



Testování nových kontrastních látek pro ^{31}P magnetickou rezonanci

Diplomová práce

Studijní program:

N3963 Biomedicínské inženýrství

Studijní obor:

Biomedicínské inženýrství

Autor práce:

Bc. David Červený

Vedoucí práce:

doc. Ing. Daniel Jiráček, Ph.D.

Fakulta zdravotnických studií





Zadání diplomové práce

Testování nových kontrastních látek pro ³¹P magnetickou rezonanci

Jméno a příjmení: **Bc. David Červený**
Osobní číslo: D19000116
Studijní program: N3963 Biomedicínské inženýrství
Studijní obor: Biomedicínské inženýrství
Zadávající katedra: Fakulta zdravotnických studií
Akademický rok: **2020/2021**

Zásady pro vypracování:

Cíle práce:

1. Experimentálně ověřit vlastnosti nových kontrastních látek
2. Popsat vliv použití kontrastních látek na výsledný kontrast MR obrazů
3. Porovnat výsledky měření a ověřit použitelnost nových kontrastních látek v praxi

Teoretická východiska (včetně výstupu z kvalifikační práce):

31P MR je v současné době vhodné především pro zobrazování fosforových sloučenin, které se účastní energetického metabolismu organismů.

Novou kapitolou pro 31P zobrazování jsou kontrastní látky s obsahem fosforu, které díky selektivní chemické vazbě dokáží v případě přítomnosti patologických metabolitů zvýšit svůj kontrast na MR obrazech. Tím dojde ke zvýraznění patologického místa. Nové kontrastní látky je třeba před zavedením do praxe důkladně testovat. Primárním zájmem této práce bude testování senzitivity 31P MR měření při použití zmíněných nových kontrastních látek. Měření bude prováděno in vitro na fantomech s několika různými koncentracemi kontrastní látky, MR sekvencemi s různými parametry, a to klasickými zobrazovacími nebo spektroskopickými. Výsledky této práce budou použity ve článku zaslaném do impaktovaného vědeckého časopisu.

Výzkumné předpoklady / výzkumné otázky:

1. Předpokládáme, že kontrastní látky budou pozitivně upravovat kvalitu výstupu MR měření
2. Předpokládáme, že každá ze zkoumaných látek bude mít jiné vlastnosti a bude jinak upravovat kvalitu výstupu MR měření

Metoda:

Experiment

Technika práce, vyhodnocení dat:

Měření, zpracování dat specializovaným software

Místo a čas realizace výzkumu:

Laboratoře IKEM, leden 2020 – únor 2021

Vzorek:

Fantomy tvořené vzorky čtyř nových polymerních kontrastních látek a jejich modifikací

Rozsah práce:

Rozsah diplomové 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:

1. BENEŠ, J., D. JIRÁK a F. VÍTEK. *Základy lékařské fyziky*. Praha : Carolinum, 2015. 978-80-246-2645-1.
2. BOTTOMLEY, Paul A. a John R. Griffiths. *Handbook of magnetic resonance spectroscopy In Vivo. MRS Theory, Practice and Applications*. Chichester : John Wiley & Sons, 2014.
3. Parker, Geoff J. M. Magnetic Resonance Imaging (MRI) In Drug Development. *Drug development world*. 2016, Winter 2015/16.
4. BERNSTEIN, M. A., K. F. KING, a X. J. ZHOU. *Handbook of MRI Pulse Sequences*. Burlington : Elsevier, 2004. 0-12-092861-2.
5. PALLIER, Christophe. Signal to noise ratio in MRI. *Christophe Pallier*. [Online] 18. 12 2015. [Citace: 15. 04 2019.] <http://www.pallier.org/pdfs/snr-in-mri.pdf>.
6. EDELMAN, Robert R. The History of MR Imaging as seen through the Pages of Radiology. *Radiology*. 2014, 273(2).
7. JAMES, Thomas L. *Fundamentals of NMR*. San Francisco : University of California, 1998.
8. KONSTANDIN, Simon a Lothar R. Schad. 30 years of sodium/X-nuclei magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*. 2014, 27(1).
9. MARK HAACKER, E. et al. *Magnetic resonance imaging: physical principles and sequence design* . Second edition. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell, 2014. ISBN 978-1-118-63398-4.
10. ŽIŽKA, Jan et al. *Protokoly MR zobrazování: pokročilé techniky*. Praha: Galén, 2015. ISBN 978-80-7492-179-7.

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 diplomovou práci jsem vypracoval samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Jsem si vědom toho, že na mou diplomovou 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 diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li diplomovou 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 diplomová 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.

26. července 2022

Bc. David Červený

Vážený pan
David Červený, Bc.
D19000116
Jana Weisse 1203
514 01 Jilemnice

Vyřizuje/linka: Čermáková/485 353 194

V Liberci dne 21. května 2021
č. j.: TUL - 21/8511/017434-001

Vyjádření k žádosti o ponechání zadání diplomové práce

Vážený pane Červený,

na základě Vaší žádosti ze dne 20. 05. 2021, zaevidované pod č. j.: TUL - 21/8511/017434 Vám sděluji, že **souhlasím** s ponecháním zadání diplomové práce a prodloužení termínu odevzdání do 30.6.2022.

S pozdravem

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

děkan



Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu práce Doc. Ing. Danielu Jirákoví, Ph.D., Ing. Martinu Vítovi, Ph.D., Ing. Richardu Lagovi, Ph.D., Ing. Ladislavu Androvičovi a Ing. Lucii Kracíkové za jejich odborné rady, ochotu při konzultacích a poskytnutí materiálů při psaní diplomové práce.

Anotace

Autor:	David Červený
Instituce:	Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických Studií
Název práce:	Testování nových kontrastních látek pro ^{31}P magnetickou rezonanci
Vedoucí práce:	doc. Ing. Daniel Jirák, PhD.
Počet stran:	
Rok obhajoby:	2022

Cílem této práce je testování nových kontrastních látek pro ^{31}P magnetickou rezonanci především z hlediska senzitivity. Teoretická část práce se zabývá popisem fyzikálního principu, vývoje a možností zobrazování magnetickou rezonancí, popisem principu a vývoje kontrastních látek se zvláštním zaměřením ^{31}P kontrastní látky. Podstatou praktické části je testování nových kontrastních látek *in vitro* z hlediska senzitivity, a to v MR zobrazení a také v MR spektroskopii.

