v nižší energetické hladině, v závislosti na B_0 se udává jako jednotky až nižší desítky spinů na jeden milion spinů (Beneš, Jiráček a Vítek, 2015).

2.2.4 Precese

Působením vnějšího magnetického pole dochází k rozpohybování jader. Pohybují se tzv. precesním pohybem, při kterém směr magnetického momentu opisuje kuželovou plochu. Tento pohyb si můžeme přiblížit také pomocí dětské hračky, přezdívané káča, která se taktéž pohybuje precesním pohybem. Frekvenci precese popisuje veličina nazvaná Larmorova frekvence f_L

$$f_L = \frac{\gamma B_0}{2\pi}$$

Rovnice 9 (Ibrahim, 2017, s. 6)

Kde γ je gyromagnetický poměr a B_0 popisuje sílu vnějšího magnetického pole (Ibrahim, 2017).

2.2.5 Jev magnetické rezonance

Při působení B_0 a následnému ustálenému stavu jader dochází k precesi podél vektoru B_0 . V systému se vyskytuje více spinů na nižší energetické hladině, tedy ve stavu spin-up, proto platí, že vektor magnetizace M_0 , výsledek superpozice jednotlivých magnetických momentů, je spolu se směrem B_0 paralelní se shodnou polaritou. Longitudinální rovina Z označuje dle dohody směr, jenž je rovnoběžný s vektorem B_0 . Vektor magnetizace je také relativně malý vůči B_0 . Je tedy nutné vychýlit jádra směrem k rovině kolmé na longitudinální rovinu, označovanou XY nebo příčnou, abychom mohli vektor magnetizace zaregistrovat. Vychýlení můžeme docílit působením krátkých radiofrekvenčních (RF) pulzů neboli působením externího magnetického pole B_1 (Bitar et al., 2006).

Poté, co jsou jádra vystavena RF pulzu o frekvenci f , která je rovna frekvenci f_L nastává tzv. rezonance. Při splnění rezonanční podmínky dochází k absorpci energie fotonu jádrem a dojde k jejich přechodu do vyšší energetické hladiny. Dochází tedy ke změně četností spinových stavů, s čímž souvisí změna velikosti, a i možná změna polarity vektoru magnetizace v rovině Z (Atkins, Paula a Keeler, 2018).

Atom může přejít z nižší do vyšší energetické hladiny, pohltí-li foton o specifické frekvenci f , energie tohoto absorbovaného fotonu musí být rovna energetickému rozdílu mezi dvěma hladinami, přičemž vztah mezi energií a frekvencí je dán Planckovým vztahem

$$E = hf$$

Rovnice 10 (Atkins, Paula a Keeler, 2018, s. 489)

$$f = \frac{\gamma B_0}{2\pi}$$

Rovnice 11

Sjednocením Rovnice 7 a 10, získáváme v Rovnici 11 vztah pro hodnotu frekvence, z které vyplývá, že potřebná frekvence RF pulzu, tak aby nastal stav rezonance, musí být rovna Larmorově frekvenci (viz Rovnice 9). Frekvence je závislá na síle B_0 a typu jádra, které se liší svými γ . S rostoucím B_0 roste i ΔE a je potřebná větší frekvence (větší energie) RF pulzu, abychom dosáhli přechodu mezi energetickými stavy.

Poté, co je rotující vektor magnetického momentu M_0 , vlivem aplikace RF pulzu, vychýlen, dochází k indukci napětí v přijímací cívce a nastává vznik MR signálu, nazývaného free induction decay, volné dozívání indukce (FID), pomocí kterého jsme schopni analyzovat MR signál. Nejjednodušší sekvence, která je tvořena pouhým jedním RF pulzem, je především využívána při MRS (Bitar et al., 2006).

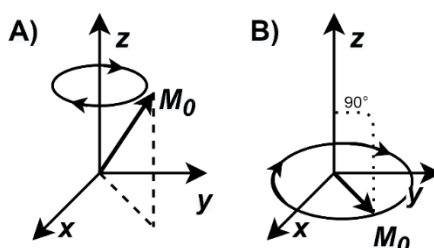
2.2.6 Sklápěcí úhel

RF pulz působící po krátký časový úsek způsobuje vychýlení vektoru magnetizace do příčné roviny, tento úhel je dán vztahem

$$\alpha = \gamma B_1 t$$

Rovnice 12 (Ibrahim, 2017, s. 87)

kde γ je gyromagnetický poměr, t doba trvání RF pulzu s amplitudou B_1 . Nejčastěji se využívá úhel o hodnotě 90° , který sklopí kompletně vektor magnetizace M_0 do roviny XY. U rychlejších sekvencí se spíše využívají úhly $< 90^\circ$ (Beneš, Jiráček a Vítek, 2015).



Obr. 1 A) Precese podél osy Z, B) Precese po aplikování 90° pulzu (Zdroj: autor)

2.2.7 Relaxace

Po působení RF pulzu se jádra snaží vrátit zpět do rovnovážné polohy. Dochází k navrácení vychýleného vektoru magnetizace zpět do roviny Z. Tento proces se označuje jako relaxace (Ibrahim, 2017).

2.2.7.1 Relaxační čas T_1

Při relaxaci klesá energie spinového systému, získaná absorpcí, jádra se opět snaží zarovnat paralelně s vektorem B_0 a dostat se tak do rovnovážného stavu, který je energeticky méně náročný (Bitar et al., 2006).

Relaxace T_1 , anebo podélná relaxační doba, označuje čas potřebný pro vektor magnetizace k získání 63 % své původní hodnoty M_0 v rovině Z. Původní hodnoty M_0 dosáhne přibližně po uplynutí pětinásobku času T_1 . Jedná se o konstantu, která je charakteristická pro různé tkáně i sloučeniny (Beneš, Jiráček a Vítek, 2015).

Proces obnovy M_z můžeme popsat exponenciální funkcí.

$$M_z = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}\right)$$

Rovnice 13 (Ibrahim, 2017, s. 88)

2.2.7.2 Relaxační čas T_2

Během relaxace roste amplituda M_z a klesá M_{XY} . Působením RF pulzu, jsou v momentě vychýlení jádra a jejich spiny, která tvoří M_{XY} sfázované. V řádu milisekund nastává rozfázování z důvodu přirozené interakce mezi jádry a jejich magnetickými póly, nastává konec vzájemné fázové koherence spinů, jádra poté rotují s lehce rozdílnými frekvencemi a dochází ke stále měnícímu se fázovému posunu, tímto postupně klesá amplituda M_{XY} a po určité době nastává kompletní ztráta signálu (Ibrahim, 2017).

Relaxace T_2 , či příčná relaxační doba vyjadřuje čas, za který příčná složka vektoru M_{XY} dosáhne 37 % své maximální hodnoty (Chavhan et al., 2009).

$$M_{XY} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}}$$

Rovnice 14 (Ibrahim, 2017, s. 88)

Při reálném použití MR dochází k rychlejšímu úbytku vektoru M_{XY} , než při běžných změnách na atomové úrovni, důvodem je nehomogenita magnetického pole. Tato doba je značena T_2^* . Zatímco relaxace T_2 je označovaná jako „přirozená“, tak T_2^* se říká „efektivní“. Platí vždy, že $T_2 \geq T_2^*$ (Chavhan et al., 2009).

Vztah pro T_2^* relaxaci můžeme zapsat jako

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma\Delta B$$

Rovnice 15 (Chavhan et al., 2009, s. 1434)

Kde ΔB značí nehomogenitu magnetického pole a γ gyromagnetický poměr.

2.3 MR pulzní sekvence

Signál můžeme detekovat pouze pokud se vektor magnetizace nachází v příčné rovině. Při vyslání jednoho devadesátistupňového RF pulzu se v přijímacích cívkách generuje signál FID, který v čase exponenciálně klesá podle tvaru křivky T_2^* . Nevýhody FID jsou následující: úbytek signálu je velmi rychlý a také, že je závislý na veličině T_2^* , nikoliv T_2 .

2.3.1 Spin-echo

Pomocí tzv. spin echo sekvence jsme schopni vyřešit rychlý úbytek signálu i zanedbat nehomogenitu magnetického pole. Tato sekvence se skládá ze 2 pulzů. První excitační 90° pulz a následný tzv. refokusační 180° pulz aplikovaný v čase $TE/2$. Aplikací refokusačního pulzu dochází opět k fázové koherenci spinů, čímž získáme kvalitnější signál. Doba mezi aplikováním prvního pulzu a následným vrcholem signálu po refokusaci se označuje jako echo čas (TE). Repetiční čas (TR) udává časový úsek mezi dvěma excitačními pulzy (Jung a Weigel, 2013).

2.3.2 Gradient-echo

Zatímco spin-echo využívalo dvou RF pulzů, gradient-echo využívá pouze jednoho pulzu se sklonným úhlem $< 90^\circ$. Po aplikování pulzu a za pomoci tzv. gradientu G_x (více kapitola 2.6.3 *Gradientní cívky*) nastane zvýšení nehomogenity B_0 , čímž dojde k rychlejšímu rozfázování spinů, rychlejší ztrátě signálu. Poté se tentýž gradient se stejnou intenzitou, ale opačnou polaritou aplikuje znovu a způsobí opětovné sfázování a s tím spojený vznik echa (Markl a Leupold, 2012).

Tab. 3 Porovnání Gradient a Spin echa (Bitar, 2006)

	<i>Gradient-echo</i>	<i>Spin-echo</i>
<i>Počet RF pulzů</i>	1 RF pulz	2 RF pulzy
<i>Sklápěcí úhel</i>	Excitační: $<90^\circ$	Excitační: 90° Refokusační: 180°
<i>Doba akvizice</i>	Kratší	Delší

2.4 Vážení signálu

V závislosti na námi nastaveném sklápěcím úhlu, TE a TR, jsme schopni ovlivnit zobrazený výsledný kontrast. Základní MR kontrasty jsou tři, T_1 -vážený, T_2 -vážený a PD.

T_1 -vážený, který akcentuje rozdílné T_1 relaxační časy mezi tkáněmi. Parametry skenu jsou krátké TE a krátké TR. Dochází k potlačení efektu T_2 relaxace. Na T_1 -váženém obrazu se s vyšším kontrastem zobrazí tkáň s nižším časem T_1 . Mezi takovou tkáň patří tuk, jehož jádra se rychleji zarovnají paralelně s vektorem B_0 . Naopak vodě trvá mnohem déle zarovnání paralelně s B_0 , proto se nezobrazí s takovou intenzitou, je tmavá. Využívá se především pro anatomická zobrazení (Beneš, Jiráček a Vítek, 2015).

Pro T_2 -vážený obraz platí opak. Tuk se zobrazí tmavě a tkáň tvořená vodou jasněji. Využívá se pro patologická zobrazení, protože léze je často doprovázena edémem. Pro tento sken platí dlouhé TE i TR. Dlouhé TR minimalizuje vliv T_1 relaxace, protože všechny tkáň mají dostatek času se vrátit do rovnovážného stavu (Jung a Weigel, 2013).

Třetím obrazem je PD obraz, podle anglického Proton Density (protonová hustota). Takovýto obraz získáme minimalizací T_1 a T_2 efektu. Dlouhým TR, respektive krátkým TE. Toto zobrazení se především používá při kloubních vyšetřeních (Radue et al., 2016).

2.5 MR spektroskopie

MRS je neinvazivní analytická technika, která pracuje na stejných fyzikálních principech jako MRI. Pokud mluvíme o nelokalizované spektroskopii, tak je narozdíl od MR zobrazování jednodušší v tom, že nevyužívá gradientní cívky. Poskytuje sadu informací o tom, jaké jsou hodnoty rezonanční frekvence (chemický posun) jednotlivých metabolitů nebo látek v pozorovaném objektu a s nimi spojené koncentrace, které jsou přímo úměrné integrálu pozorovaného signálu (Stagg a Rothman, 2014).

2.5.1 Chemický posun

Z Rovnice 11 vyplývá, že velikost f je přímo úměrná B_0 . Při různých hodnotách B_0 není f , respektive f_L konstantní. Rovnice 11 platí taktéž pouze pro jedno izolované jádro. Ve skutečnosti jsou jádra ovlivněna i slabými magnetickými poli, které jsou tvořeny okolními elektrony. Toto výsledné slabé magnetické pole má opačný směr než B_0 a vytváří tzv. stínící efekt. U více stíněných jader dochází k rezonanci za nižší frekvence. Provádět vyhodnocení výsledného spektra v jednotkách frekvence (Hz) není vhodné z důvodu variability B_0 , proto došlo k zavedení jednotky tzv. částic na milion (ppm), pro kterou platí následující přepočít (Hájek a Dezortová, 2008).

$$\delta = \frac{10^6(f_v - f_{ref})}{f_{ref}} \approx \frac{10^6(f_v - f_{ref})}{f_{spc}}$$

Rovnice 16 (Hájek a Dezortová, 2008, s. 187)

Výsledek δ udává vzdálenost zkoumaného vzorku od referenčního vzorku na ppm škále (chemický posun), f_v a f_{ref} značí rezonanční frekvenci zkoumaného vzorku, respektive referenčního vzorku, f_{spc} je frekvence spektrometru. Se změnou f_{spc} se úměrně k ní mění i f_v , platí, že chemický posun dané sloučeniny je stálý.

2.5.2 Vodíková magnetická rezonanční spektroskopie (^1H MRS)

Vzhledem k vlastnostem vodíku, jako je jeho vysoká hodnota gyromagnetického poměru, přirozeného výskytu, a že téměř všechny metabolity vzniklé v tělech zvířat a lidí taktéž obsahují vodík, se ^1H MRS stává ideálním nástrojem pro sledování vysokého počtu metabolitů v tkáních (Mayfield, 2018). Slouží k poskytnutí klinických informací, jako je sledování metabolických změn v mozkové tkáni a s ní spojených onemocnění, jako jsou například nádory na mozku či epilepsie (Attia, 2020). Nevýhodou je, že při nízkém frekvenčním rozlišení může nastat překryv rezonančních frekvencí jednotlivých metabolitů, což může komplikovat podrobnější analýzu spektra (Markley et al., 2017).

Níže jsou popsány metabolity s vysokou hodnotou intenzity pozorovatelné při ^1H MRS mozku.

- **N-acetylaspartát (NAA)**

NAA se výlučně nachází v centrální a periferní nervové soustavě. Jedná se o metabolit, který je po kyselině glutamové nejvíce koncentrovaný v mozku. Přesná funkce tohoto

metabolitu není známa, ale představuje marker neuronální životaschopnosti. K rezonanci funkční skupiny CH_3 u NAA dochází na hodnotě 2 ppm. Jedná se o signál s největší intenzitou při hodnocení spektra zdravé mozkové tkáně. Skupina CH_2 , které neprodukuje tak výrazný signál rezonuje na 2,62 ppm (Hájek a Dezortová, 2008). Při patologických stavech, které jsou spojeny s úbytkem neuronů, jako je například skleróza nebo cévní mozková příhoda dochází ke snížení intenzity signálu NAA. Při Canavonové nemoci, která způsobuje degenerativní onemocnění mozku, dosahuje metabolit vyšších intenzit, z důvodu hromadění NAA v těle (Dezortová, Pajuelo a Hájek 2017).

- **Kreatin a Fosfokreatin (Cr a PCr)**

Cr i PCr slouží jako zdroj energie při biochemických procesech. Z chemického pohledu se jedná o podobné sloučeniny. Hodnoty, během kterých rezonují, se tedy zásadně neliší, mezi metabolity nedochází k vzájemnému chemickému posunu. Hodnoty chemického posunu jednotlivých funkčních skupin jsou následující: 3,01 ppm (CH_3 skupina) a 3,9 ppm (CH_2 skupina). Hladina Cr a PCr je odrazem buněčného metabolismu adenosintrifosfátu (ATP) (Hájek a Dezortová, 2008).

- **Myo-Inositol (mI)**

Dvojicí signálů je také tvořen mI, první se nachází v poloze 3,56 ppm, druhý 4,06 ppm. Předpokládá se, že se jedná o marker astrocytů, což jsou gliové buňky, zajišťující kontakt mezi neurony a krevními cévkami. Intenzita signálu roste při Alzheimerově chorobě a jiných poškozeních mozku (Graff, 2019).

- **Cholinové sloučeniny (tCho)**

Signál, vyskytující se kolem hodnoty 3,2 ppm náleží sloučeninám, obsahující cholin, tedy především volný cholin, glycerolfosforylcholin a fosforylcholin. Podobně jako Cr a PCr, tak i tCho, vzhledem ke své struktuře, rezonují na téměř shodné frekvenci. Tento pík se spolu s NAA považuje za nejvýznamnější signál při ^1H MRS mozku. Nádorová onemocnění jsou doprovázena zvýšenou koncentrací tCho, vyšší intenzita signálu upozorňuje na porušení buněčných membrán (Starčuk et al., 2005).

2.5.3 Fosforová magnetická rezonanční spektroskopie (^{31}P MRS)

Fosfor je hned po vodíku, nejčastěji užívané jádro při využití MRS. Využívá se především při popisu energetického metabolismu tkáně a stalo se běžným klinickým vyšetřením pro pacienty se svalovými potížemi (Hájek et al., 2017).

Dále jsou popsány tři nejsnadněji rozlišitelné metabolity při ^{31}P MRS kosterního svalstva.

- **Fosfokreatin (PCr)**

PCr je sloučenina, která se vyskytuje především v kosterním svalstvu, během zvýšeného energetického výdeje slouží jako zásobárna energie. Při pozorování spektra u zdravého jedince z kosterního svalstva má PCr největší intenzitu ze všech pozorovatelných metabolitů. Nelze jej ovšem pozorovat při skenu jater nebo ledvin. PCr je považován za referenční signál, rezonuje tedy při nulovém chemickém posunu (Šedivý et al., 2017).

- **Anorganický fosfát (Pi)**

Substrátem, či produktem při chemických reakcích energetického metabolismu je Pi. Zatímco hodnota chemického posunu PCr je neměnná, hodnota chemického posunu Pi se odvíjí od hodnoty intracelulárního pH. Za běžných podmínek je jeho hodnota rovna 5,0 ppm (Valkovič, Chmelík a Krššák, 2017).

- **Adenosintrifosfát (ATP)**

ATP je nukleotid a zároveň nejvýznamnější část energetického metabolismu. Při hydrolýze ATP na adenosindifosfát (ADP) a Pi nastává uvolnění značného množství energie, jenž je využívána ve většině buněčných procesech. Vzhledem ke své struktuře (3 atomy fosforu) je při spektroskopii možno pozorovat tři jednotlivé signály ATP, označovány řeckými písmeny α (-7,5 ppm), β (-16,3 ppm) a γ (-2,5 ppm) (Šedivý et al., 2017).

2.6 Konstrukce magnetické rezonance

MR tomograf je složité zařízení, jehož kompletní popsání by bylo mimo rámec této práce. Proto se především krátce zaměříme na tři základní komponenty – magnet, radiofrekvenční a gradientní cívky.

2.6.1 Magnet

Základní stavební jednotkou je hlavní magnet, jehož vlastnosti nejvíce ovlivňují kvalitu měření a výsledného obrazu. Účelem hlavního magnetu je vytvoření co nejvíce homogenního magnetického pole B_0 , které uspořádá magnetické momenty jader jedním směrem. Magnety můžeme rozdělit na tři základní druhy. Prvním z nich jsou *permanентní magnety*, které dosahují relativně nízkých intenzit B_0 (0,3 T) s čímž je spojena extrémně nízká citlivost a rozlišovací schopnost. Nejvíce užívané jsou *supravodivé magnety*, z jejichž vlastností vyplývá nutnost neustálého chlazení za pomoci kapalného helia, čímž se zvyšují provozní náklady, odměnou je však homogenní pole s vysokou intenzitou dosahující jednotky tesla. Pro klinické využití jsou nejčastější systémy o intenzitě 1,5 až 3 T. Pro experimentální měření se využívají magnety o 4 až 21 T. Mezistupněm jsou *rezistentní magnety*, u kterých magnetické pole vzniká průchodem elektrického proudu vodiči, čímž dochází k zahřívání a je potřeba zajistit jejich chlazení. Nehomogenita magnetického pole či pohyb pacienta „uvnitř“ magnetu jsou hlavními důvody zvýšených hodnot šumu, proto je potřeba se těchto situací co nejvíce vyvarovat (Bushberg et al., 2012).

2.6.2 Radiofrekvenční cívka

RF cívka je nedílnou součástí MR, slouží k vyslání RF pulzu, jehož pomocí jsme schopni vychýlit vektor magnetizace jader kolmo na B_0 . Tímto dochází k synchronizaci magnetických momentů jader. Kromě vysílače mohou být RF cívky i v módu přijímače, kde dochází k indukci elektrického signálu v cívce z důvodu změny magnetických momentů při relaxaci. Tento signál je dále zpracováván a vyhodnocován (Gruber et al., 2018).

2.6.3 Gradientní cívky

Abychom byli schopni určit pozici vzniku signálu detekovaného přijímací cívkou, využijeme tři gradientních cívek (každá v jednom směru osy), tyto cívky tvoří přídatné slabé magnetické pole, jejichž intenzita se lineárně mění ve směru jednotlivých os. Tímto je záměrně narušena homogenita vnějšího magnetického pole B_0 . Tyto tři cívky jsou aktivní v závislosti na vybrané pulzní sekvenci. Pomocí prvního gradientu G_z , který působí podél směru B_0 vybíráme rozsah roviny řezu. Dochází k tomu, že v různých rovinách řezu mají jádra různou hodnotu f_L . Z toho vyplývá, že při aplikaci vhodného RF pulzu může nastat

rezonance pouze u jader v námi vybrané části roviny. Gradientem G_x ovlivníme taktéž velikost f_L jednotlivých jader tentokrát ve směru osy X , čímž nastává tzv. frekvenční kódování. Aplikování třetího gradientu v ose Y je označováno jako fázové kódování, u jader s vyšší hodnotou G_y se zvýší f_L , po deaktivaci tohoto gradientu dojde opět ke sjednocení f_L , ovšem za jiného fázového posunu v každé „vrstvě“ osy Y (Bushberg et al., 2012).

2.7 Zpracování MRS signálu

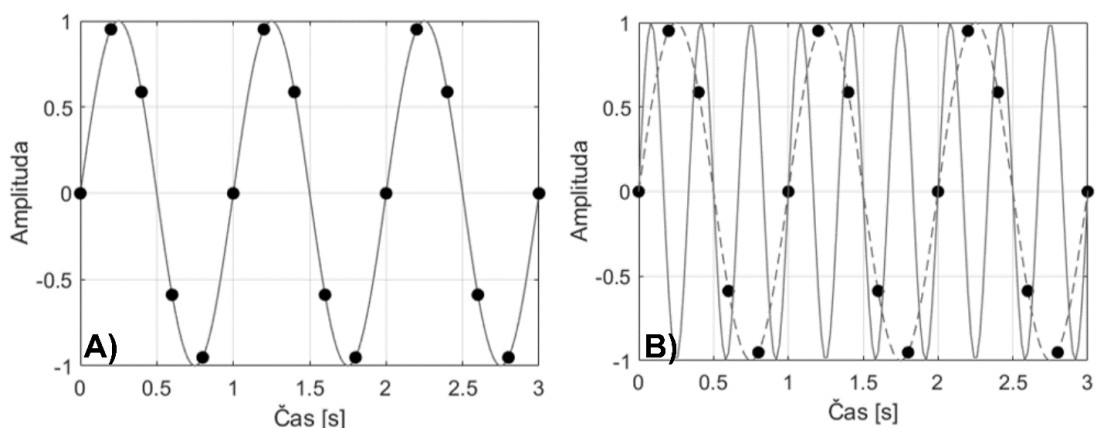
Abychom dostali MR do digitální podoby, musí nastat konverze analogového FID signálu, indukovaného v přijímací cívce, na signál digitální, který je dále zpracováván.

2.7.1 Analogově digitální převodník

Konverzi analogového signálu docílíme za pomoci analogově-digitálního převodníku (ADC), který měří okamžitou hodnotu FID v pravidelných časových intervalech (vzorkovací perioda), dochází poté k tzv. vzorkování. Obecně, můžeme říct, že čím více vzorků, tedy naměřených hodnot, tím vyšší rozlišení. S tímto souvisí vzorkovací frekvence, jenž popisuje počet naměřených vzorků za jednotku času. Abychom dosáhli kvalitní reprezentace signálu, musí ovšem platit Shannonův teorém, který říká, že vzorkovací frekvence f_s musí být větší nebo rovna dvojnásobku maximální frekvence signálu f_{max} . Není-li podmínka dodržena, může docházet k aliasingu, tedy zneřádnění signálu. Obě situace jsou znázorněny na Obr. 2 (McRobbie et al., 2007).

$$f_s \geq 2f_{max}$$

Rovnice 17 (Graff, 2019, s. 23)



Obr. 2 A) Náčrt dodržení Shannonova teorému, B) Náčrt nesplněného Shannonova teorému (Zdroj: autor)

2.7.2 Fourierova transformace

V technických aplikacích je signál funkcí, která předává informace o stavu a chování systému. Fourierova transformace je matematický aparát, který nám dává možnost rozložení signálu, který je zapsán jako funkce času, na jednotlivé frekvenční složky, abychom mohli daný systém lépe zhodnotit. Jako příklad zde máme Obr. 3 B) z kterého nejsme schopni poznat, z jakých frekvencí se daný signál skládá, ovšem po aplikování Fourierovy transformace viz Obr. 3 C) jsme schopni zjistit z kterých frekvencí je systém tvořen. Tímto nám vzniká frekvenční spektrum neboli rozdělení amplitud složek signálu vůči frekvenci. Poté můžeme dané spektrum analyzovat, či například použít filtr na potlačení nežádoucích frekvencí (Müller, 2015).

V dnešní době jsou obvykle užívány dva typy Fourierovy transformace pro výpočetní operace, diskretní Fourierova transformace (DFT) a rychlá Fourierova transformace (FFT). Kromě přímé DFT existuje i tzv. zpětná diskretní Fourierova transformace (IDFT), která naopak z výsledného spektra dokáže složit původní signál (Kido, 2015).

Výpočet Fourierovy transformace je následující, kde $g(f)$ je výstupní funkce a $g(t)$ vstupní funkcí.

$$g(f) = \int_{-\infty}^{\infty} g(t)e^{-2\pi ift} dt$$

Rovnice 18 (Müller, 2015, s. 46)

2.7.2.1 Diskretní Fourierova transformace

Jak už název napovídá, DFT můžeme aplikovat na diskretní (nespojité) signál. Takovýto signál získáme pomocí vzorkování během digitalizace. Užívá se pro výpočet spektra jakéhokoli nespojitého signálu (Müller, 2015).

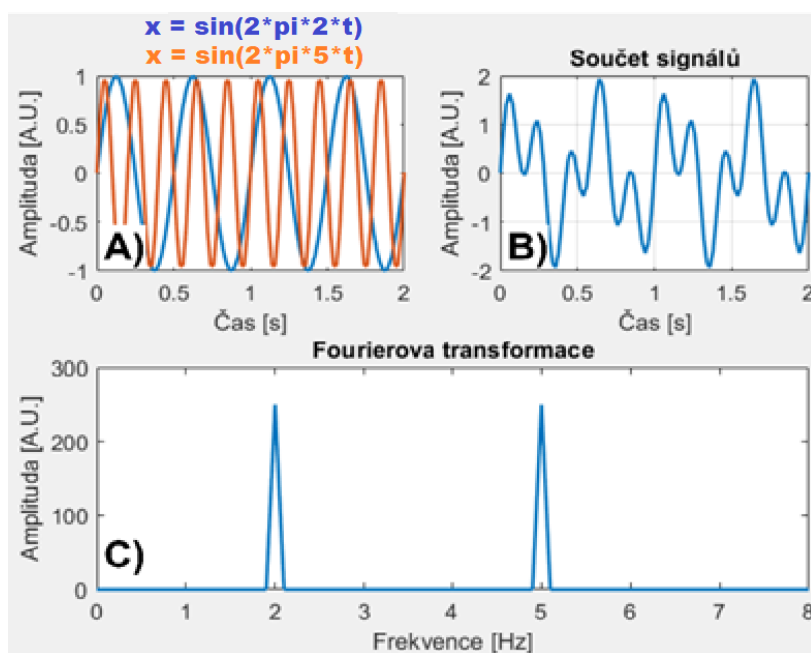
Vzorec pro výpočet diskretní Fourierovy transformace

$$X[k] = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} x(n) \cdot e^{\frac{-i \cdot 2 \cdot \pi \cdot n \cdot k}{N}}$$

Rovnice 19 (Müller, 2015, s. 52)

Kde $X[k]$ je k -tý koeficient spektra. N značí počet vzorků a $x(n)$ představuje vstupní signál v okamžiku.

Výpočet pomocí DFT u komplexnějších signálů je náročný pro výpočetní rychlost počítače, jelikož počet operací nutných pro výpočet výsledného spektra je roven N^2 . Tato hodnota může být však snížena za pomoci algoritmu FFT. Jedná se o implementaci optimalizované verze algoritmu DFT. Díky tomuto se počet operací nutný na výpočet sníží z N^2 na $N \log_2 N$. Pro výpočet FFT je vhodné, aby počet vzorků byl roven mocnině dvou. Například při 1024 vzorcích bude muset počítač spočítat při DFT 1048576 operací, při FFT pouze 10240 operací. Tedy více než 100krát méně. S rostoucím počtem vzorků se i tento poměr samozřejmě bude zvětšovat (Müller, 2015).



Obr. 3 A) Jednotlivé složky signálu, B) sečtené složky signálu, C) Rozložený signál za pomoci FFT (Zdroj: autor)

2.7.3 Zero-filling

Zlepšení rozlišení spektra může být dosaženo prodloužením času, při kterém dochází ke sběru dat, tzv. akviziční doba. Prodloužení akviziční doby může být docíleno snížením vzorkovací frekvence f_s , nebo zvýšením počtu vzorků N .

$$t = \frac{N}{f_s}$$

Rovnice 20 (Graff, 2019, s. 26)

Snížení vzorkovací frekvence je ovšem limitováno dodržením Shannonova teorému, aby nenastal aliasing neboli zkreslení signálu a s tím spojená ztráta informací, což nastává při nedodržení tohoto teorému, viz Rovnice 17. Snížení vzorkovací frekvence není tedy vhodná možnost. Z tohoto důvodu je spíše využíváno zvýšení, respektive přidání počtu

vzorků. Jelikož jsme ovšem využili všechny vzorky nesoucí informaci o signálu, využíváme přidání vzorků o nulové informační hodnotě, zvyšováním takovýchto vzorků může nastat, že se nepatrně sníží hodnota poměru signálu a šumu (SNR), protože jsme nabyli více šumu, přičemž hodnotné informace o signálu zůstaly neměnné. Tato metoda se nazývá zero-filling, volně přeloženo jako vyplnění nulami. Využívá se pro vylepšení čitelnosti námi hledaného spektra, aniž bychom potřebovali znát dodatečné informace o systému. Pokud výsledný signál FID neobsahuje počet vzorků rovný mocnině dvou, což je vhodné při FFT, můžeme taktéž využít metody zero-filling, pomocí které přidáme potřebný počet nulových bodů (Graff, 2019).

2.7.4 Apodizace

Kromě zero-fillingu, je také možné použít metodu apodizace, jakožto nástroj pro vylepšení rozlišení a vlastností NMR spektra. Během apodizace dochází ke konvoluci FID signálu $f(t)$, jeho tvaru si lze všimnout na Obr. 6, tento signál je následně násoben s funkcí filtru $f_{filtr}(t)$, která má typicky exponenciální průběh. Apodizace se využívá pro potlačení šumu krajních částí signálu, přičemž taktéž dochází k částečnému potlačení hledaného signálu (McRobbie et al., 2007).

3. Výzkumná část

3.1 Cíle a výzkumné předpoklady

Hlavním cílem této kvalifikační práce bylo vytvoření programu ve vývojovém prostředí MATLAB, pomocí kterého jsme schopni načíst a zpracovat spektroskopická data naměřená na experimentálním MR tomografu. Možnosti programu vznikly na základě rešerše profesionálního software a diskuze s vedoucím práce, tak aby bylo možné tento program využít i při praktických aplikacích. Ukázkou praktického využití bylo vytvoření kalibrační křivky nanočástic fytátu vápenatého (CaIP₆). Předpokládáme, že vytvořený program nebude dosahovat komplexnosti komerčního software, ale pro základní analýzu bude plně dostačující.

3.2 Metodika výzkumu

Výzkum byl realizován v období od listopadu 2020 do března 2021 v experimentální MR laboratoři, Institut Klinické a Experimentální Medicíny. K naměření experimentálních dat byl využit MR tomograf *Bruker Biospec 4.7T*. Program sloužící k načtení a zpracování spektroskopických dat byl vytvořen ve vývojovém prostředí MATLAB.

3.3 Softwarové vybavení MR tomografu

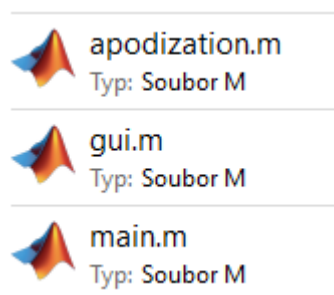
Součástí MR tomografu od společnosti *Bruker* je i jeho softwarové vybavení, taktéž od firmy *Bruker*, tak aby byla zajištěna kompatibilita.