Klíčová slova

Magnetická rezonance, magnetická rezonanční spektroskopie, MRS, MRI, kontrastní látky pro ^{31}P MR

Anotation

Author: David Červený
Institution: Technical University of Liberec, Faculty of health Studies
Title: Testing of new contrast agents for ^{31}P magnetic resonance
Supervisor: doc. Ing. Daniel Jirák, PhD.
Pages:
Year: 2022

The aim of this work is the testing of new contrast agents for ^{31}P magnetic resonance primarily focused on sensitivity. The theoretical part of the thesis deals with the description of the physical principle, development and possibilities of magnetic resonance imaging, description of the principle and development of contrast agents with a special focus on ^{31}P contrast agent. The essence of the practical part is the testing of new contrast agents *in vitro* in terms of sensitivity in MR imaging and also in MR spectroscopy.

Keywords

Magnetic resonance imaging, magnetic resonance spectroscopy, MRS, MRI, contrast agents for ^{31}P MR

Obsah:

Obsah:	4
Seznam obrázků a tabulek	7
Seznam Zkratek	10
1 Teoretická část	12
1.1 Úvod:	12
1.2 Historie.....	13
1.3 Fyzikální princip	15
1.3.1 Chování spinového systému v magnetickém poli.....	15
1.3.2 Spin a precese	15
1.3.3 Detekce	15
1.3.4 Měřicí sekvence	16
1.3.4.1 Free induction decay	17
1.3.4.2 Spin echo.....	18
1.3.4.3 Fast spin echo.....	18
1.3.4.4 Gradient echo	19
1.3.4.5 Chemical shift imaging.....	19
1.3.5 Relaxace.....	19
1.3.5.1 T_1	20
1.3.5.2 T_2	21
1.3.5.3 Relaxometrie	22
1.3.6 Kontrast a vážení	23
1.3.7 Gradientní pole	24
1.4 Konstrukce MR přístroje	27
1.4.1 Magnet	27
1.4.2 RF cívky.....	27

1.5 Využití magnetické rezonance	28
1.5.1 MR zobrazování	28
1.5.2 MR spektroskopie	29
1.5.3 X-Nuclei	31
1.6 MR kontrastní látky	33
1.6.1 ^1H kontrastní látky	33
1.6.2 ^{31}P kontrastní látky	33
2 Praktická část	34
2.1 Metody	34
2.1.1 Metody měření	34
2.1.1.1 ^1H MRS relaxometrie	34
2.1.1.2 ^{31}P MRS relaxometrie	34
2.1.1.3 ^{31}P MRS SNR	35
2.1.1.4 ^{31}P MRI SNR	35
2.1.2 Fáze hodnocení pomocí nového nástroje	36
2.1.2.1 Načtení dat	36
2.1.2.2 Předzpracování dat	36
2.1.2.2.1 Zvýšení frekvenčního rozlišení	37
2.1.2.2.2 Odříznutí počátku	37
2.1.2.2.3 apodizace	38
2.1.2.3 Zpracování	40
2.1.2.4 Hodnocení	40
2.1.2.4.1 Výběr oblasti zájmu	40
2.1.2.4.2 Určení spektrální čáry	40
2.1.2.4.3 Analýza	40
2.1.3 Vzorky	41
2.1.3.1 Fáze 1	41

2.1.3.2 Fáze 2	44
2.1.3.3 Fáze 3	46
2.1.4 Vybavení	50
2.2 Měření	51
2.2.1 LW147	51
2.2.2 LA-212-1	53
2.2.3 LW147-PAMAM.....	56
2.2.4 LW154-CTP.....	59
2.2.5 IK-55	62
2.2.6 IK-61	65
2.2.7 LW-330	70
2.2.8 LW323-FeCl ₃	75
2.2.9 LW324-FeCl ₃	78
2.2.10 LW323-Fe ₂ O ₃ a LW324_Fe ₂ O ₃	79
2.3 Výsledky	79
3 Závěr	81

Seznam obrázků a tabulek

Obr. 1 Časová osa zachycující období 20. století, na níž jsou zdůrazněny důležité okamžiky historie magnetické rezonance	14
Obr. 2 Free induction decay	18
Obr. 3 Křivka T_1 relaxace s zaznačenou reprezentací T_1 relaxačního času	21
Obr. 4 Křivka T_2 relaxace se zaznačenou reprezentací T_2 relaxačního času	21
Obr. 5 Reprezentace rozdílu relaxační křivky T_2 a T_2^*	22
Obr. 6 Reprezentace reálné (plná čára) a imaginární (čerchovaná čára) složky signálu FID v časové doméně	30
Obr. 7 Reprezentace reálné (plná čára) a imaginární (čerchovaná čára) složky FID ve frekvenční doméně.....	30
Obr. 8a Reprezentace vlivu oříznutí počátku signálu – stav bez oříznutí	37
Obr. 8b Reprezentace vlivu oříznutí počátku signálu – stav po oříznutí.....	38
Obr. 9a Reprezentace vlivu aplikování apodizace – stav bez apodizace.....	39
Obr. 9b Reprezentace vlivu aplikování apodizace – stav po aplikování apodizace	39
Obr. 10 strukturní vzorec LW147	42
Obr. 11 strukturní vzorec LA-212-2	42
Obr. 12 strukturní vzorec LW147-PAMAM	43
Obr. 13 strukturní vzorec LW154-CTP	44
Obr. 14 strukturní vzorec IK-55.....	44
Obr. 15 Strukturní vzorec IK-61	45
Obr. 16 Strukturní vzorec LW330	46
Obr. 17 Strukturní vzorec LW323- FeCl_3	47
Obr. 18 strukturní vzorec LW324- FeCl_3	48
Obr. 19 strukturní vzorec LW323- $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	49
Obr. 20 strukturní vzorec LW324- $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	49
Obr. 21 Povrchová cívka použitá k měření.....	50
Obr. 22 Měření senzitivity cívky použité pro měření (200 ml 1M H_2O + K_2HPO_4).....	50