Paravision je základním softwarovým vybavením experimentálního MR tomografu, mezi jehož základní vlastnosti patří provedení skenu dle zadaných parametrů, zobrazení naměřených dat a následný export dat. Jelikož se jedná o software k experimentálnímu MR zařízení, získáváme možnost libovolného nastavení parametrů jako je např. hodnota sklápěcího úhlu nebo parametry TE a TR. Většinou jsou vhodné parametry sekvence předpřipraveny v podobě protokolů, které jsou specifické pro různá měření.

Pro naši práci je zajímavý především software s názvem *TopSpin*, který představuje pokročilý nástroj pro zpracování a analýzu naměřených spektroskopických dat MR tomografem. Nami vytvořený program bude s tímto softwarem porovnán pro ověření výzkumného předpokladu.

3.4 Vlastní program pro načtení a zpracování spektroskopických dat

Mezi hlavní možnosti vytvořeného programu určeného k analýze spekter patří samotné načtení a grafická prezentace libovolného počtu spekter, zpracování signálu za pomoci metod apodizace a zero-fillingu, taktéž je možný výpočet základních informací o daném spektru, jako je hodnota plochy pod křivkou (integrál) či SNR. Programová aplikace byla vytvořena ve vývojovém prostředí MATLAB ve verzi R2020a ovšem tak, aby byla kompatibilní i s verzí R2007b, která je dostupná a může být využita na pracovišti laboratoře experimentální MR, Institut Klinické a Experimentální Medicíny.

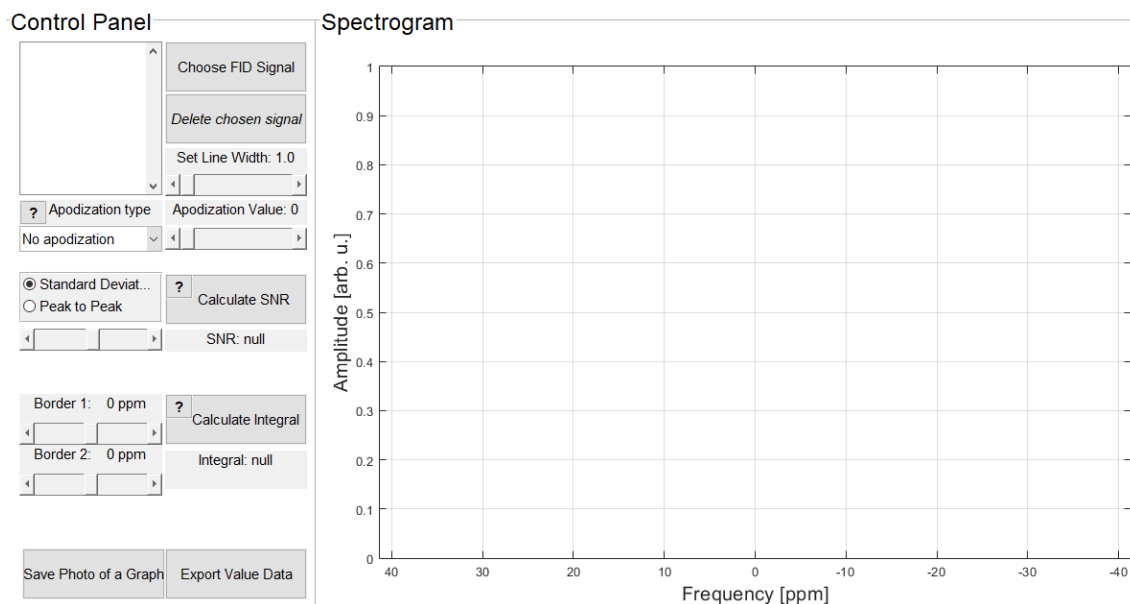


Obr. 4 Soubory, z kterých je výsledný program vytvořen (Zdroj: autor)

Na Obr. 4 jsou ukázány soubory, z kterých je program vytvořen, jedná se o tři soubory s příponou .m, typickou pro MATLAB. Ke spuštění programu slouží soubor `main.m`.

Po spuštění skriptu se uživateli otevře grafické uživatelské rozhraní, zkráceně GUI, z anglického Graphic User Interface. V tomto prostředí se nachází uvítací obrazovka s žádostí pro uživatele o vyplnění parametru týkajícího se tzv. zero-fillingu (viz Obr. 7). Tato problematika byla teoreticky vysvětlena v kapitole 2.7.3 *Zero-filling* a její praktické aplikování je popsáno v nadcházející kapitole.

Po zadání vstupního parametru je uživatel přesměrován do následujícího rozhraní, které je ukázáno na Obr. 5. Zde je GUI rozděleno na dva základní bloky, ovládací panel, jenž zabírá přibližně jednu čtvrtinu plochy a zbytek je tvořen panelem, ve kterém se nachází výsledné zpracované spektrum, v našem případě se tento panel jmenuje Spektrogram. Pouze v tomto programovém okně probíhá ono samotné zpracování a analýza spekter. Při tvorbě uživatelského rozhraní byl především kladen důraz na přehlednost a jednoduchost ovládání. Principy, pomocí kterých mohlo dojít ke zpracování signálu a jednotlivé funkční části grafického rozhraní, jsou popsány v následujících kapitolách. Některé jsou pouze představeny stručnou poznámkou, ostatním je věnována samostatná kapitola.

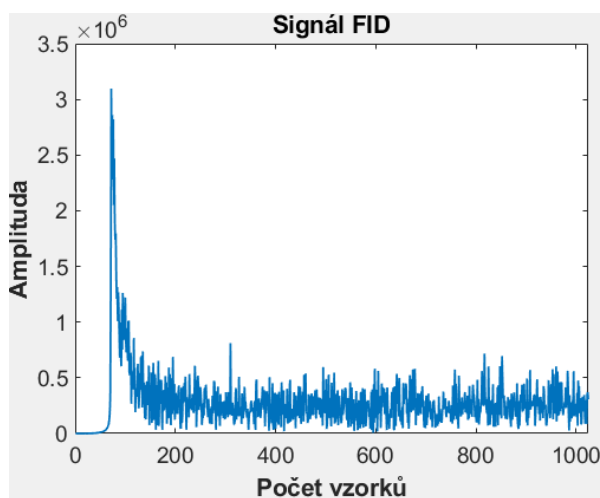


Obr. 5 Výchozí vzhled programu po vyplnění vstupního parametru (Zdroj: autor)

3.4.1 Aplikování metody zero-filling

Pro aplikaci zero-fillingu vycházíme ze získaných poznatků o této problematice, která byla vysvětlena již v teoretické části této práce. Ve vytvořeném programu můžeme proces zero-fillingu, který je aplikován na signál FID, rozdělit na dvě části. První část probíhá na pozadí, kterou uživatel nijak neovlivní.

MR tomograf při skenu automaticky provádí náběr dat s počtem vzorků rovnému druhé mocnině, což je příhodné při aplikování FFT. Avšak do tohoto počtu je započítán i náběr dat, nesoucí pro nás šumovou informační hodnotu. Jedná se přibližně o první desítky vzorků, během kterých se signál FID dostává na maximální hodnotu signálu, takovýto neupravený (raw) signál je znázorněn na Obr. 6.

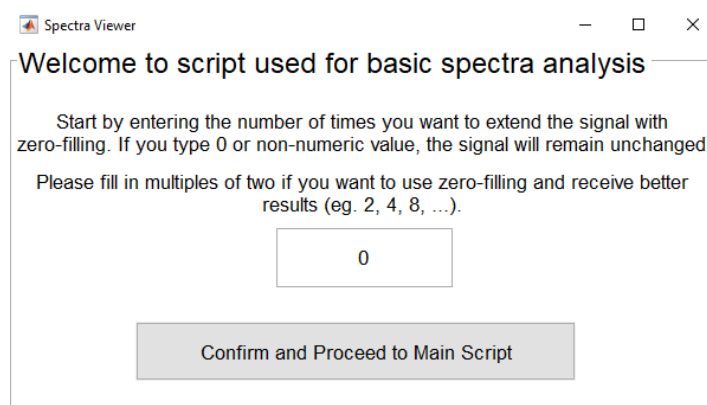


Obr. 6 Signál FID před předzpracováním (Zdroj: autor)

Pro přesnější výsledky a analýzu je nutné ze signálu tyto nežádoucí vzorky odstranit. Ve skriptu je tohoto docíleno vytvořením „nového“ signálu, který se rozprostírá od vzorku, ve kterém se nachází maximální hodnota signálu až po poslední bod původního signálu a tento signál je prodloužen o tolik nulových bodů, o kolik byl původní signál zkrácen a tím jsme opět dosáhli počtu vzorků, který je roven mocnině dvou, viz řádky 323 a 324 ve zdrojovém kódu 1. Na Obr. 8A, v červeném detailu, můžeme vidět vliv prvotní části doplnění nulami. Toto zkrácení a následné doplnění do původní hodnoty počtu vzorků probíhá pokaždé u každého signálu bez zásahu uživatele.

Druhá část již byla nastíněna v kapitole 3.4 *Vlastní program pro načtení a zpracování spektroskopických dat*, která představuje základní informace o vytvořeném programu. Po spuštění se nám zobrazí uvítací obrazovka, která se nás ptá, kolikrát budeme chtít prodloužit výchozí signál. *Pozn.: Na tento výchozí signál je již aplikována první část doplnění nulami, tak jak je popsáno výše. Z principu FFT je výhodné, aby po prodloužení byl počet vzorků roven násobku dvou, je tedy vhodné vyplnit pouze hodnoty 2^n , což je uživateli na této obrazovce výslovně doporučeno.*

Tato část doplnění nulami je aplikována následovně. *Pozn.: Pro lepší znázornění situace budeme uvažovat, že signál chceme prodloužit 4krát a výchozí signál má délku 1024 vzorků.* Za pomoci funkce `length` si zjistíme délku signálu, který chceme prodloužit (řádek 313). Nakonec tohoto signálu následně připojíme tolik vzorků o nulové informační hodnotě, jako je délka trojnásobku výchozí délky signálu ((3072 vzorků) viz řádek 315). Pokaždé budeme výchozí signál násobit parametrem $c-1$, kde c značí náš vstupní parametr, který vyplňuje uživatel, a říká kolikrát se má výchozí signál prodloužit. Jak Obr. 7 níže napovídá a zdrojový kód 1 potvrzuje, vyplníme-li 0, signál zůstane neměnný a nastane pouze situace z Obr. 8A.



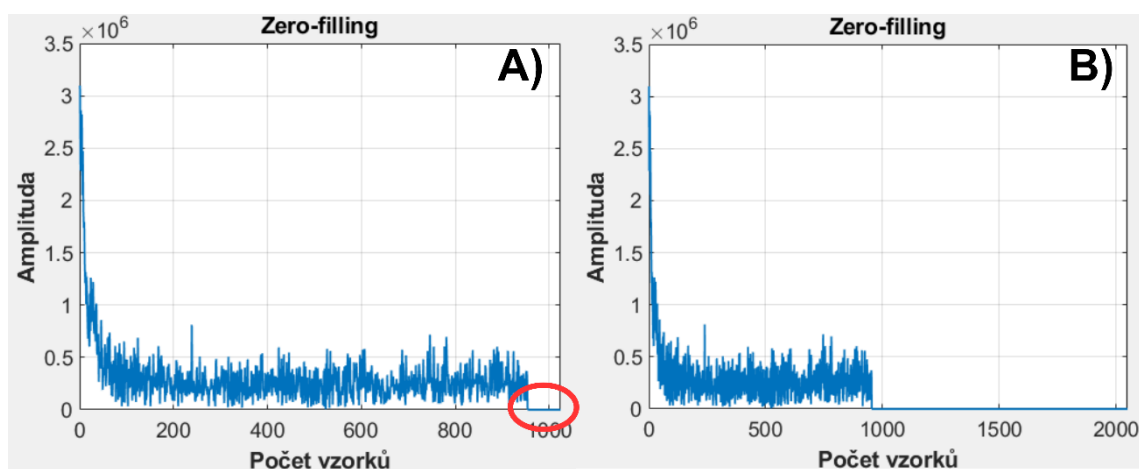
Obr. 7 Uvítací obrazovka s možností nastavení Zero-filling parametru (Zdroj: autor)

```

313 data = length(FID);
314 p = c - 1;
315 X = zeros(1, p*data);
...
318 z = [FID; X];
...
320 signal = (z);
321 [smth, max_index] = max(signal);
322 if max_index > 1
323     signal = [signal(max_index:end); ...
324             zeros(max_index - 1, 1)];
325 end

```

Zdrojový kód 1 Zero-filling



Obr. 8 A) Signál FID začínající na maximální hodnotě a doplněn nulami, B) Signál FID s dvojnásobnou délkou po aplikaci Zero-fillingu (Zdroj: autor)

Na Obr. 8B se nachází signál o původní délce 1024 vzorků, zkrácen o 72 vzorků, než nastala maximální hodnota signálu a následně doplněn nulami do hodnoty rovné 2048 vzorků.

3.4.2 Spektrogram

Spektrogram čili část grafického rozhraní, ve které dochází k vizuálnímu znázornění výsledného spektra je nedílnou součástí programu. Výchozí vzhled grafu, lépe řečeno pouhou kartézskou soustavu souřadnic lze pozorovat na Obr. 5. Graf, jenž zobrazuje výsledné spektrum signálu můžeme vidět např. na Obr. 11.

V níže přiloženém zdrojovém kódu 2 je k vidění definování vzhledu grafu. K vytvoření kartézské soustavy souřadnic byla využita vestavěná funkce `axes`, pomocí parametru `'Position'` jsme si nadefinovali lokalitu, ve které se soustava rozprostírá. Na řádcích 252 a 257 proběhlo pojmenování jednotlivých os. Jelikož se jedná o spektrogram, tak

se na ose X se nachází hodnoty frekvence v jednotkách ppm, na ose Y hodnota amplitudy jednotlivých frekvencí v tzv. arbitrary units (arb. u.), česky zástupné jednotky. Z důvodu dodržení historických konvencí je nutné, aby popis osy X byl zrcadlově, nikoliv graf, pouze popis osy. Tohoto jsme docílili nastavením změny směru osy X , viz řádek 263 ('xdir', 'reverse'). Parametrem na následujícím řádku (264) vytváříme mřížku přes kartézskou soustavu, pro zlepšení přehlednosti.

```
247 plotField = axes('Parent', PlotContainer, ...
248 'Position', [3 * spcX, 6.5 * spcY, plotWd, plotHg -
    0.01], 'Box', 'on');
...
252 set(plotField.XLabel, 'String', 'Frequency [ppm]');
253 set(plotField.XLabel, 'FontSize', 15.5);
...
257 set(plotField.YLabel, 'String', 'Amplitude [arb. u.]');
...
262 xlim([-border, border])
263 set(gca, 'xdir', 'reverse')
264 grid on;
```

Zdrojový kód 2 Definování vzhledu kartézské soustavy souřadnic

Aby se vodorovná osa zobrazovala ve správných jednotkách (ppm) byl nezbytný přepočít, respektive funkce, která se nachází ve zdrojovém kódu 3. Na řádku 422 je definováno kolik ppm je jeden vzorek (krok). Parametr BW (šířka pásma) je dostupný v dokumentu, které vytváří po provedení skenu software určený k obsluze MR tomografu. Parametr len označuje délku signálu a f frekvenci spektrometru.

Vodorovnou osu můžeme rozdělit na dvě shodné části, kladnou a zápornou. Nulová hodnota se nachází přesně uprostřed. Výpočet krajních hodnot osy se nachází na řádku 423. Rozsah osy je roven součtu dvou krajních hodnot, od této hodnoty je odečten jeden krok, lépe řečeno jeden vzorek, protože vodorovná osa má pouze jednu nulovou hodnotu, nikoli dvě.

```
421 function ppm = adjustAxis(BW, f, len)
422     step = BW / len / f;
423     border = BW / (2 * f);
424     ppm = -border:step:border - step;
425     set(gca, 'xdir', 'reverse')
426 end
```

Zdrojový kód 3 Definování rozsahu vodorovné osy

3.4.3 Ovládací panel

Ovládací panel je tvořen 13 ovládacími prvky, pokud k tomuto číslu přičteme i textové popisky, dostaneme se na více než dvě desítky objektů, které se nacházejí v ovládacím rozhraní.

Ve zdrojovém kódu 4 je znázorněno vytvoření samotného prostoru ovládacího panelu pomocí vestavěné funkce `uipanel`, na který se při následném definování objektů odkazujeme námi vybraným názvem `ControlContainer`, tohoto se využívá, abychom si usnadnili pozicování jednotlivých vložených objektů.

```
52 ControlContainer = uipanel('Parent', f, 'Title', 'Control
    Panel', ...
53     'FontSize', 18, 'BackgroundColor', 'white', ...
54     'Position', [0, 0, 0.5, 1]);
```

Zdrojový kód 4 Definování ovládacího panelu

Níže přiložený zdrojový kód 5 znázorňuje vytvoření jednoho z mnoha objektů nacházejícího se v ovládacím panelu. Zde se jedná o rozbalovací seznam, viz řádek 103, jenž se definuje nastavením parametru `'Style'` objektu `UIControl` na hodnotu `'popupmenu'`. Pomocí tohoto objektu si ve výsledném programu vybíráme, jakou filtrovací funkci použijeme při transformaci předzpracovaného signálu.

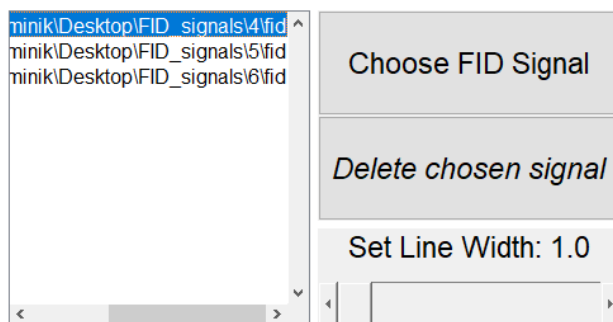
```
103 popupMenuApodization = uicontrol('Parent',ControlContainer,
    'Style', 'popupmenu', ...
104     'String', {'No apodization', 'Lorentz-Gauss',
    'Lorentz', 'Gauss', 'Sigmoid'}, ...
105     'FontSize', 11, 'Units', 'normalized', ...
106     'Position', [spcX, 1 - 5 * buttHg + spcY * 2, buttWd,
    popupHg], ...
107     'Callback', @selectTransformType);
108 popupMenuApodization = handle(popupMenuApodization);
```

Zdrojový kód 5 Definování vzhledu rozbalovacího seznamu

Mezi funkční prvky, kterým nebude věnována taková pozornost patří tlačítko, které slouží k přidání samotného FID signálu, na který je během předzpracování signálu aplikována FFT. MR tomograf po každém skenu vytvoří datovou složku s číslem měření, ve které se nachází datové soubory, které obsahují různé informace o proběhlém skenu. Mezi těmito soubory se nachází i soubor *fid*. Po kliknutí na funkční tlačítko se otevře dialogové okno pro výběr souboru a můžeme zvolit námi požadovaný *fid* soubor.

Takových jednotlivých *fid* souborů z různých měření, či skenů můžeme vložit neomezený počet.

V levém horním rohu ovládacího panelu se nachází výběrový seznam, ve kterém se zobrazují informace o vložených signálech ve formátu *id + cesta_souboru*. Z tohoto seznamu jsme také schopni námi vybraný signál odebrat z vyhodnocování, pomocí tlačítka, které se nachází pod tlačítkem pro přidání signálu. Tohoto můžeme využít při zjištění, že signál je nevhodný k vyhodnocení, nebo jsme vybrali nechtěný signál. Postačí tedy odebrat signál, aniž bychom museli restartovat celý program.

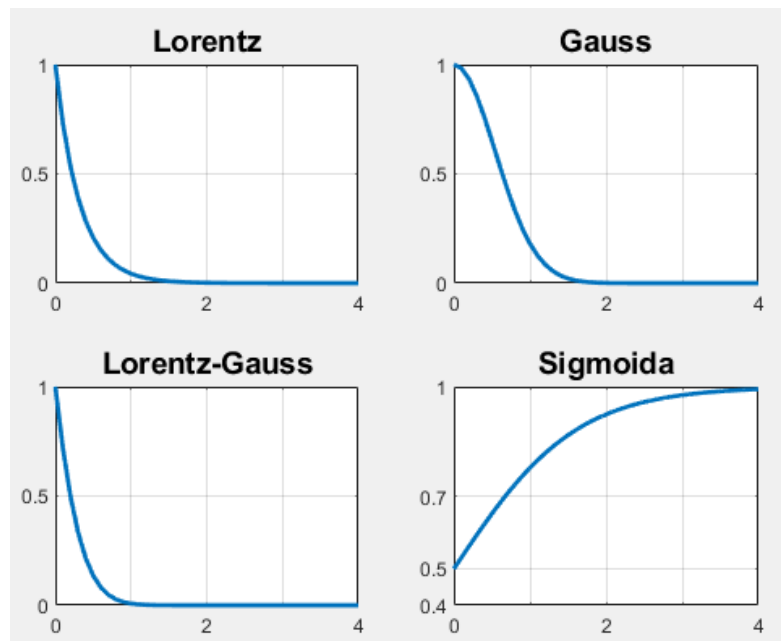


Obr. 9 Detail na skupinu funkčních tlačítek, ovlivňující zobrazené signály (Zdroj: autor)

Na Obr. 9 se taktéž nachází posuvník jímž můžeme pomocí funkce, která vyčte hodnotu odpovídajícího parametru z objektu posuvníku nastavit šířku čáry, kterou se vykresluje výsledné spektrum. Tento parametr je nastaven na výchozí hodnotu, kterou užívá MATLAB, ale je možné ho navýšit až na pětinašobek počáteční šířky.

3.4.4 Aplikování metody apodizace

Při implementaci apodizace bylo především nutné se rozhodnout, jaké funkce budou vybrány pro tento účel. Nakonec byly implementovány čtyři filtrační funkce. Jelikož jsou Lorentzova a Gaussova funkce nejčastěji využívané funkce pro apodizaci, nechybí ani zde. Implementována je i jejich kombinace v podobě Lorentz-Gaussovy funkce. Jako čtvrtá funkce je užitá Sigmoida. Protože se Sigmoida liší svým průběhem od předchozích funkcí, slouží spíše k tomu, abychom mohli pozorovat, jak se mění vlastnosti spekter při aplikaci jiné než klesající funkce, průběh všech čtyř funkcí je k vidění na Obr. 10.



Obr. 10 Grafy jednotlivých apodizačních funkcí (Zdroj: autor)

Níže jsou vypsány jednotlivé apodizační funkce se zápisem zdrojového kódu i následným funkčním předpisem. Parametr, který uživatel pomocí posuvníku nastavuje je `para(2)` a udává míru apodizace. Tento parametr je násoben konstantou π , čímž dosáhneme výraznějšího vyhlazení hran.

- Lorentzova funkce

```
31 a = (pi * para(2));
32 w = exp((-a)*n_t);
```

Zdrojový kód 6 Předpis Lorentzovy funkce

$$w = e^{(-\pi ax)}$$

Rovnice 21

- Gaussova funkce

```
40 a = (pi * para(2)) / 2 * sqrt(log(2));
41 w = exp(-((n_t) .* (n_t)) * (a^2));
```

Zdrojový kód 7 Předpis Gaussovy funkce

$$w = e^{-x^2 \left(\frac{\pi a}{2\sqrt{\log(2)}} \right)^2}$$

Rovnice 22

- Lorentz-Gaussova funkce

```

21 a1 = (pi * para(2));
22 a2 = (pi * para(2)) / 2 * sqrt(log(2));
23 w = exp(-(a1 * n_t + (a2^2) * (n_t .* n_t)));

```

Zdrojový kód 8 Předpis Lorentz-Gaussovy funkce

$$w = e^{-\left(\pi a x + \left(\frac{\pi a}{2\sqrt{\log(2)}}\right)^2 x^2\right)}$$

Rovnice 23

- Sigmoida

```

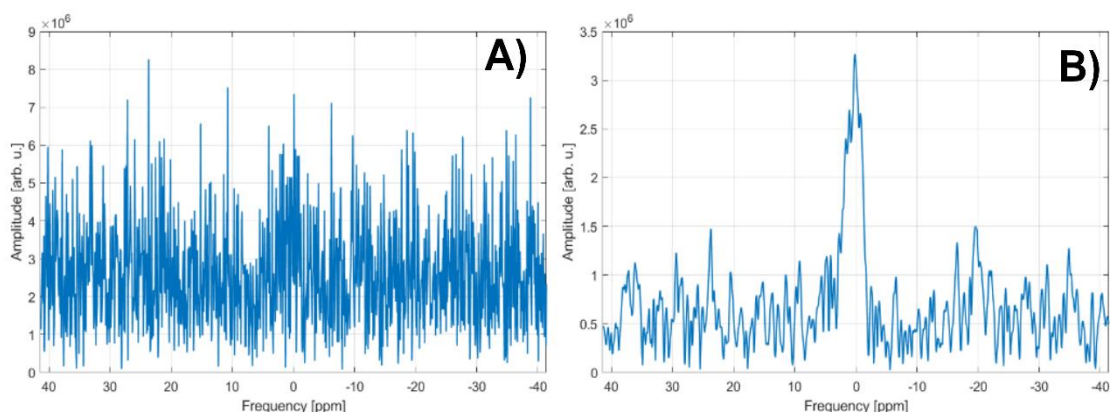
49 w = 1 ./ (1 + exp(0.05 * (n - para(2))));

```

Zdrojový kód 9 Předpis funkce sigmoidy

$$w = \frac{1}{(1 + e^{0,05(x-a)})}$$

Rovnice 24



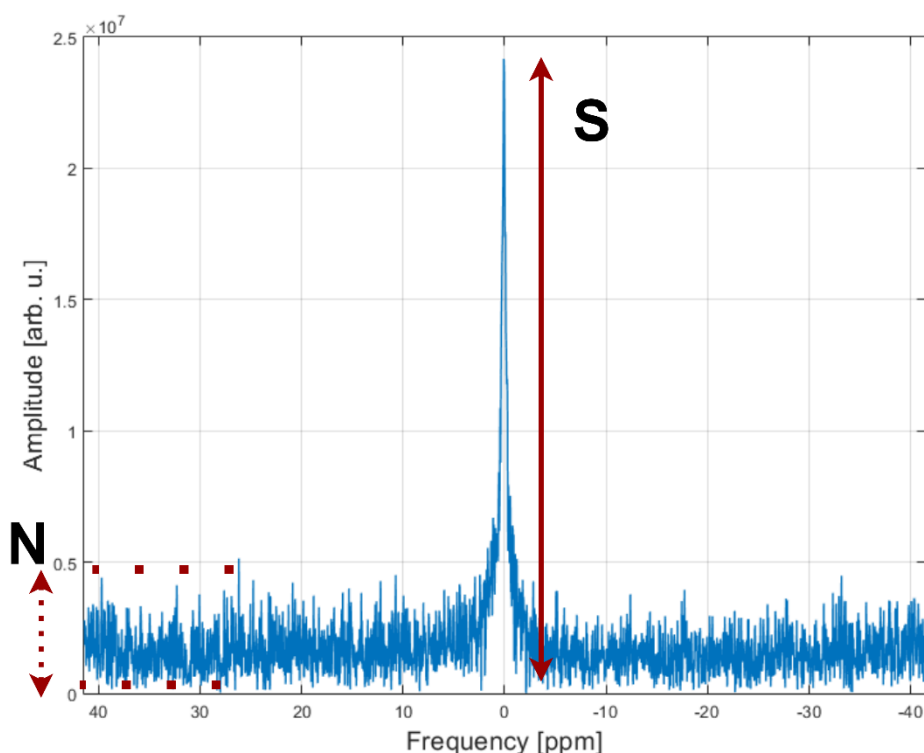
Obr. 11 A) Spektrum před apodizací, B) Spektrum po aplikaci apodizace (Lorentz-Gauss, parametr apodizace 50) (Zdroj: autor)

V následujících kapitolách 3.4.5 Výpočet hodnoty SNR a 3.4.6 Koncentrace metabolitu jsou k vidění Grafy 1, 2, 3 a 4, které znázorňují vlivy jednotlivých apodizačních funkcí na výsledné spektrum.

3.4.5 Výpočet hodnoty SNR

SNR je jedna z nejužitečnějších metrik, které popisují systém. Při MRS se nejčastěji udává jako poměr amplitudy signálu S a amplitudy šumu N . Je tedy nezbytné, aby byla hodnota $SNR > 1$. Ovšem v některých zdrojích (např. Li, Regal a Gonen, 2001) se hodnota šumu neudává jako amplituda šumu, ale jako směrodatná odchylka šumu. Z toho důvodu jsou aplikovány obě varianty.

Ve skriptu je proces výpočtu SNR přiblížen v příloženém Zdrojovém kódu 10. Máme dvě výběrová tlačítka označená jako `Standard Deviation` (směrodatná odchylka) a `Peak to Peak` (amplituda). Funkcí `noiseChoose` si jsme schopni vybrat jaká funkce, tedy jaká hodnota šumu, bude využita pro výpočet celkového SNR. Jelikož výsledný program limituje výpočet SNR pouze pro jeden určitý vrchol, ale ve spektru se může nacházet více píků, tak pro přehlednost byl využit objekt posuvníku, kterým si jsme schopni ohraničit lokalitu, ve které se nachází vrchol, pro který chceme, aby se poměr signálu a šumu vyhodnotil. Tyto hranice jsou označeny jako `SNRborder1` a `SNRborder2`.



Obr. 12 Znáornění veličin použitých při výpočtu SNR (Zdroj: autor)

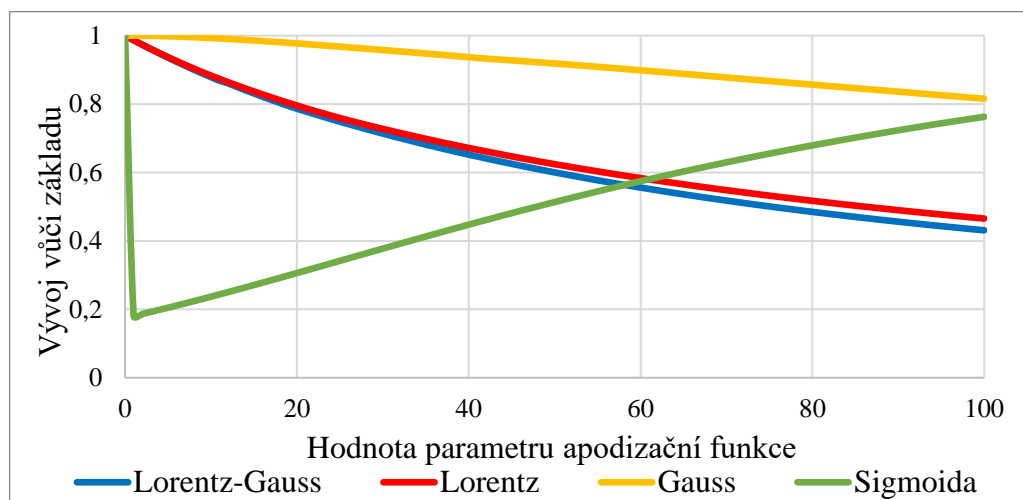
```

521 function noiseChoose(source, eventdata)
522     if get(noiseValStd, 'Value') == 1
...
524         SNRstd
525     else
...
527         SNRpeak
528     end
529 end
530
531 function SNRstd(source, eventdata)
...
548 end
593
550 function SNRpeak(source, eventdata)
...
558     MaxAmplitude = max(abs(signal(SNRborder1:SNRborder2)));
559     noiseValMax = max(signal(1:floor(end * 0.15)));
560     noiseValMin = min(signal(1:floor(end * 0.15)));
561     noiseVal = noiseValMax - noiseValMin;
562     snr = (MaxAmplitude / noiseVal);
...
569 end

```

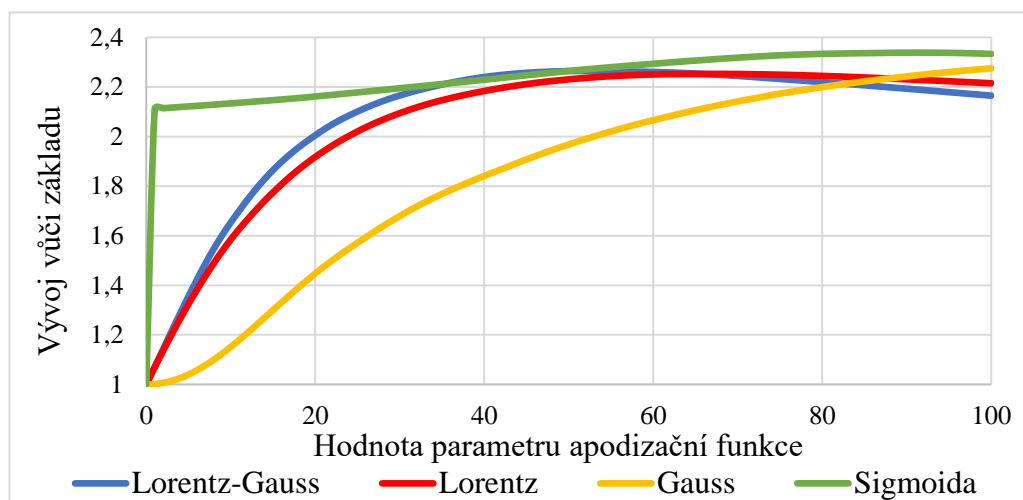
Zdrojový kód 10 Funkce sloužící pro výpočet poměru signálu a šumu

Z grafu 1, který znázorňuje hodnotu amplitudy spektra v závislosti na parametru apodizační funkce, můžeme vyčíst, že s rostoucí hodnotou parametru klesá amplituda po aplikaci Lorentz-Gaussovy, Lorentzovy i Gaussovy funkce. U prvních dvou zmiňovaných klesá amplituda až na polovinu původní hodnoty při maximálním parametru. Naopak, lineárně roste amplituda po využití funkce Sigmoidy.