Obr. 23 výsledky MRS látky LW147	51
Obr. 24 výsledky MRI látky LW147	52
Obr. 25a T ₁ relaxační křivka látky LW147	53
Obr. 25b T ₂ relaxační křivka látky LW147	53
Obr. 26 výsledky MRS látky LW147	54
Obr. 27 výsledky MRI látky LA-212-1	55
Obr. 28a T ₁ relaxační křivka látky LA-212-1	56
Obr. 28b T ₂ relaxační křivka látky LA-212-1	56
Obr. 29 výsledky MRS látky LW147-PAMAM	57
Obr. 30 výsledky MRI látky LW147-PAMAM	58
Obr. 30a T ₁ relaxační křivka látky LW147-PAMAM	59
Obr. 30b T ₂ relaxační křivka látky LW147-PAMAM	59
Obr. 31 výsledky MRS látky LW154-CTP	60
Obr. 32 výsledky MRI látky LW154-CTP	61
Obr. 33a T ₁ relaxační křivka látky LW154-CTP	62
Obr. 33b T ₂ relaxační křivka látky LW154-CTP	62
Obr. 34 výsledky MRS látky IK-55	63
Obr. 35 výsledky MRI látky IK-55	64
Obr. 36a T ₁ relaxační křivka látky IK-55	65
Obr. 36b T ₂ relaxační křivka látky IK-55	65
Obr. 37a Výsledky MRS látky IK-61 pro 15° C	66
Obr. 37b Výsledky MRS látky IK-61 pro 37° C	67
Obr. 38 Výsledky MRI látky IK-61	68
Obr. 39a T ₁ křivka látky IK-61 pro teplotu 15° C	69
Obr. 39b T ₁ křivka látky IK-61 pro teplotu 37° C	69
Obr. 39c T ₂ křivka látky IK-61 pro teplotu 15° C	70
Obr. 39c T ₂ křivka látky IK-61 pro teplotu 37° C	70

Obr. 40 výsledky MRS látky LW330	71
Obr. 41 výsledky MRI látky LW330	72
Obr. 42a T ₁ křivka látky LW330	72
Obr. 42b T ₂ křivka látky LW330	73
Obr. 43 MRS měření látek LW347	73
Obr. 44 měření MRI látek LW347 a LW349 pomocí CSI	74
Obr. 45 ³¹ P měření RMSC buněk obsahujících látku LW347	75
Obr. 46 ³¹ P MRI pomocí CSI sekvence	75
Obr. 47 výsledky MRS látky LW323- FeCl ₃	76
Obr. 48 výsledky MRI látky LW323- FeCl ₃	77
Obr. 49 T ₂ křivka látky LW323- FeCl ₃	77
Obr. 50 výsledky MRS látky LW324- FeCl ₃	78
Obr. 51 výsledky MRI látky LW324- FeCl ₃	79
Tab. 1 Příklady intenzity signálu u různých tkání (6)	24
Tab. 2 Prvky používané pro MRI (7)	32
Tab. 3 výsledky MRS látky LW147	51
Tab. 4 výsledky MRS látky LW147	54
Tab. 5 výsledky MRS látky LW147	57
Tab. 6 výsledky MRS látky LW154-CTP	60
Tab. 7 výsledky MRS látky IK-55	63
Tab. 8 výsledky MRS látky IK-61 pro 15° C a 37° C	67
Tab. 9 výsledky MRS látky LW330	71
Tab. 9 výsledky MRS látky LW323- FeCl ₃	76
Tab. 10 výsledky MRS látky LW324- FeCl ₃	78

Seznam Zkratek

MR – Magnetická rezonance

MRI – zobrazování magnetickou rezonancí

MRS – MR spektroskopie

RF pulz – radiofrekvenční pulz

FID – free induction decay (signál volné precese)

ppm – parts per milion

TR – repetiční čas

TE – echo čas

T1 – časová konstanta spin-mřížkové relaxace

T2 – časová konstanta spin-spinové relaxace

T2* efektivní T2

CSI – chemical shift imaging (zobrazování pomocí chemického posunu)

MRSI – magnetic resonance spectroscopic imaging (zobrazování pomocí MR spektroskopie)

FE – frequency encoding

PE – phase encoding

A/D – analogově-digitální

D/A – digitálně-analogový

NMR – nukleární magnetická rezonance

CPMG – Carr-Purcell-Meiboom-Gill sekvence

SNR – signal to noise ratio (poměr signálu k šumu)

FFT – fast Fourier transform (rychlá furierova transformace)

LB – Line broadening factor

GUI – graphic user interface (grafické uživatelské rozhraní)

MPC – 2-methacryloyloxyethylphosphorylcholin

EEP – Ethyl-3-ethoxypropionát

PAMAM – polyamidoamin

DFA – deferoxamin

ROS – reactive oxygen species (reaktivní formy kyslíku)

1 Teoretická část

1.1 Úvod:

Magnetická rezonance je velmi důležitou součástí moderní medicíny, neboť umožňuje neinvazivně zobrazovat vnitřní struktury těla. Potřeba takovéto metody provází medicínu od jejího zrodu. Tato metoda se začala rozvíjet až v druhé polovině 20. století a do praktického využití se dostala až jeho koncem. Momentálně je jednou z nejdokonalejších metod zobrazování vnitřních struktur lidského organismu, a to především měkkých tkání.

Hlavní výhodou této neinvazivní metody, především oproti jiným anatomickým zobrazovačům pracujícím na principu pohlcování Roentgenova záření, je možnost kvalitního zobrazení měkkých tkání bez přítomnosti ionizujícího záření.

Oblast využití magnetické rezonance je velice široká. Využívá se jí v chemickém průmyslu i vědeckém výzkumu a ve zdravotnictví. Zde je využívána především k studiu patologií měkkých tkání a tumorů, je ale možné využít ji i ve specifitějších aplikacích. Např. existuje funkční magnetická rezonance, která v čase sleduje aktivitu mozku, nebo MR spektroskopie, která velmi kvalitně umožňuje sledovat chemické vlastnosti a tím i chemické složení. V klinické praxi je využívána kupříkladu ke sledování zastoupení jednotlivých metabolitů v mozku.