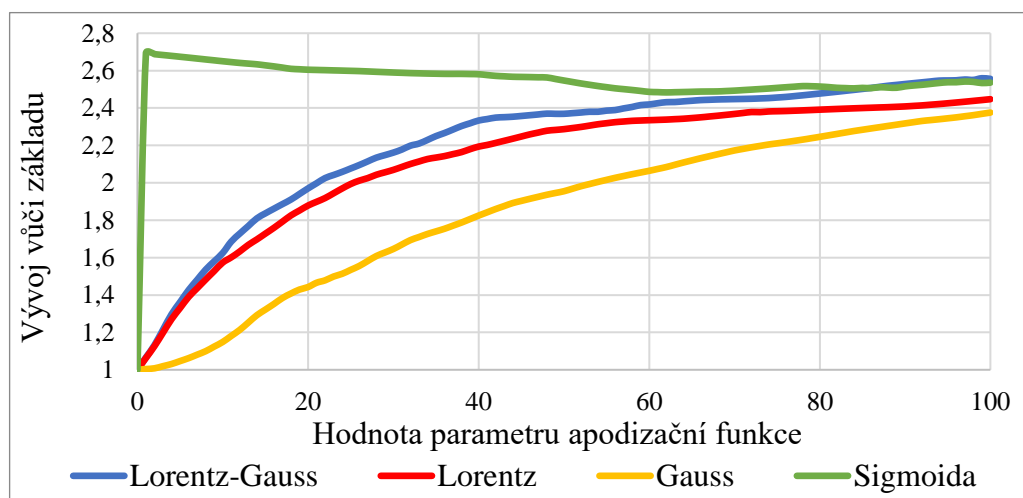


Graf 1 Vývoj hodnoty amplitudy po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí (Zdroj: autor)

Z následujících dvou grafů, které znázorňují vývoj hodnot SNR je patrné, že při užití Lorentz-Gaussovy nebo Lorentzovy apodizační funkce má nárůst hodnot SNR, v závislosti na hodnotě parametru, logaritmický charakter. Pozvolný růst SNR ve spektru můžeme pozorovat při aplikaci Gaussovy funkce. Více jak dvojnásobku SNR dosahuje Sigmoida již od hodnoty 1 našeho parametru. Z grafů můžeme taktéž vypočítat, že při použití skriptu nejsme schopni zvýšit hodnotu SNR spektra před apodizací na více než trojnásobek po aplikaci apodizace. Pozn.: v Grafu 2 je hodnota šumu dána směrodatnou odchylkou šumu, v Grafu 3 je podmíněna amplitudou šumu. Je taktéž zapotřebí dodat, že hodnota směrodatné odchylky šumu bude s velkou pravděpodobností nižší než amplituda šumu, tedy hodnota SNR (s amplitudou šumu) nedosáhne hodnot SNR jako SNR, kde v jeho definici šum označuje hodnotu směrodatné odchylky šumu.



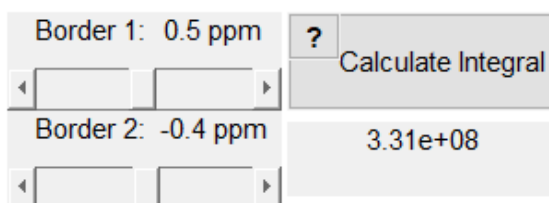
Graf 2 Vývoj hodnoty SNR po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí (Šum – směrodatná odchylka) (Zdroj: autor)



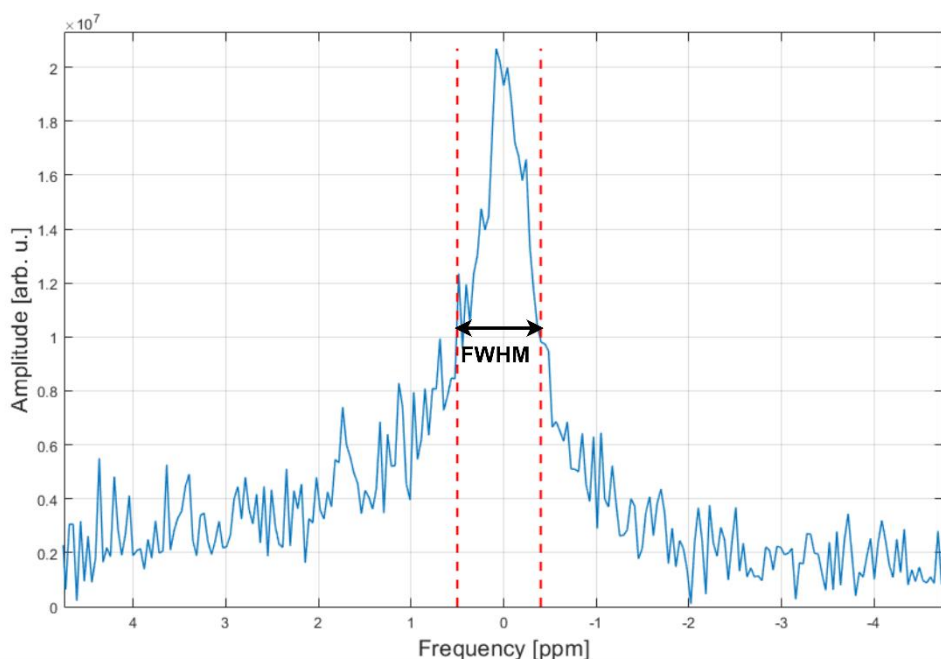
Graf 3 Vývoj hodnoty SNR po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí (Šum – amplituda) (Zdroj: autor)

3.4.6 Koncentrace metabolitu

Koncentrace metabolitu souvisí s integrálem signálu neboli plochou, která se nachází pod spektrální křivkou námi vybraného signálu. Hodnota koncentrace je úměrná počtu jader, které podléhají jevu magnetické rezonance během měření ve vybrané oblasti a produkují tedy signál. Zde je důležité si uvědomit, že se nejedná pouze o maximální amplitudu signálu, ale o plochu, která se pod vrcholem nachází, protože produkovaný signál má i šířku, která je ovlivňována různými parametry, především T_2 relaxací, či apodizačními funkcemi. Program dává uživateli možnost si zvolit oblast, z které bude plochu pod křivkou zjišťovat. Uživatel si tedy sám ohraničuje svoji oblast zájmu pomocí dvou posuvníků, které se nacházejí v ovládacím panelu. Při změnách provedených na posuvníku se na grafu zobrazí dvě přerušované čáry, které symbolizují onu hranici, z které je prováděn výpočet plochy pod křivkou. Je doporučeno plochu počítat v pološířce signálu, zkráceně značeno jako FWHM z anglického Full Width at Half Maximum.



Obr. 13 Ovládací panel s detailem na oblast pro výpočet plochy pod křivkou (Zdroj: autor)



Obr. 14 Ukázka zobrazení integrálního ohraničení (Zdroj: autor)

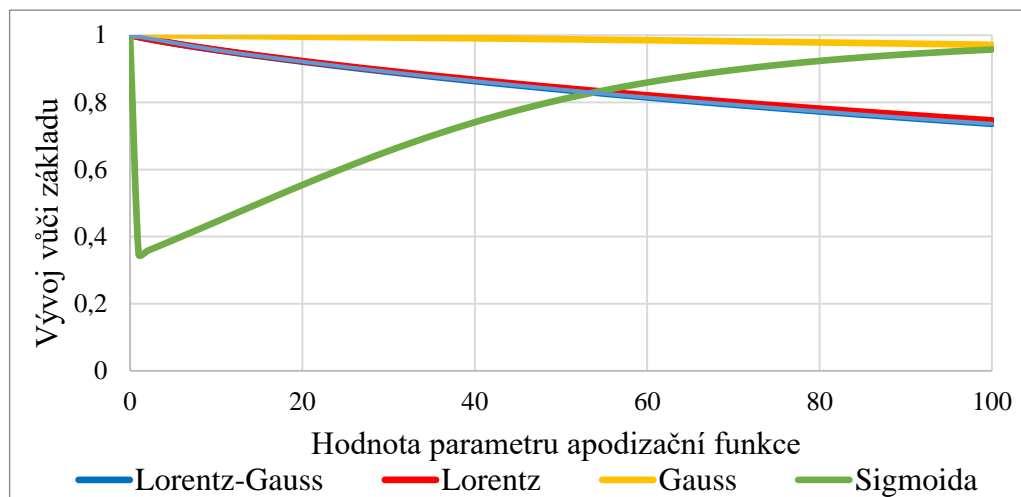
Na Obr. 13 a 14 můžeme vidět grafickou ukázkou, jak si v rozhraní nastavit výpočet plochy pod křivkou. Ze zdrojového kódu 11 můžeme vyčíst algoritmicizaci výpočtu integrálu.

Je potřeba nejdříve definovat, kolik vzorků zahrnuje jeden krok na ose znázorňující ppm, tento přepočet je znázorněn na řádce 348 jako proměnná `ppm2samples`. Výchozí hodnota obou hranic je nastavena v hodnotě 0 ppm, tedy přesně uprostřed grafu. Toto označuje hodnota `(length(signal)/2)`, k této veličině je následně přičtena proměnná `(ppm2samples*left)`, respektive `(ppm2samples*right)`. Během změny posuvníku dochází ke změnám proměnných `left` a `right`, čímž se mění hranice vyhodnocení, odkud kam má být integrál spočítán. Pro výpočet plochy pod křivkou, využijeme vestavěnou funkci `trapez`, která slouží, právě k tomuto účelu, jejím parametrem je, odkud kam má plochu spočítat.

```
342 function integral(source, eventdata)
...
348     ppm2samples = le / (BW / f0);
...
350     left = get(leftSlider, 'Value');
...
352     right = get(rightSlider, 'Value');
...
354     left = round((length(signal)/2)+(ppm2samples *
                                     (left)));
355     right = round((length(signal)/2)+(ppm2samples *
                                     (right)));
...
358     Int = trapez(abs(signal(right:left)));
359     set(valIntegral, 'String', num2str(Int, '%10.2e'))
...
373 end
```

Zdrojový kód 11 Funkce sloužící pro výpočet integrálu

Změnu hodnoty plochy pod křivkou v závislosti na míře apodizace můžeme pozorovat v grafu 4. Lorentz-Gaussova, Lorentzova i Gaussova apodizační funkce si zde zachovávají klesající lineární vývoj, přičemž Gaussova funkce dosahuje velmi nepatrného poklesu oproti původnímu, neapodizovanému spektru. I přes maximální parametr dosahuje až na 97 % původní hodnoty před apodizací. Apodizační filtr funkce sigmoidy má logaritmický růst, jenž se limitně blíží původní hodnotě před apodizací. Z pohledu na graf je zřejmé, že hodnota integrálu po apodizaci nemůže být vyšší než před apodizací.



Graf 4 Vývoj hodnoty plochy pod křivkou po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí (Zdroj: autor)

3.4.7 Export dat

Po dokončení analýzy máme možnost výsledná data exportovat. Jedna z nabídek je vytvoření snímku spektrogramu a jeho následné uložení v námi vybraném grafickém formátu a volbě umístění souboru, k tomuto slouží vestavěná funkce `saveas`. Druhou možností je uložení významných proměnných v textovém (Obr. 15) či tabulkovém formátu (Obr. 16). Mezi ukládané proměnné patří například cesta k souboru signálu, vybraný typ apodizace, hodnota integrálu či hodnota SNR.

```

<----- Information about this spectra ----->
File Name: 1. C:\Users\          \FID_signals\6\fid
Creation of this File: 21/03/03-11:50

<----- Apodization ----->
Apodization Type: Gauss
Apodization Parameter: 40

<----- Amplitude ----->
Signal Amplitude: 1.130154e+08

<----- Integral ----->
Integral Value: 1.73e+09
1st Integral Border: -0.84811
2nd Integral Border: 1.6362

<----- SNR ----->
SNR Value: 10.12
Noise Type: Peak to Peak

```

Obr. 15 Exportovaná data v textovém dokumentu (Zdroj: autor)

	A	B
1	File Name	1, C:\Users\ \FID_signals\6\fid
2	Apodization Type	Gauss
3	Apodization Parameter	40,00
4	Signal Amplitude	113015448,85
5	Integral Value	1730000000,00
6	1st Integral Border	-0,85
7	2nd Integral Border	1,16
8	SNR Value	10,12
9	NoiseType	Peak to Peak

Obr. 16 Exportovaná data v tabulkovém dokumentu (Zdroj: autor)

```

593 function diary(source, eventdata
...
629     dataMatrix = {};
630         'File Name', sgnName; ...
631         'Apodization Type', apodType; ...
632         'Apodization Parameter', apodValue; ...
633         'Signal Amplitude', amplitude; ...
634         'Integral Value', intValue; ...
635         'Integral Border', intLeftBorder; ...
636         '2nd Integral Border', intRightBorder; ...
637         'SNR Value', snrValue; ...
638         'NoiseType', noiseGroupType; ...
639     };
640     xlswrite(fullfile(path, fName), dataMatrix);
...
680 end

```

Zdrojový kód 12 Část funkce exportující data ve formátu .xlsx

3.5 Ukázka využití prohlížeče spekter

Výsledný program bude využit pro vytvoření kalibrační křivky soli kyseliny fytové – fytátu vápenatého (CaIP_6), podle které můžeme následně kvantifikovat množství fosforových atomů pomocí MR spektroskopie. Vzhledem k tomu, že přes 20 % hmotnosti této sloučeniny je tvořeno fosforem, je dobře pozorovatelný při ^{31}P MRS.



Obr. 17 Fytát vápenatý – CaIP_6 (Zdroj: autor)

3.5.1 Kalibrační křivka

Kalibrační křivka představuje závislost intenzity signálu, v podobě plochy pod křivkou výsledného spektra, na koncentraci sloučeniny. Protože intenzita signálu je přímo úměrná koncentraci, tak by kalibrační křivka měla mít lineární průběh, díky této vlastnosti a možnosti využití lineární extra, či interpolace můžeme odhadnout hodnotu intenzity signálu za určité koncentrace a naopak.

3.5.2 Příprava vzorků

Smícháním 500 μl destilované vody a CaIP₆ o různých hmotnostech, bylo vytvořeno pět vodních roztoků CaIP₆ (viz Tab. 4 a Obr. 18). Protože jsou částice CaIP₆ málo rozpustné a pro přesnost experimentu je nutné vytvořit co nejvíce homogenní roztok, byl využit vortexer, který za pomoci elektromotoru roztáčí gumovou podložku a po přitlačení vzorku v mikrozkuhavce na podložku se podložka rychle roztočí a dojde k přenesení tohoto pohybu na kapalinu uvnitř mikrozkuhavky a vytvoření víru, který napomáhá k značnému urychlení homogenizace roztoku.

Tab. 4 Hmotnostní a objemové údaje o jednotlivých vzorcích (Zdroj: autor)

Označení vzorku	Fytát vápenatý <i>m [mg]</i>	Destilovaná voda <i>V [μl]</i>	Hmotnostní Koncentrace <i>[mg/μl]</i>
CaIP ₆ _0,025g	25	500	0,05
CaIP ₆ _0,05g	50	500	0,1
CaIP ₆ _0,1g	100	500	0,2
CaIP ₆ _0,2g	200	500	0,4
CaIP ₆ _0,4g	400	500	0,8



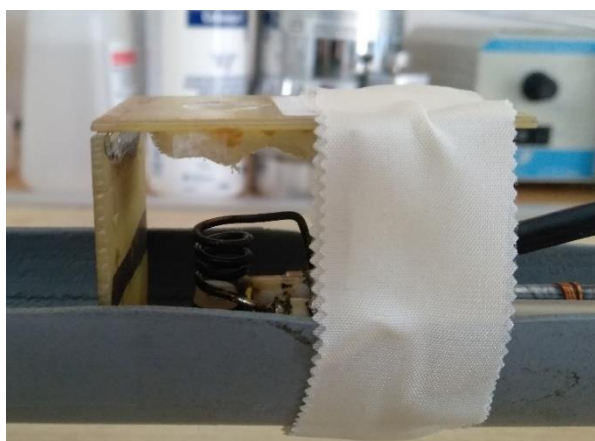
Obr. 18 Vodní roztok CaIP₆_0,4g (Zdroj: autor)

3.5.3 Měření pomocí MR tomografu

Pro naměření experimentálních dat bylo využito objemové cívky, jejíž značnou výhodou je, že dokáže pracovat v celém svém objemu. Nejjednodušším typem objemové cívky je solenoid, do kterého je fantom zasunut. Tento typ cívky, díky své konstrukci, je nejvhodnější možností při měření fantomů v mikrozkuvkách. Cívka se umísťuje doprostřed hlavního magnetu MR tomografu.