Výsledný obraz vzniká zpracováním odpovědí spinového systému na vyslané radiofrekvenční pulzy a je tvořen stupni šedi. hodnotu těchto stupňů šedi nelze určovat absolutně, nýbrž pouze relativně k ostatním tkáním. Kontrast MR zobrazení je velkou měrou dán chemickými vlastnostmi zkoumané tkáně. Proto je často užíváno tzv. kontrastních látek, které upravují tyto vlastnosti, a tím mění kontrast a zvýrazňují zkoumané struktury.

Přesto, že se v naprosté většině případů používá ^1H MR zobrazování, obzvláště v poslední době se objevují i zobrazování jiných jader, tzv. X-nuclei. Tato práce se bude konkrétně zabývat ^{31}P zobrazováním a příslušnými kontrastními látkami. Ve spolupráci s českou akademií věd byly vytvořeny nové polymerní kontrastní látky pro ^{31}P MR zobrazování. Předmětem této práce bude jejich testování z hlediska senzitivity, relaxometrie a dalších relevantních parametrů.

1.2 Historie

Z hlediska historie magnetické rezonance je třeba zmínit mnoho objevů. Za první z těchto objevů vedoucích k objevu magnetické rezonance lze označit objev spinu německým fyzikem Wolfgangem Paulim roku 1935. (obr. 1)

Za další a také velmi důležitý lze dozajista považovat objev jevu nukleární magnetické rezonance Isidorem Isaacem Rabim, (obr. 1) který se ve třicátých letech dvacátého století na univerzitě v Columbiu zabýval výzkumem v Molecular beam laboratory. Za objev nukleární magnetické rezonance získal roku 1944 Nobelovu cenu.

Jednou z velice důležitých součástí magnetické rezonance jsou supravodivé magnety. Jev supravodivosti je znám již od desátých let dvacátého století, avšak magnetické vlastnosti supravodičů objevili až roku 1934 němečtí fyzikové Walther Meissner a Robert Ochsenfeld. (obr. 1) Supravodivé magnety jsou pro magnetickou rezonanci vhodné především díky schopnosti generovat velmi silné magnetické pole a také díky minimální energetické náročnosti.

Dále roku 1950 byla americkým fyzikem Erwinem Hahnem objevena Spinová echa a tzv. Free induction decay. (obr. 1)

Roku 1960 sovětský vědec Vladislav Ivanov představil první techniku snímání magnetickou rezonancí (obr. 1), avšak jeho žádost o patent byla přijata až roku 1984.

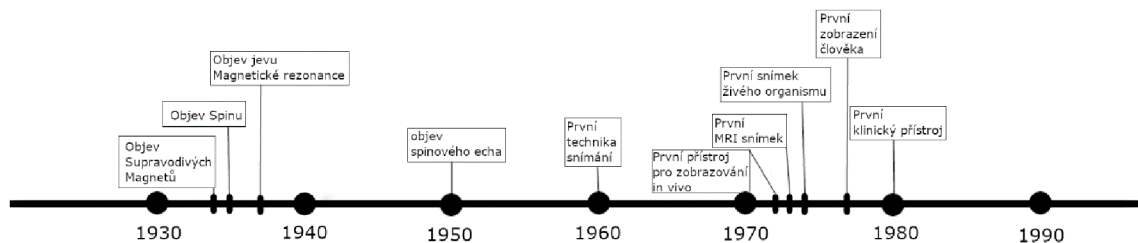
Roku 1971 publikoval Americký vědec Raymod Damadian, toho času pracující na New-Yorské univerzitě, článek, v němž představil možnost *in-vivo* zobrazování tumorů pomocí magnetické rezonance, a roku 1972 sestrojil přístroj magnetické rezonance (MR) zaměřený na zobrazování rakovinné tkáně (obr. 1), roku 1974 mu byl na tento přístroj udělen patent.

Počátkem sedmdesátých let dvacátého století se Američan Paul Lauterbur zabýval možnostmi zpracování signálů ze zobrazování magnetickou rezonancí (MRI) a vytváření obrazového výstupu. První MRI snímek vytvořil roku 1973 a roku 1974 zobrazil první živý organismus (obr. 1), konkrétně se jednalo o myš. 3. července 1977 provedli Raymond Damadian, Larry Minkoff a Michael Goldsmith první celotělové zobrazení člověka.

Do klinické praxe uvedl magnetickou rezonanci tým profesora Johna Mallarda, který koncem sedmdesátých let dvacátého století sestavil první přístroj pro celotělové

zobrazení (obr. 1), a 28. srpna 1980 pomocí tohoto přístroje získali první klinicky významný snímek vnitřních struktur těla lidského pacienta. Jejich přístroj se později přesunul do St. Bartholomew's Hospital, kde byl užíván do roku 1993. (1)

Nejčastěji jsou v klinické praxi využívány přístroje o velikosti magnetické indukce 1,5T, o něco méně potom 3T, v malé míře se využívají i slabší pole. Vyšší hodnoty magnetické indukce se v klinické praxi téměř nevyskytují, je však třeba zmínit přístroje experimentální, které s takovými hodnotami pracují. Protože jsou tyto přístroje schopny pracovat se silnějším polem, jsou také schopny poskytovat lepší SNR. Další jejich nespornou výhodou je možnost plného přizpůsobení parametrů snímací sekvence. Mezi nejvýznamnější výrobce přístrojů magnetické rezonance patří Bruker, Siemens Healthcare, GE healthcare, Philips Healthcare,... (2)



Obr. 1 Časová osa zachycující období 20. století, na níž jsou zdůrazněny důležité okamžiky historie magnetické rezonance

1.3 Fyzikální princip

1.3.1 Chování spinového systému v magnetickém poli

Jev magnetické rezonance je zapříčiněn interakcemi atomových jader. Jádra atomů s nenulovým jaderným spinem se chovají jako magnetické dipóly. Je-li zobrazovaný objekt umístěn do silného vnějšího magnetického pole B_0 . Rotační osy atomových jader se uspořádají rovnoběžně se siločarami vnějšího magnetického pole. Jejich magnetický moment může být orientován buď souhlasně s vektorem vnějšího magnetického pole (paralelně), tedy ve stavu s nižší energií, nebo otočený o 180° (antiparalelně), přičemž antiparalelní uspořádání je energeticky náročnější, takto uspořádaných atomů je tedy vždy méně než polovina. (3) (4)

1.3.2 Spin a precese

Jádra v magnetickém poli vykazují spin, který představuje rotační pohyb částice kolem své osy. Kromě toho vykonávají takzvaný precesní pohyb, kdy magnetický moment opisuje v důsledku působení vnějšího magnetického pole kuželovou plochu. Frekvence tohoto pohybu se nazývá Larmorova frekvence, (5) je pro každý prvek charakteristická a je dána vztahem:

$$f_0 = \frac{1}{2 \cdot \pi} \cdot \gamma \cdot B_0 \quad \text{Rovnice 1}$$

Kde f_0 je Larmorova frekvence, γ gyromagnetický poměr a B_0 velikost vnějšího magnetického pole.

Gyromagnetický poměr je dán poměrem magnetického momentu a momentu hybnosti částice, je tedy nepřímo úměrný její hmotnosti. Pro každou částici je konstantní, pro jádro vodíku nabývá hodnoty $42,57 \cdot 10^6$ MHz/T.

Částice tento precesní pohyb vykonávají v různých fázích, jejich vliv na výsledný vektor magnetizace se tím vyruší, a vektor magnetizace má tedy stejný směr jako vektor vnějšího magnetického pole.

1.3.3 Detekce

K popisu spinového systému použijeme jeho celkový magnetický moment \vec{M} . Chování tohoto vektoru v magnetickém poli \vec{B} je popsáno rovnicí:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{B} \quad \text{Rovnice 2}$$

Provedeme-li řešení v rotujícím systému souřadnic a aplikujeme na základní pole B_0 ž radiofrekvenční pole

$$B_1(t) = B_1(\vec{x}\cos\omega_z t - \vec{y}\sin\omega_z t) \quad \text{Rovnice 3}$$

Transformuje se rovnice v systému rotujícím podle osy z s frekvencí ω_z na:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{M} \times [\vec{z}'(\gamma B_0 - \omega_z) + \vec{x}'\gamma B_1] \quad \text{Rovnice 4}$$

Je-li splněna rezonanční podmínka $\omega_z = \gamma B_0$, vyvíjí se vektor magnetizace \vec{M} pouze vlivem pole B_1 . Je-li pole B_1 aplikováno pouze po určitou dobu τ , bude po jeho vypnutí stav systému následující:

$$\vec{M} = (0, M_0 \sin\varphi, M_0 \cos\varphi) \quad \text{Rovnice 5}$$

Kde

$$\varphi = \gamma B_1 \tau \quad \text{Rovnice 6}$$

Veličina φ se nazývá sklápěcí úhel.

Koncový bod vektoru magnetizace \vec{M} v tomto případě opsal oblouk úhlové délky φ okolo osy x. (6)

1.3.4 Měřící sekvence

Existuje několik možných měřících sekvencí, které se liší principem jejich provedení.

1.3.4.1 Free induction decay

Je-li aplikován excitační RF pulz, tento pulz sklápí spinový systém do transverzální roviny, důsledkem čehož vzniká detekovatelný signál volné precese FID, který má podobu sinusové vlny kmitající s frekvencí rovnou frekvenci Larmorově, jejíž amplituda s časem exponenciálně klesá po křivce T_2^* (obr. 2). sekvence RF pulzů se opakují a jejich perioda se nazývá repetiční čas (TR). FID je základním zdrojem dat pro MR spektroskopii. Průběh FID je popsán vztahem:

$$FID(t) = a \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_2^*}\right) \exp[i(\omega t + \phi)] \quad \text{Rovnice 7}$$

Kde a je konstanta úměrná počtu jader, ω rezonanční frekvence a ϕ počáteční fáze signálu.

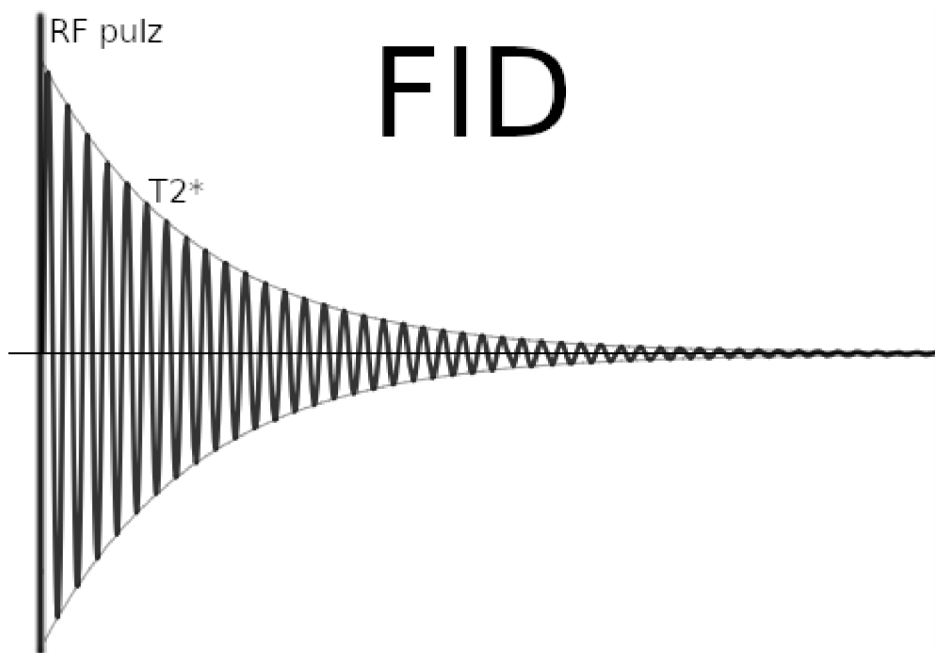
Rezonanční frekvence jader atomu se spinem vázaných v molekulách je ovlivněna charakterem jejich chemické vazby a typem sousedních atomů.

$$\omega = \gamma B_0(1 - \sigma) \quad \text{Rovnice 8}$$

Kde tyto výše uvedené skutečnosti jsou zahrnuty v proměnné σ .