Obr. 19 Objemová cívka typu solenoid (Zdroj: autor)



Obr. 20 Detail na solenoid (Zdroj: autor)

Po vložení cívky se vzorkem dovnitř magnetu nastane malá, ale přesto významná změna magnetického pole a Larmorovy frekvence uvnitř vzorku. Z tohoto důvodu musíme na cívce provést tzv. tuning a matching, kde tuning znamená nastavení cívky na rezonanční frekvenci zkoumaného vzorku a matchingem se docílí změny impedance cívky tak, aby byl maximalizován přenos energie mezi vzorkem a cívkou.

Fantomy byly naměřeny pomocí speciálního spektroskopického protokolu typu *single pulse* sekvence. Každý vzorek byl měřen čtyřikrát jednou sekvencí *single pulse*, kdy jediný parametr, který se měnil, byl počet akvizic, při více než jedné akvizici dochází k průměrování signálu. Jak již název napovídá, tak nastává zprůměrování jednotlivých FID signálů, které byly pořízeny na jednom vzorku shodnými parametry.

Intenzita signálu s počtem akvizic lineárně roste dle n , zatímco šum, který je nahodilý roste s \sqrt{n} . Parametr n značí, kolikrát bylo provedeno více či méně akvizic oproti námi známému měření. Z tohoto vyplývá, že s počtem akvizic roste plocha pod křivkou i šum. To znamená i změnu SNR o faktor $\frac{n}{\sqrt{n}} = \sqrt{n}$ (Baumann et al., 2019). Délka měření je přímo úměrná počtu akvizic (viz Tab. 5), abychom zvýšili SNR 10x je potřeba měřit 100x déle.

Tab. 5 Vliv počtu akvizic na čas měření (Zdroj: autor)

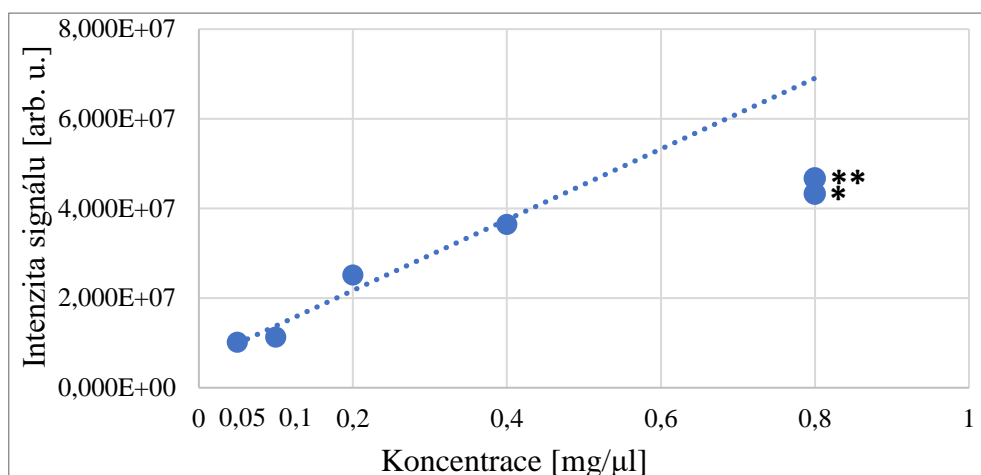
Počet akvizic	Doba měření	Repetiční čas (TR)
32	~ 1 min	2000 ms
64	~ 2 min	2000 ms
150	~ 5 min	2000 ms
300	~ 10 min	2000 ms

3.5.4 Výsledky měření kalibrační křivky

V následujících tabulkách jsou vypsány hodnoty plochy pod křivkou a amplitudy křivky. Tyto hodnoty byly získány pomocí vytvořeného programu pro analýzu spekter. Každé tabulce odpovídá graf, který zobrazuje závislost koncentrace na integrálu signálu. Kvantitativní analýza byla provedena na neapodizovaných spektrech bez přidaného zero-fillingu. Vzorek CaIP6_0,4g byl měřen dvakrát. První měření proběhlo za shodných výchozích podmínek jako ostatní vzorky, toto měření je označeno jako CaIP6_0,4gA. Druhé měření tohoto vzorku označené jako CaIP6_0,4gB bylo naměřeno poté co byl tento vzorek odebrán z ultrazvukového lázně, ve které se nacházel po dobu cca 60 minut. Vzhledem k tomu, že obě měření posledního vzorku se zásadně liší od teoretického předpokladu, byla tato měření vynechána z vyhodnocování kalibrační křivky. *Pozn.: Tato situace je podrobněji rozebrána v kapitole 4. Diskuze.*

Tab. 6 Kalibrační křivka – 32 akvizic (Zdroj: autor)

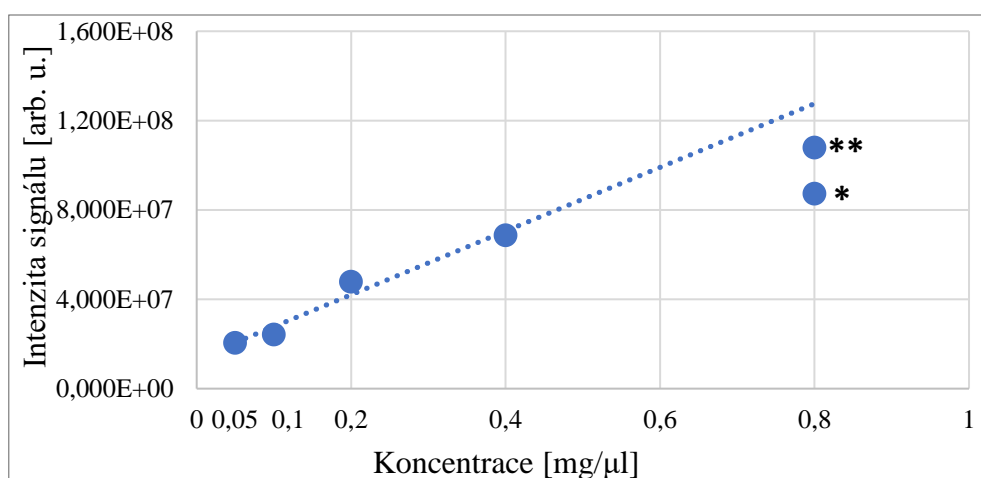
Počet akvizic: 32	Koncentrace [mg/μl]	Integrál signálu	Amplituda signálu
CaIP6_0,025g	0,05	1,01E+07	2,85E+06
CaIP6_0,05g	0,1	1,13E+07	3,75E+06
CaIP6_0,1g	0,2	2,51E+07	2,22E+06
CaIP6_0,2g	0,4	3,64E+07	7,82E+06
CaIP6_0,4gA*	0,8	4,32E+07	4,48E+06
CaIP6_0,4gB**	0,8	4,66E+07	6,23E+06



Graf 5 Kalibrační křivka – 32 akvizic (Zdroj: autor)

Tab. 7 Kalibrační křivka – 64 akvizic (Zdroj: autor)

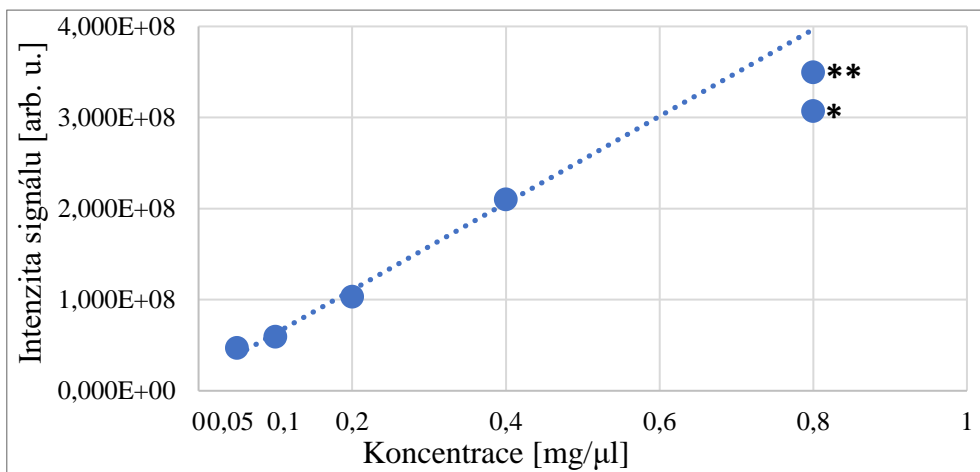
Počet akvizic: 64	Koncentrace [mg/μl]	Integrál signálu	Amplituda Signálu
CaIP6_0,025g	0,05	2,04E+07	4,71E+06
CaIP6_0,05g	0,1	2,42E+07	6,71E+06
CaIP6_0,1g	0,2	4,78E+07	6,70E+06
CaIP6_0,2g	0,4	6,86E+07	1,41E+07
CaIP6_0,4gA*	0,8	8,72E+07	9,43E+06
CaIP6_0,4gB**	0,8	1,08E+08	1,24E+07



Graf 6 Kalibrační křivka – 64 akvizic (Zdroj: autor)

Tab. 8 Kalibrační křivka – 150 akvizic (Zdroj: autor)

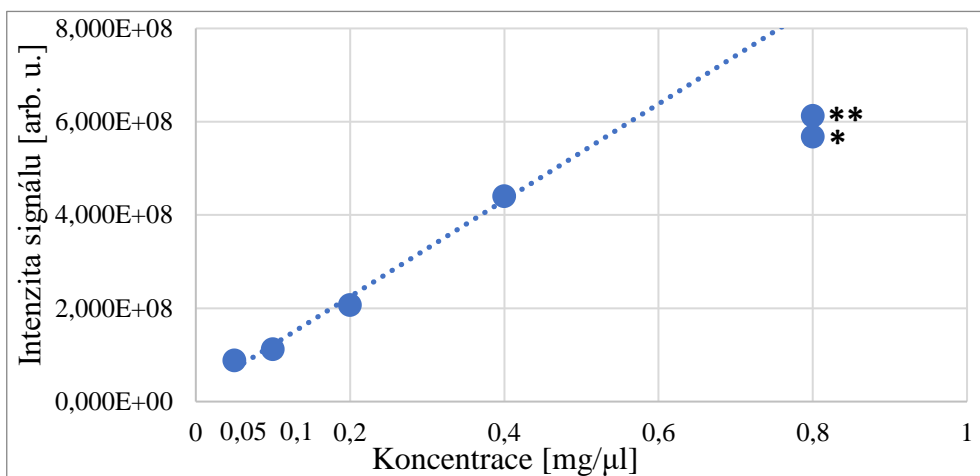
Počet akvizic: 150	Koncentrace [mg/μl]	Integrál signálu	Amplituda signálu
CaIP6_0,025g	0,05	4,68E+07	1,04E+07
CaIP6_0,05g	0,1	5,91E+07	1,50E+07
CaIP6_0,1g	0,2	1,03E+08	1,62E+07
CaIP6_0,2g	0,4	2,10E+08	3,15E+07
CaIP6_0,4gA*	0,8	3,19E+08	2,07E+07
CaIP6_0,4gB**	0,8	3,31E+08	2,54E+07



Graf 7 Kalibrační křivka – 150 akvizic (Zdroj: autor)

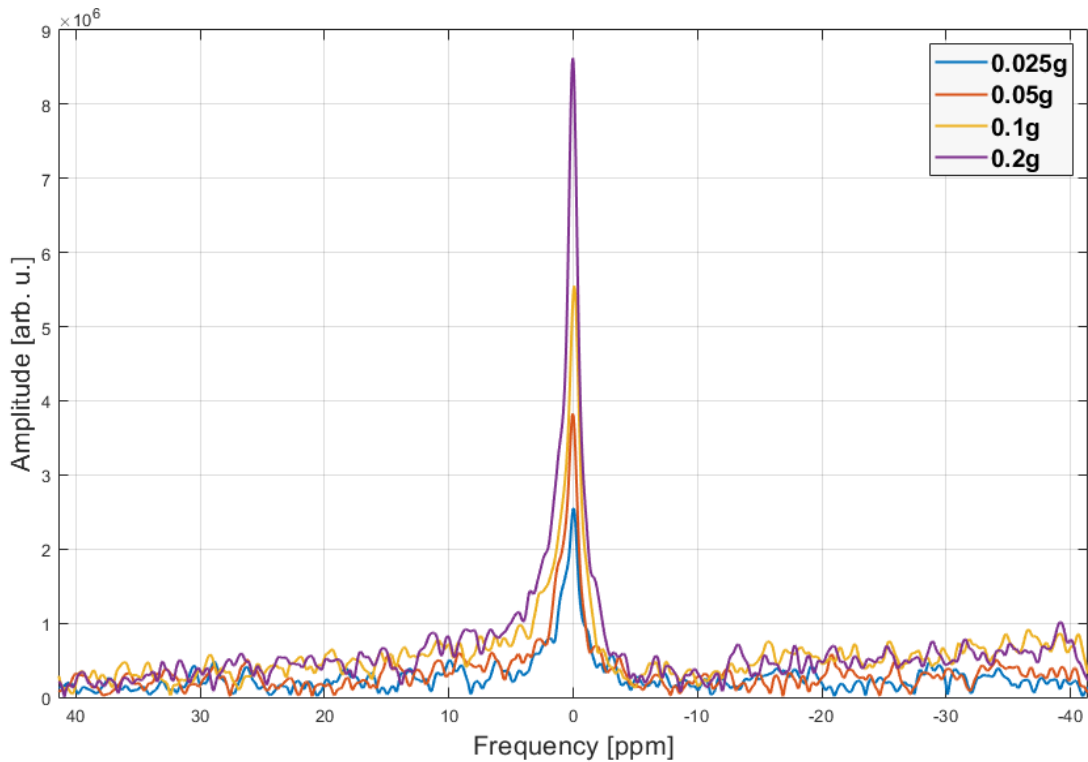
Tab. 9 Kalibrační křivka – 300 akvizic (Zdroj: autor)

Počet akvizic: 300	Koncentrace [mg/μl]	Integrál signálu	Amplituda signálu
CaIP6_0,025g	0,05	8,83E+07	2,39E+07
CaIP6_0,05g	0,1	1,12E+08	2,97E+07
CaIP6_0,1g	0,2	2,07E+08	2,94E+07
CaIP6_0,2g	0,4	4,41E+08	6,08E+07
CaIP6_0,4gA*	0,8	5,28E+08	4,04E+07
CaIP6_0,4gB**	0,8	6,13E+08	5,28E+07



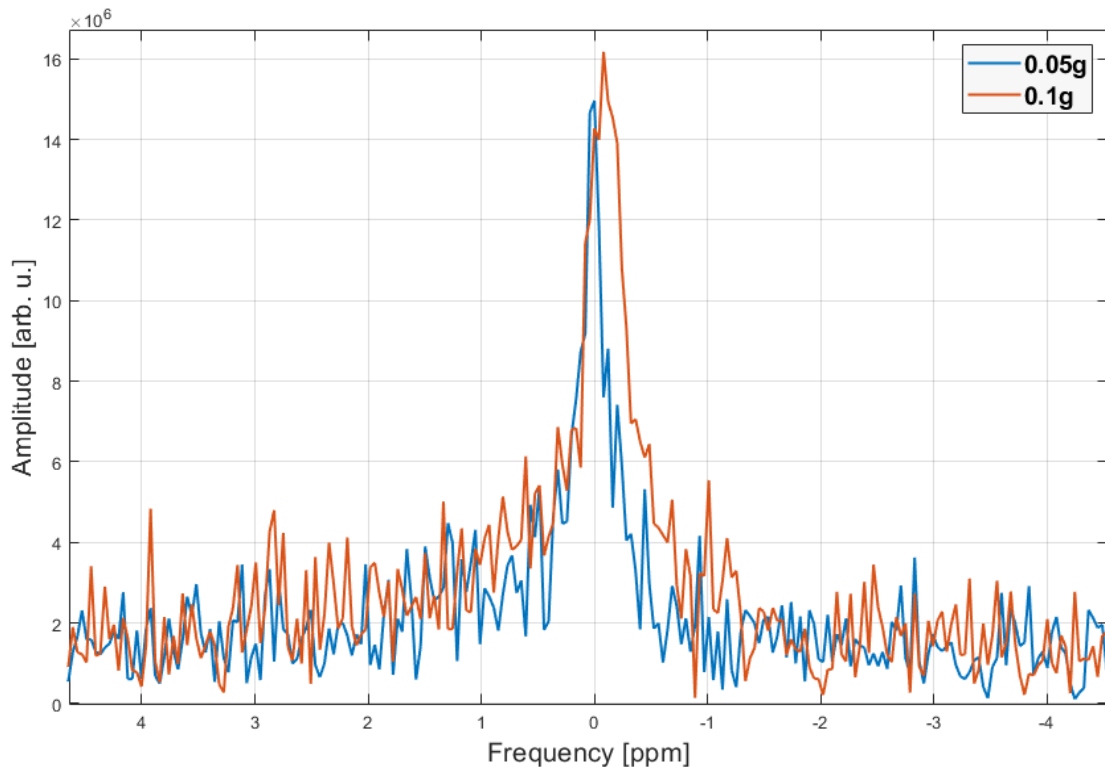
Graf 8 Kalibrační křivka – 300 akvizic (Zdroj: autor)

Na Obr. 21 je zobrazeno spektrum čtyř koncentrací při 150 akvizicích, pro zvýšení rozlišení byla tato spektra Apodizována Gaussovou funkcí s parametrem 100.