Základním rozlišovacím faktorem v MR spektroskopii je chemický posun δ , který popisuje tuto změnu rezonanční frekvence oproti základní Larmorově frekvenci. Protože rezonanční frekvence je závislá na intenzitě magnetického pole, nebylo by vhodné udávat chemický posun v absolutních jednotkách frekvence. Proto je udáván v relativních jednotkách ppm (parts per million), čímž je zaručena jeho všestranná interpretovatelnost. Chemický posun je dán vztahem:

$$\delta = \frac{\omega - \omega_{ref}}{\omega_{ref}} \cdot 10^6 \text{ ppm} \quad \text{Rovnice 9}$$



Obr. 2 Free induction decay

1.3.4.2 Spin echo

Informace o spinovém systému není vlivy T_2 zcela ztracena, pouze není kvůli ztrátě fázové koherence detekovatelná. Tento proces lze však zvrátit jejich sfázováním.

Proto je-li po 90stupňovém RF pulzu aplikován další 180stupňový RF puls (tzv. refokusační), atomy s rychlejší precesí mají vyšší fázové zpoždění, a tedy po době rovné dvojnásobku intervalu mezi excitačním a refokusačním pulzem dojde k opětovnému sfázování jader a objeví se tzv. Spin echo, které je možno detekovat. Tento čas mezi prvním pulzem a echem se nazývá echo čas (TE). Sekvence Spin echo je velmi výhodná, neboť dokáže účinně potlačit vlivy T_2^* . (7)

1.3.4.3 Fast spin echo

Sekvence spin echo umožňuje získávat MR zobrazení s vysokým SNR, její nevýhodou je však vysoká délka měření. Pro spin echo sekvence je zpravidla používán 90° sklápěcí úhel, je tedy třeba poměrně dlouhý relaxační čas TR, aby bylo zaručeno že systém bude před další excitací plně zrelaxovaný. Spin echo sekvence proto obsahují poměrně dlouhou oblast nečinnosti. Jedním z řešení tohoto problému je využití tzv. Fast spin echo sekvence, která využívá právě těch nečinných oblastí. Po opětovné ztrátě fázové koherence systému po vygenerování spinového echa je možné vyslat další 180stupňový

refokusační pulz a sledovat vznik dalšího echa. Toto nám umožní velmi výrazně zkrátit dobu měření. (7)

1.3.4.4 Gradient echo

K prostorovému kódování výstupu slouží 3 gradientní magnetická pole. Je-li aplikováno externí gradientní magnetické pole, to urychlí ztrátu fázové koherence jader, a tím výrazně urychlí pokles amplitudy FID, tedy ztrátu signálu. Je-li však poté aplikováno totéž pole s opačnou polaritou, dochází k návratu fázové koherence a vzniká tzv. Gradient echo.

Pro tyto sekvence je typický nízký sklápěcí úhel, což umožní snížení parametrů TR a TE a tím umožní snížení času měření.

Tyto sekvence jsou kvůli absenci 180° refokusačního pulzu velmi náchylné ke změnám signálu způsobeným nehomogenitami magnetického pole, pokles signálu je tedy popsán křivkou T_2^* . (7) (8)

1.3.4.5 Chemical shift imaging

V některých případech, obzvláště v případě zobrazování X-nuclei, nemusí standardní zobrazovací sekvence poskytovat dostatek signálu pro hodnocení dostatečné. Jedním z možných řešení tohoto problému je užití lokalizovaných spektroskopických sekvencí chemical shift imaging (CSI), také označovaných jako magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI). Tato metoda využívá spektroskopického měření v omezené oblasti (voxelu). Toto měření je provedeno pro matici voxelů a spektra mohou poté být zobrazena v trojrozměrném prostoru. (9)

1.3.5 Relaxace

Relaxační časy zásadním způsobem ovlivňují MR signál který se získává vychýlením vektoru magnetizace.

Proces návratu systému do rovnováhy se nazývá relaxace. Tyto relaxace jsou popsány pomocí Blochových rovnic, kde je zahrnuto také okolí systému. (10)

$$\frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_x \quad \text{Rovnice 10}$$

$$\frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_y \quad \text{Rovnice 11}$$

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_z \quad \text{Rovnice 12}$$

Z rovnic vyplývá, že rozlišujeme 2 druhy relaxací. T_1 a T_2 .

Mechanismem, který nejzásadněji ovlivňuje kontrast na MR zobrazení, jsou právě relaxační procesy. Vyšší rozdíl v relaxačních časech sousedních tkání generuje vyšší kontrast mezi těmito tkáněmi.

1.3.5.1 T_1

Relaxace T_1 se nazývá spin-mřížková relaxace a zohledňuje především ustanovení rovnováhy mezi spinovým systémem a mřížkou, tedy vstřebání navracejícími se protony vyzařené energie okolními atomy. Je citlivá na velikosti a koncentraci jader, chemických vazbách a teplotě. Velikost T_1 relaxace je přímo úměrná velikosti vnějšího magnetického pole.

Po skončení radiofrekvenčního (RF) impulzu se vektor celkové magnetizace vrací do své původní podoby ve směru osy Z. Nárůst velikosti vektoru magnetizace ve směru osy Z lze znázornit exponenciální křivkou, zvanou T_1 křivka. (obr. 3) Čas, za který nabyde vektor magnetizace 63% své původní velikosti ve směru Z, je nazýván T_1 konstantou. Ta je závislá na složení tkáně a velikosti magnetického pole. (11)

Průběh T_1 relaxace lze popsat rovnicí:

$$M_z = M_0 \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}\right) \quad \text{Rovnice 13}$$

kde M_z je velikost vektoru magnetizace v ose Z, M_0 jeho původní maximální velikost, t je časová proměnná a T_1 je T_1 konstanta.