Obr. 21 Apodizované spektrum čtyř koncentrací, 150 akvizic (Zdroj: autor)

Obr. 22 představuje, že při hodnocení koncentrace závisí i na šířce spektra. Zde dvakrát více koncentrovaný vzorek má pouze o 7 % vyšší amplitudu, ale přesto dosahuje dvojnásobku plochy pod křivkou, jedná se o signály CaIP6_0,1g a CaIP6_0,2g z Tab. 8.



Obr. 22 Detail na spektrum CaIP6_0,1g a CaIP6_0,05g, 150 akvizic (Zdroj: autor)

4. Diskuze

Během vývoje programu jsme se potýkali s několika problémy, především v počátečních fázích vývoje. Dostupná odborná literatura se zabývá pouze tím, jak načtená data zpracovat, ovšem největší problém, který by nedovoloval ve vývoji pokračovat dál, spočíval v tom, jak nezpracovaná, tzv. raw data, z kterých je tvořen *fid* soubor, správně číst. Pomocí Fourierovy transformace jsme samozřejmě dokázali vytvořit spektrum, ale to nekorespondovalo se spektry, které vytvářel profesionální software. Špatné načtení souboru se mimo jiné projevovalo zrcadlením spektra uprostřed grafu.

Po debatě se studentem magisterského oboru biomedicínské inženýrství na Technické Univerzitě v Liberci, který se potýkal se shodným problémem při řešení své diplomové práce, tedy jak správně načíst datový soubor *fid*, jsem se dozvěděl, že společnost *Bruker*, výrobce MR tomografů, ukládá data jako 32bitová a zapsané hodnoty se musí číst jako komplexní čísla. Po úpravě kódu, tak aby skript správně načel nezpracovaná data jsme se již blížili ke správné grafické reprezentaci spektra. Posledním krokem při předzpracování dat bylo potřeba z vyhodnocování odebrat náběh dat, který nese data o nulové informační hodnotě. Po této fázi předzpracování dat, se spektra vykreslovala bez potíží a odpovídaly tomu, jak je zobrazuje profesionální software *TopSpin*.

Vývoj softwaru probíhal organicky tak, že jsme začali od nejdůležitějších funkcí až po ty, které můžeme nazývat čistě kosmetické. Postupem času vzniklo několik verzí programu, které se lišily ať už svými možnostmi, nebo různým rozložením grafického uživatelského prostředí, než jsme došli k finální verzi, která je v této práci popisována.

Při analýze, která se týkala vlivu apodizace na výsledné spektrum, jsme zjistili, že použité filtrovací funkce, dokážou zásadně zlepšit poměr signálu a šumu, ale ovlivňují amplitudu spektra a s tím spojenou plochu pod křivkou. Z těchto důvodů je nedoporučuji používat během kvantitativní analýzy, pouze pokud je chceme užít pro grafickou prezentaci.

Při kvantitativní analýze, jako je například výpočet plochy pod křivkou, si je nutné uvědomit, že stále pracujeme s diskrétním signálem, nikoli spojitým, což může přinášet určité limitace. Například pokud se vhodná hranice integrálu nachází mezi dvěma vzorky, tak se ve skutečnosti tato hranice přimkne k určité hodnotě vzorku, což v určitých případech může udělat značný rozdíl, především pokud je šířka spektra velmi úzká.

Z vynesných grafů 5–8 můžeme vyčíst, dle předpokladů, lineární vývoj plochy pod křivkou spektra v závislosti na koncentraci, a to v námi naměřených koncentracích 0,05–0,4 mg/μl. Pomocí interpolace můžeme určit hodnotu a' už integrálu nebo koncentrace, která se nachází v tomto rozmezí.

Také si můžeme všimnout, že hodnoty integrálu u vyšších koncentracích, než je 0,4 mg/μl již nelze s jistotou určit na základě tohoto pokusu u této sloučeniny. Dle teoretického předpokladu bychom očekávali, že plocha pod křivkou vzorku o koncentraci 0,8 mg/μl se bude pohybovat okolo dvojnásobku plochy pod křivkou vzorku s koncentrací 0,4 mg/μl, tato situace ovšem nenastala.

Ve výzkumné části bylo také zmíněno, že tento vzorek o koncentraci 0,8 mg/μl byl naměřen dvakrát. Poprvé za shodných výchozích podmínek, jako ostatní vzorky, podruhé poté co byl tento vzorek cca 1 hodinu v ultrazvukové lázni. Primárním využitím ultrazvukové lázně je čištění nečistot, přičemž jako vedlejší produkt vzniká teplo, které kapalinu uvnitř lázně zahřeje, tato teplota může být na přístroji přímo nastavena.

Po aplikaci Fourierovy transformace na FID signál dochází ke vzniku spektra. Tento FID signál klesá exponenciálně s časovým parametrem T_2^* . S delší T_2^* můžeme taktéž očekávat větší plochu pod křivkou (McRobbie et al., 2007). Předpokládáme tedy, že vzorek o koncentraci 0,8 mg/μl má kratší T_2^* než vzorek s koncentrací 0,4 mg/μl.

Parametr T_2^* , který kromě jiného při spektroskopii ovlivňuje plochu pod křivkou, klesá s rostoucím rotačním korelačním časem, jak bylo ukázáno například u fluoresceinu (Devauges et al., 2012) nebo u trehalózy (Parker et al., 2010). Rotační korelační čas značí dobu, za jakou se molekula otočí o jeden radián. S rostoucí hodnotou viskozity dochází taktéž ke zvýšení rotačního korelačního času. S rostoucí teplotou vzorku klesá viskozita vzorku (Webb et al., 2017).

Na základě tohoto teoretického východiska se měla plocha pod křivkou při druhém měření zvětšit, což se potvrdilo, vzorek ovšem nebyl zahřán dostatečně. Můžeme předpokládat, že pokud bychom zahřáli vzorek ještě více, doba T_2^* by se prodloužila natolik, tak aby pasovala na vzniklou kalibrační křivku. Ovšem toto nemůžeme s jistotou potvrdit. Protože byla zásadně narušena shodnost výchozích podmínek, je tento vzorek o této koncentraci jak pro vyhodnocování, tak pro praktické užití nevhodný. Druhé měření tohoto vzorku mělo především za cíl ověřit správnost teorie.

5. Návrh doporučení pro praxi

Vytvořený program při pouhé grafické reprezentaci dat se nijak zásadně neliší od běžně užívaného komerčního software pro vyhodnocení spektroskopických dat. Program je také schopný nám poskytnout základní informace o spektru při kvantitativní analýze. Taktéž můžeme využít různých metod pro zlepšení rozlišení spektra. Vytvořený software nedosahuje takové komplexnosti, jakou nám nabízí profesionální software, ale pro běžnou analýzu je plně dostačující.

Z tohoto důvodu jednoznačně doporučuji ve vývoji programu, který má, i přes svou robustnost, stále nějaké nedostatky, pokračovat. Kromě přidání dalších možností, které by napomohly při kvantitativní analýze, doporučuji se také soustředit na optimalizaci programu a nabídnout funkce, které by napomohly uživatelskému komfortu. Ideální by bylo částečně zautomatizovat proces analýzy a tím ho urychlit. Pokud bude možné na tuto práci navázat, tak bych se v diplomové práci zabýval oblastí, která kombinuje zobrazování magnetickou rezonancí i metodu magnetické rezonanční spektroskopie a využil potenciálních nových možností, které by tento program mohl nabídnout.

6. Závěr

V rámci této bakalářské práce, která se zabývala načtením a zpracováním spektroskopických dat z magnetické rezonanční spektroskopie, bylo stanoveno pět cílů, přičemž každý z nich byl splněn.

V teoretické části jsme se věnovali popisu principu jevu magnetické rezonance, stejně tak jako popisu možností a vlastností magnetické rezonanční spektroskopie, která jak již název napovídá na tomto principu funguje.

Součástí teoretické části je i popis hardware MR tomografu. Zabývali jsme se také teorií týkající se zpracování signálů, této teorie jsme využili při tvorbě programu ke zpracování spektroskopických dat.

Primárním cílem, a tedy i hlavní náplní bakalářské práce byl vývoj programu ve vývojovém prostředí MATLAB. Pomocí vytvořeného programu jsme schopni načíst a zpracovat spektroskopická data poskytovaná MR tomografy od společnosti *Bruker*. Při vývoji programu jsme vycházeli ze získaných teoretických poznatků z oblasti teorie signálů. Nezbytné také bylo provést rešerši základních možností profesionálního software, abychom zjistili, jaké možnosti by software určený ke zpracování spekter měl nabízet. Tímto „referenčním“ software se stal komplexní program *TopSpin* od společnosti *Bruker*. Tento program je odbornou komunitou považován ze standard při zpracování spekter produkovaných MR tomografy nebo MR spektrometry.

Vytvořeným programem můžeme při kvantitativní analýze spektroskopických dat např. spočítat hodnotu poměru signálu a šumu nebo plochu pod křivkou, která je přímo úměrná koncentraci sledovaného metabolitu. Při pouhé grafické reprezentaci signálu je vhodné zlepšit rozlišení spektra, což je uživateli poskytnuto. K tomuto byly využity běžné metody při zpracování spektroskopických dat, a to apodizace a tzv. zero-filling. Praktickou ukázkou využití vytvořeného programu bylo vytvoření kalibrační křivky sloučeniny fyfátu vápenátého, která umožňuje následné kvantitativní hodnocení 31P spekter.

Seznam použité literatury

- ATKINS, P., J. PAULA a J. KEELER. 2018. *PHYSICAL CHEMISTRY*. 11th ed. Oxford University Press. ISBN 978-0198769866.
- ATTIA, Noha M. et al. 2020. Magnetic resonance spectroscopy in pediatric brain tumors: how to make a more confident diagnosis. *Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine*. **51**(14). DOI 10.1186/s43055-020-0135-3.
- BAUMAN, Bernhard et al. 2019. Signal averaging improves signal-to-noise in OCT images: But which approach works best, and when? *Biomedical Optics Express*. 10(11), 5755-5775. DOI 10.1364/BOE.10.005755.
- BECKER, D. Edwin. 2007. Paul Christian Lauterbur. *Physics Today*. **60**(7), 77–78. DOI 10.1063/1.2761815.
- BENEŠ, J., D. JIRÁK a F. VÍTEK. 2015. *Základy lékařské fyziky*. 4. vyd. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-2645-1.
- BITAR, Richard et al. 2006. MR Pulse Sequences: What Every Radiologist Wants to Know but Is Afraid to Ask. *RadioGraphics*. **26**(2), 513–537. DOI 10.1148/rg.262055063.
- BUSHBERG, T. Jerrold et al. 2012. *The Essential Physics of Medical Imaging*. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins. ISBN 978-0781780575.
- DEVAUGES, Viviane et al. 2012. Homodimerization of Amyloid Precursor Protein at the Plasma Membrane: A homoFRET Study by Time-Resolved Fluorescence Anisotropy Imaging. *PLOS One*. **7**(9), 1–12. DOI 10.1371/journal.pone.0044434.
- DEZORTOVÁ, M., D. PAJUELO a M. HÁJEK. 2017. 1H MR SPEKTROSKOPIE - I. MOZEK. *Česká radiologie*. **71**(4), 296–304. ISSN 1210-7883.
- EDELMAN, R. Robert. 2014. The History of MR imaging as seen through the pages of radiology. *Radiology*. **273**(2), S181–S200. DOI 10.1148/radiol.14140706.
- GRAFF, A. Robin. 2019. *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques*. 3rd ed. New Jersey: Wiley. DOI 10.1002/9781119382461.
- GRUBER, Bernhard et al. 2018. RF Coils: A Practical Guide for Nonphysicists. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. **48**(3), 590–604. DOI 10.1002/jmri.26187.
- HÁJEK, Milan et al. 2017. DYNAMICKÁ IN VIVO 31P MR SPEKTROSKOPIE ČLOVĚKA. *Chemické listy*. **111**(8), 516–523. ISSN 1213-7103.

- HAJEK, Milan a Monika DEZORTOVA. 2008. Introduction to clinical in vivo MR spectroscopy. *European Journal of Radiology*. **67**(2), 185–193. DOI 10.1016/j.ejrad.2008.03.002.
- HRABAL, Richard. 2017. Role MNR spektroskopie při zkoumání bílkovin. *Bioprospect*. **27**(2), 28–33. ISSN 1210-1737.
- CHAVHAN, B. Govind et al. 2009. Principles, Techniques, and Applications of T2*-based MR Imaging and Its Special Applications. *RadioGraphics*. **29**(5), 1433–1449. DOI 10.1148/rg.295095034.
- IBRAHIM, Elsayed. 2017. *Heart Mechanics: Magnetic Resonance Imaging, Mathematical Modeling, Pulse Sequences and Image Analysis*. CRC Press. ISBN 978-1-4822-6368-8.
- JUNG, Bernd André a Matthias WEIGEL. 2013. Spin echo magnetic resonance imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. **37**(4), 805–817. DOI 10.1002/jmri.24068.
- KIDO, Ken'iti. 2015. *Digital Fourier Analysis: Fundamentals*. Springer. ISBN 978-1-4614-9259-7.
- LI B.S.Y., J. REGAL a O. GONEN. 2001. SNR Versus Resolution in 3D ¹H MRS of the Human Brain at High Magnetic Fields. *Magnetic Resonance in Medicine*. **46**(6), 1049-1053. DOI 10.1002/mrm.1297.
- MARKL, Michael a Jochen LEUPOLD. 2012. Gradient Echo Imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. **35**(6), 1274–1289. DOI 10.1002/jmri.23638.
- MARKLEY, L. John et al. 2017. The future of NMR-based metabolomics. *Current opinion in Biotechnology: Analytical biotechnology*. **43**, 34–40. DOI 10.1016/j.copbio.2016.08.001.
- MAYFIELD BRAIN & SPINE. Magnetic Resonance Spectroscopy, MR spectroscopy. MAYFIELD BRAIN & SPINE. *Mayfield Brain & Spine, Neurosurgery, Spine surgeons, Brain surgeons, Cincinnati, Ohio* [online]. Ohio: Mayfield Brain & Spine, aktualiz. 2018-4 [cit. 2019-12-27].
- MCROBBIE, W. Donald et al. 2007. *MRI from Picture to Proton*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 978-0521683845.
- MILLS, Ian et al. 1993. *Quantities, Units and Symbols in Physical Chemistry*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science. ISBN 0-632-03583-8.
- MILNER, Richard. 2013. A Short History of Spin. *Proceedings of Science: XVth International Workshop on Polarized Sources, Targets, and Polarimetry*. **182**(16), 1–15. DOI 10.22323/1.182.0003.

- MÜLLER, Meinard. 2015. *Fundamentals of Music Processing: Audio, Analysis, Algorithms, Applications*. Erlangen: Springer. ISBN 978-3-319-21944-8.
- PARKER, C. Wesley et al. 2010. High-resolution intracellular viscosity measurement using time-dependent fluorescence anisotropy. *Optics Express*. **18**(16), 16607–16617. DOI 10.1364/OE.18.016607.
- RADUE, Ernst-Wilhelm. 2016. Introduction to Magnetic Resonance Imaging for Neurologists. *Continuum*. **22**(5), 1379–1398. DOI 10.1212/CON.0000000000000391.
- STAGG, Charlotte a Douglas ROTHMAN. 2014. *Magnetic Resonance Spectroscopy: Tools for Neuroscience Research and Emerging Clinical Applications*. Elsevier. ISBN 978-0124016880.
- STARČUK, Zenon et al. 2005. ¹H IN VIVO SPEKTROSKOPIE V KLINICKÉ NEUROLOGII. *Neurologie pro praxi*. **6**(3), 140–148. ISSN 1803-5280.
- ŠEDIVÝ, Petr et al. 2017. 31P a 19F MR spektroskopie a zobrazování v IKEM. *Česká radiologie*. **71**(4), 312–322. ISSN 1210-7883.
- TINTĚRA, Jaroslav. 2017. KLINICKÉ SYSTÉMY MAGNETICKÉ REZONANCE: VÝVOJ ZA POSLEDNÍCH 30 LET A NOVÉ TRENDY. *Česká radiologie*. **71**(4), 243–259. ISSN 1210-7883.
- TIPLER, Paul A. a Ralph LLEWELLYN. 2012. *Modern Physics*. 6th ed. New York: W. H. Freeman and Company. ISBN 978-1429250788.
- ULMER S., M. BACKENS a F. J. AHLHELM. 2016. Basic Principles and Clinical Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy in Neuroradiology. *Journal of Computer Assisted Tomography*. **40**(1), 1–13. DOI 10.1097/RCT.0000000000000322.
- VALKOVIČ, L., M. CHMELÍK a M. KRŠŠÁK. 2017. In vivo 31P-MRS of skeletal muscle and liver: A way for non-invasive assesment of their metabolism. *Analytical Biochemistry*. **529**, 193–215. DOI 10.1016/j.ab.2017.01.018.
- VLAARDINGERBROEK, Marinus T. a Jacques A. den BOER. 1999. *Magnetic Resonance Imaging: Theory and Practice*. Springer. ISBN 978-3-662-03800-0.
- WEBB, Bridgette et al. 2017. Temperature dependence of viscosity, relaxation times (T1, T2) and simulated contrast for potential perfusates in post-mortem MR angiography (PMMRA). *International Journal of Legal Medicine*. **131**(3), 739–749. DOI 10.1007/s00414-016-1482-5.

Seznam tabulek

Tab. 1 Pravidla pro číselnou hodnotu spinu	16
Tab. 2 Vlastnosti nejčastěji užívaných jader při MR.....	17
Tab. 3 Porovnání Gradient a Spin echa	23
Tab. 4 Hmotnostní a objemové údaje o jednotlivých vzorcích	49
Tab. 5 Vliv počtu akvizic na čas měření.....	51
Tab. 6 Kalibrační křivka – 32 akvizic.....	51
Tab. 7 Kalibrační křivka – 64 akvizic.....	52
Tab. 8 Kalibrační křivka – 150 akvizic.....	52
Tab. 9 Kalibrační křivka – 300 akvizic.....	53

Seznam grafů

Graf 1 Vývoj hodnoty amplitudy po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí	43
Graf 2 Vývoj hodnoty SNR po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí (Šum – směrodatná odchylka)	44
Graf 3 Vývoj hodnoty SNR po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí (Šum – amplituda)	44
Graf 4 Vývoj hodnoty plochy pod křivkou po aplikaci jednotlivých filtrovacích funkcí	47
Graf 5 Kalibrační křivka – 32 akvizic	52
Graf 6 Kalibrační křivka – 64 akvizic	52
Graf 7 Kalibrační křivka – 150 akvizic	53
Graf 8 Kalibrační křivka – 300 akvizic	53

Seznam obrázků

Obr. 1 A) Precese podél osy Z, B) Precese po aplikování 90° pulzu	20
Obr. 2 A) Náčrt dodržení Shannonova teorému, B) Náčrt nesplněného Shannonova teorému	28
Obr. 3 A) Jednotlivé složky signálu, B) sečtené složky signálu, C) Rozložený signál za pomocí FFT.....	30
Obr. 4 Soubory, z kterých je výsledný program vytvořen.....	33
Obr. 5 Výchozí vzhled programu po vyplnění vstupního parametru	34
Obr. 6 Signál FID před předzpracováním.....	34
Obr. 7 Uvítací obrazovka s možností nastavení Zero-filling parametru.....	35
Obr. 8 A) Signál FID začínající na maximální hodnotě a doplněn nulami, B) Signál FID s dvojnásobnou délkou po aplikaci Zero-fillingu	36
Obr. 9 Detail na skupinu funkčních tlačítek, ovlivňující zobrazené signály	39
Obr. 10 Grafy jednotlivých apodizačních funkcí.....	40
Obr. 11 A) Spektrum před apodizací, B) Spektrum po aplikaci apodizace (Lorentz-Gauss, parametr apodizace 50)	41
Obr. 12 Znázornění veličin použitých při výpočtu SNR	42
Obr. 13 Ovládací panel s detailem na oblast pro výpočet plochy pod křivkou	45
Obr. 14 Ukázka zobrazení integrálního ohraničení	45
Obr. 15 Exportovaná data v textovém dokumentu	47
Obr. 16 Exportovaná data v tabulkovém dokumentu	48
Obr. 17 Fytát vápenatý – CaIP ₆	48
Obr. 18 Vodní roztok CaIP ₆ _0,4g	49
Obr. 19 Objemová cívka typu solenoid	50
Obr. 20 Detail na solenoid	50
Obr. 21 Apodizované spektrum čtyř koncentrací, 150 akvizic.....	54
Obr. 22 Detail na spektrum CaIP ₆ _0.1g a CaIP ₆ _0.05g, 150 akvizic	54

Seznam zdrojových kódů

Zdrojový kód 1 Zero-filling	36
Zdrojový kód 2 Definování vzhledu kartézské soustavy souřadnic	37
Zdrojový kód 3 Definování rozsahu vodorovné osy	37
Zdrojový kód 4 Definování ovládacího panelu	38
Zdrojový kód 5 Definování vzhledu rozbalovacího seznamu	38
Zdrojový kód 6 Předpis Lorentzovy funkce	40
Zdrojový kód 7 Předpis Gaussovy funkce	40
Zdrojový kód 8 Předpis Lorentz-Gaussovy funkce	41
Zdrojový kód 9 Předpis funkce sigmoidy	41
Zdrojový kód 10 Funkce sloužící pro výpočet poměru signálu a šumu	43
Zdrojový kód 11 Funkce sloužící pro výpočet integrálu	46
Zdrojový kód 12 Část funkce exportující data ve formátu .xlsx	48

Seznam příloh

- Příloha A Fotografie MR tomografu *Bruker Biospec 4.7T*
- Příloha B Spektrum vzorku CaIP6_ 0,1g zobrazené programem *TopSpin*
- Příloha C Spektrum vzorku CaIP6_ 0,1g zobrazené v prohlížeči spekter
- Příloha D Datová složka obsahující soubory s informacemi o proběhlém skenu
- Příloha E Obsah přiloženého CD

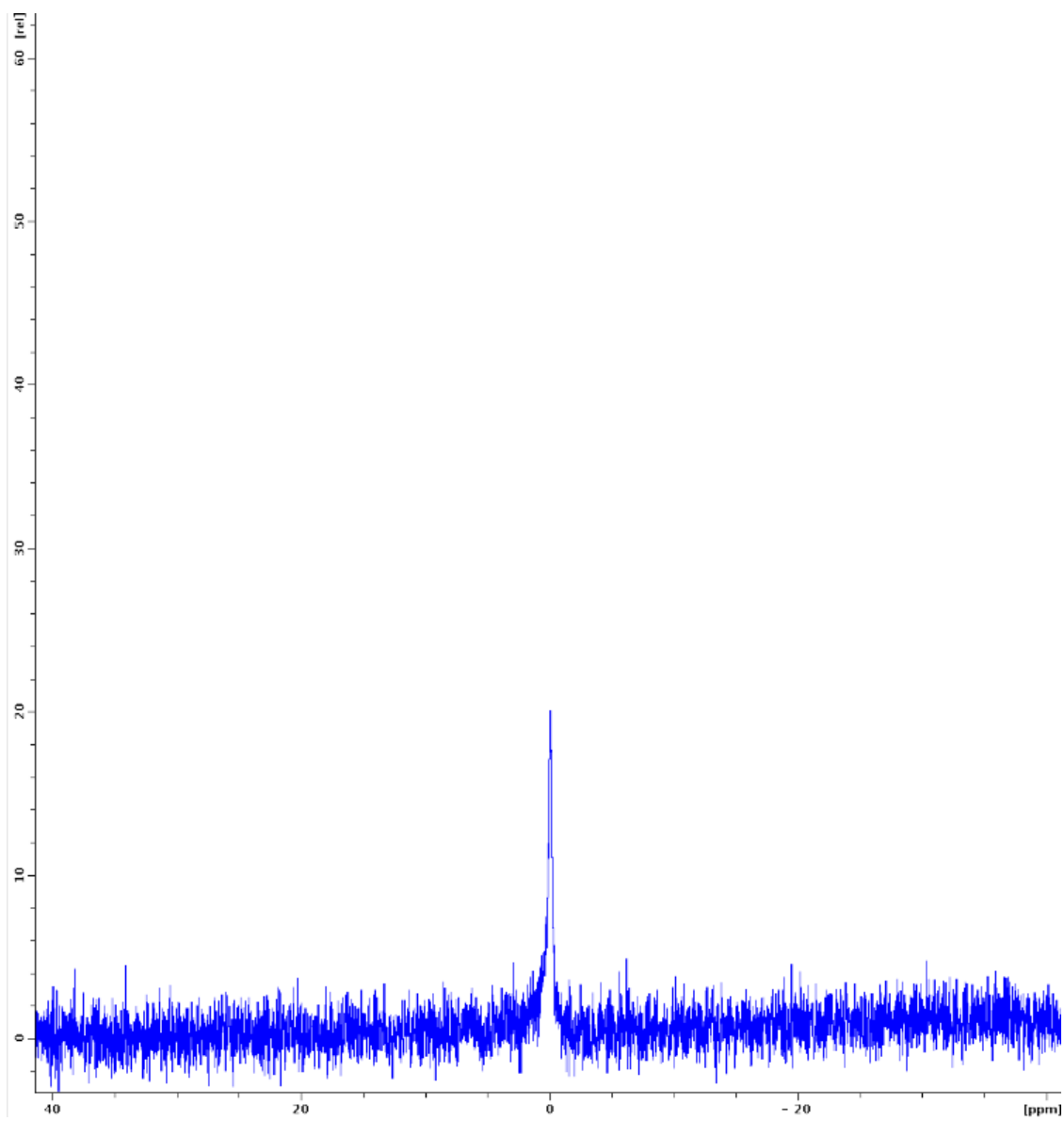
Přílohy

Příloha A Fotografie MR tomografu *Bruker Biospec 4.7T*



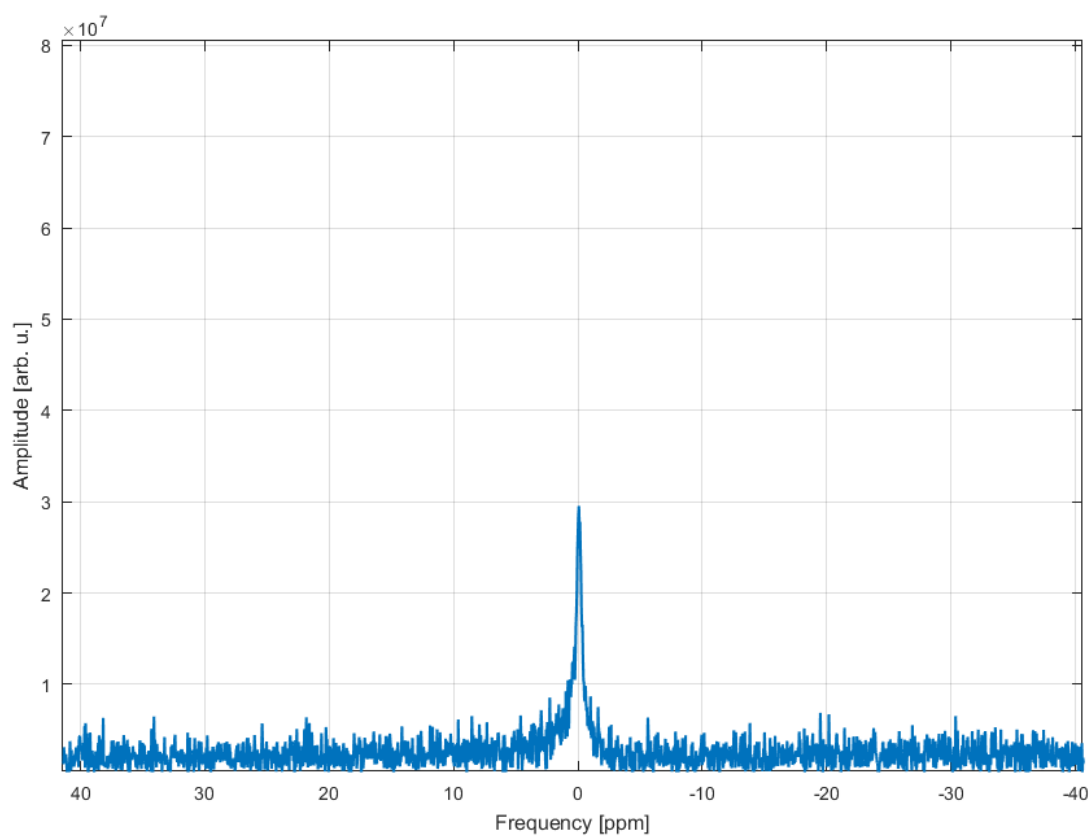
Obr. A MR tomograf Bruker Biospec 4.7T (Zdroj: autor)

Příloha B Spektrum vzorku CaIP6_0,1g zobrazené programem *TopSpin*



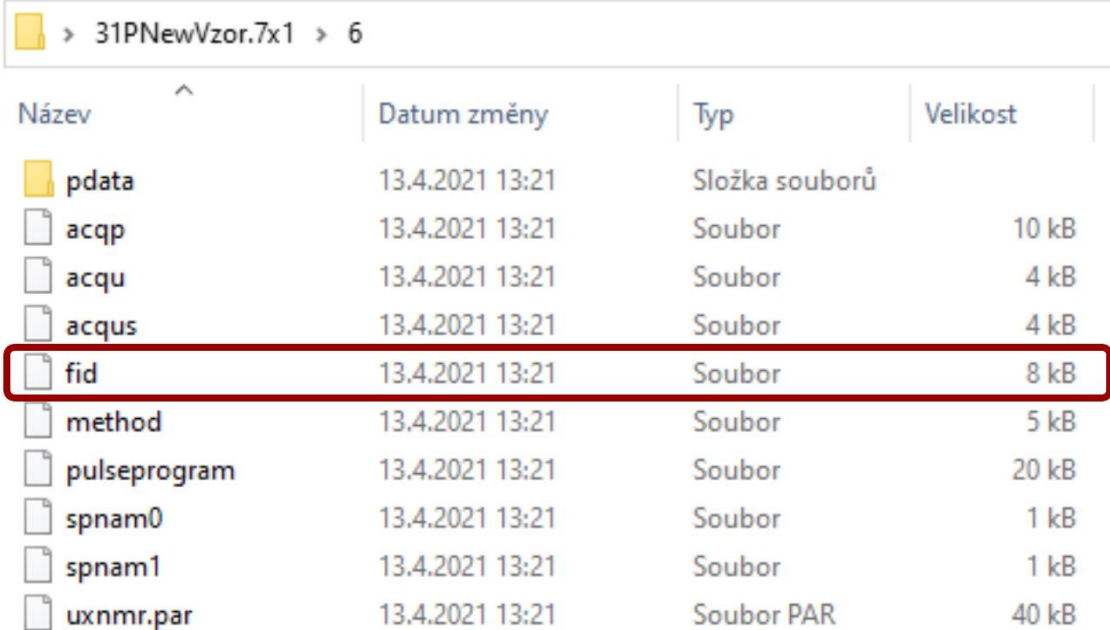
Obr. B Spektrum vzorku CaIP6_0,1g zobrazené programem *TopSpin* (Zdroj: autor)

Příloha C Spektrum vzorku CaIP6_0,1g zobrazené v prohlížeči spekter



Obr. C Spektrum vzorku CaIP6_0,1g zobrazené v prohlížeči spekter (Zdroj: autor)

Příloha D Datová složka obsahující soubory s informacemi o proběhlém skenu



Název	Datum změny	Typ	Velikost
pdata	13.4.2021 13:21	Složka souborů	
acqp	13.4.2021 13:21	Soubor	10 kB
acqu	13.4.2021 13:21	Soubor	4 kB
acqus	13.4.2021 13:21	Soubor	4 kB
fid	13.4.2021 13:21	Soubor	8 kB
method	13.4.2021 13:21	Soubor	5 kB
pulseprogram	13.4.2021 13:21	Soubor	20 kB
spnam0	13.4.2021 13:21	Soubor	1 kB
spnam1	13.4.2021 13:21	Soubor	1 kB
uxnmr.par	13.4.2021 13:21	Soubor PAR	40 kB

Obr. D Datová složka proběhlého skenu s výrazněným souborem *fid* (Zdroj: autor)

Příloha E Obsah přiloženého CD

Text bakalářské práce

- bakalarska_prace_2021_Dominik_Havlicek.pdf

Kompletní zdrojový kód prohlížeče spekter

- prohlizec_spekter_2021_Dominik_Havlicek.zip

- apodization.m

- gui.m

- main.m

- 2krát soubor *fid*

Článek shrnující text bakalářské práce

- shrnujiciClanek_metodickyManual_2021_Dominik_Havlicek.pdf