Obr. 3 Křivka T_1 relaxace s označenou reprezentací T_1 relaxačního času

1.3.5.2 T_2

Průběh T_2 relaxace lze popsat rovnicí:

$$M_{xy} = M_0 \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \quad \text{Rovnice 14}$$

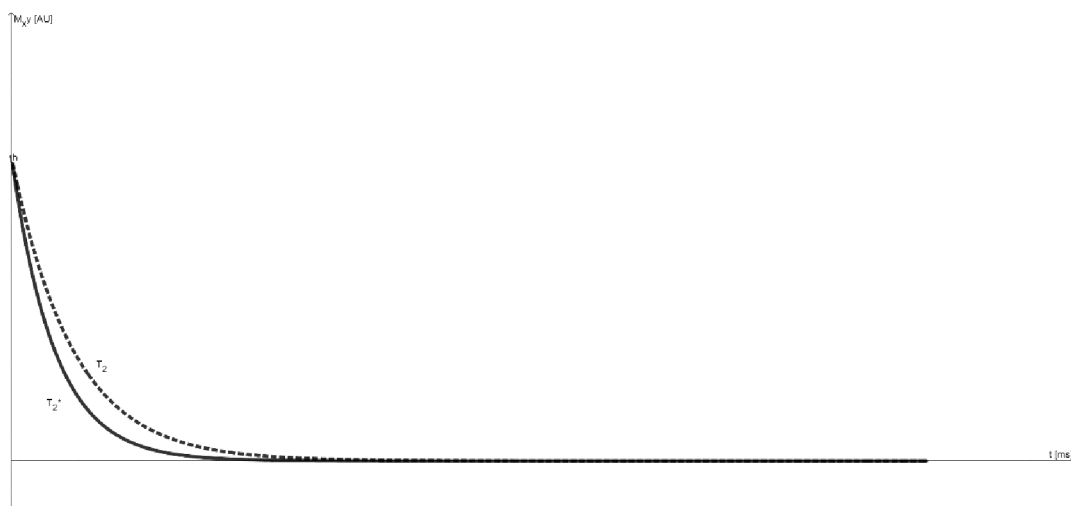
kde M_{xy} je velikost vektoru magnetizace v rovině xy , M_0 jeho původní maximální velikost, t je časová proměnná a T_2 je T_2 konstanta. (obr. 4)



Obr. 4 Křivka T_2 relaxace se označenou reprezentací T_2 relaxačního času

Relaxace T_2 se nazývá spin-spinová relaxace a zohledňuje především ztrátu fázové koherence uvnitř spinového systému. Přispívají k ní lokální nehomogenity magnetického pole ΔB . Tyto nehomogenity mohou být dvojího druhu:

1. Částice vytváří kolem sebe vlastní magnetické pole B_e , čímž ovlivňuje částice ve svém okolí
2. Magnetické pole B_0 je nehomogenní. V tomto případě je relaxace namísto T_2 popsána křivkou T_2^* , jejíž pokles je zpravidla kratší než T_2 , v ideálním případě může být nejvýše stejný. (obr. 5)



Obr. 5 Reprezentace rozdílu relaxační křivky T_2 a T_2^*

T_2 je z pravidla několikrát menší než T_1 , a také n rozdíl od T_1 relaxace téměř není závislá na velikosti vnějšího magnetického pole.

Zároveň se skončením RF impulzu přestanou být fáze precedujících atomů synchronizovány a tím také zaniká příčná složka vektoru magnetizace, tedy složky x a y. Závislost velikosti příčné složky vektoru magnetizace je popsána T_2 křivkou, konstanta T_2 udává čas, za který poklesne velikost příčné složky vektoru magnetizace na 37% svého maxima.

1.3.5.3 Relaxometrie

Relaxace jsou velmi důležitou vlastností každé látky. Nejen že určují míry kontrastu v MR zobrazení, i samy podávají o látce důležité informace. Proto je metoda zvaná relaxometrie základem charakterizace látek užívaných jako kontrastní látky pro magnetickou rezonanci.

Metoda spočívá v měření zkoumané látky s rozdílnými parametry TR a TE. Když jsou získány série měření, po vynesení do grafu lze tyto série proložit křivkami popsány rovnicemi a následně z parametrů křivek zjistit T_1 a T_2 konstanty.

Pro T_1 relaxometrii je užívána metoda zvaná Saturation recovery. Postupně je změřena série měření, kdy se TR mění od velmi nízkých hodnot, až na ideálně pětinasobek očekávaného T_1 relaxačního času. Podstata měření spočívá v tom, že při krátkých TR není spinový systém plně zrelaxovaný a tudíž i energie indukovaná následkem změny vektoru magnetizace je nižší, tedy je nižší i intenzita měřeného signálu.

Přestože křivka T_2 v ideálním případě popisuje pokles FID signálu a lze v tomto případě tuto přímo z FID odečíst, v reálné praxi je to důsledkem vlivu T_2^* podstatně složitější. Ztráta fázové koherence a tedy i vektoru magnetizace v příčné rovině a pokles FID signálu je podstatně rychlejší. K měření T_2 relaxačních křivek se proto používá multi-spin echo sekvencí. Tato sekvence sestává z jednoho 90stupňového pulzu, který je následován 180stupňovým refokusačním pulzem. Jako v případě spin echo sekvence. Následně jsou aplikovány další refokusační pulzy, které produkují další spinová echa. Maximální intenzita těchto ech kopíruje křivku T_2 . (11)

1.3.6 Kontrast a vážení

Výsledný kontrast je velice závislý na vstupních parametrech sekvence, obecně však lze uvést příklady tkání produkujících více signálu, tedy na snímku zobrazených světlejší barvou, a naopak tkání produkujících méně signálu, tedy zobrazených tmavou barvou. Pevné tkáně s krystalickou mřížkou (kosti, zuby...) produkují málo signálu a nejsou na snímcích patrné. Měkké tkáně a tělní (játra, mozek, krev...) produkují dostatečný signál pro detekci a proto a je možné je snáze zobrazit. Kontrast mezi tkáněmi je možné zvýšit optimalizací parametrů měření v závislosti na relaxačních časech vzorku. Tato technika se nazývá vážení podle relaxačních časů. (12) (13)(Tab. 1)

Tab. 1 Příklady intenzity signálu u různých tkání (14)

Intenzita signálu	T ₁ vážený	T ₂ vážený
Vysoký signál	Tuk, paramagnetické materiály,	Methhemoglobin, zvýšené množství vody (př.:otok)
Nízký signál	Kost, moč, mozkomíšní mok, vzduch	Kost, tuk, paramagnetické materiály

1.3.7 Gradientní pole

Chceme-li provádět lokalizovaná měření, je třeba produkovaný signál prostorově kódovat. K tomu slouží tzv. gradientní pole. Tato jsou produkována gradientními cívkami a deformují statické magnetické pole B_0 tak, že to je funkcí polohy. Prvním z nich je slice selection gradient.

$$B_x = B_0 + x \cdot G_x \quad \text{Rovnice 15}$$

kde B_x značí sílu magnetického pole v poloze x , B_0 značí původní statické magnetické pole, G_x sílu gradientního magnetického pole ve směru osy X .

Tato deformace způsobí mírnou změnu Larmorovy frekvence ovlivněných jader. Rozložení těchto frekvencí odpovídá vztahu:

$$\omega(x) = \gamma B(x) = \omega_0 + \Delta\omega(x) \quad \text{Rovnice 16}$$

kde

$$\Delta\omega(x) = \gamma \cdot x \cdot B_x \quad \text{Rovnice 17}$$

kde f_x je Larmorovou frekvencí v poloze x , γ gyromagnetickým poměrem, a B_x magnetickým polem v poloze x .

Jsme-li schopni v intervalu frekvencí splnit rezonanční podmínku, pochází detekovaný signál z vrstvy kolmé na osu x o tloušťce Δx odpovídající vztahu:

$$\Delta x = \frac{\Delta\omega}{\gamma G_x} \quad \text{Rovnice 18}$$

Předpokládáme-li nehomogenní rozložení rezonujících částic podle osy x , přechází konstanta a na funkci $a(x)$. Měřený signál je tedy za předpokladu nulového fázového posunu dán vztahem

$$s(t) = \int_{-\infty}^{\infty} a(x) \cdot \exp(-at) \cdot \exp[i(\omega_0 + \Delta\omega(x))t] dx \quad \text{Rovnice 19}$$

Jednotlivé frekvence ω jsou v signálu zastoupeny s vahou $a(x)$. Tento princip se nazývá frequency encoding (FE) gradient.

Pokud je gradient aplikován pouze po určitou dobu τ , získávají během této doby dílčí magnetické momenty různý fázový posuv v závislosti na jejich poloze. Tento princip se nazývá phase encoding (PE) gradient

Za předpokladu, že

(3)

$$\Delta\omega(x)\tau = \gamma G_x x \tau \quad \text{Rovnice 20}$$

Můžeme označit

$$\frac{\gamma G_x \tau}{2\pi} = k_x \quad \text{Rovnice 21}$$

Celkový signál v tomto případě odpovídá vztahu

$$S(x, t) = \int_{-\infty}^{\infty} s(x, t) \exp(i2\pi k_x x) dx \quad \text{Rovnice 22}$$

kde aplikací inverzní Fourierovy transformace získáme dílčí příspěvek $s(x, t)$

$$s(x, t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} S(x, t) \exp(i2\pi k_x x) dk_x \quad \text{Rovnice 23}$$

Volíme-li postupně různou maximální hodnotu gradientu G_x , jsme schopni měřit závislost signálu $S(x, t)$ na proměnné k_x . Data jsou tímto postupem ukládána do k -prostoru, ze kterého je možné provedením inverzní Fourierovy transformace rekonstruovat obraz.

Tato gradientní magnetická pole tvořená gradientními cívkami jsou tvořena tak, že jsou k sobě navzájem kolmá, kódují tedy signál ve všech rovinách X, Y a Z.

(15)

1.4 Konstrukce MR přístroje

1.4.1 Magnet

Nejvýraznější součástí magnetické rezonance je hlavní magnet, který generuje hlavní magnetické pole. V malé míře se používají magnety permanentní, které nepotřebují k vytvoření magnetického pole žádných vnějších vlivů. Nejsou však schopny generovat magnetické pole o síle větší než 0,3T, proto se ve většině případů používá elektromagnetů ze supravodivých materiálů. Tyto materiály při zchlazení na teploty blízké se absolutní nule (16) vykazují velmi nízký odpor, proto je možné za pomoci supravodivých magnetů generovat velmi silná magnetická pole, což zajišťuje velice vysokou rozlišovací schopnost. V samotném těle přístroje jsou navíc přítomny 3 tzv. gradientní magnety, které produkují magnetická pole proměnlivá podle os x, y a z. Tato pole se skládají společně s magnetickým polem hlavního magnetu a tvoří tak vnější magnetické pole B_0 .

1.4.2 RF cívky

Další důležitou součástí jsou rezonanční obvody zvané radiofrekvenční cívky. Ty vysílají a také přijímají radiofrekvenční vlny. Cívky se dělí na několik typů podle principu jejich funkce a činnosti. K předání energie protonu a jejímu následnému zpětnému vyzáření a detekci dochází pouze, je-li frekvence vlnění shodná s Larmorovou frekvencí zkoumané látky.

Radiofrekvenční cívky se dělí na 2 druhy. Mohou to být buď cívky objemové, nebo cívky povrchové. Objemové cívky jsou umístěny po celém obvodu gantry. Zpravidla jsou schopné radiofrekvenční signál zároveň vysílat i přijímat. U většiny klinických přístrojů jsou přímo součástí gantry. Oproti tomu cívky povrchové jsou i u klinických přístrojů radiofrekvenční cívky samostatné. Dle typu vyšetření mají povrchové cívky různé tvary i velikosti. Díky umístění v těsné blízkosti zkoumaného objektu produkují lepší signál a méně šumu. Oproti tomu jsou schopny zabrat pouze malou oblast a nepronikají do hloubky.

MR cívka je tvořena rezonančním obvodem, který se skládá ze samotného závitů cívky a kapacitorů.

Cívkou je třeba konstruovat specificky pro očekávanou aplikaci. Je třeba brát v úvahu sledované jádro, tedy cílenou rezonanční frekvenci, požadovanou citlivost a také

očekávanou velikost měřeného vzorku. Podle těchto parametrů je určena velikost smyčky, určena její indukčnost a následně podle Thomsonova vztahu

$$f = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \quad \text{Rovnice 24}$$

dopočtena kapacita kondenzátorů.

Protože je třeba kompenzovat nehomogenity magnetického pole způsobené přítomností měřeného objektu, jsou použity kapacitory s měnitelnou hodnotou kapacity.

1.5 Využití magnetické rezonance

Magnetická rezonance je využívána v mnoha oblastech napříč celou škálou lidské činnosti. Těmito oblastmi jsou chemický průmysl, zdravotnictví, v neposlední řadě také vědecká činnost.

Ve zdravotnictví je magnetická rezonance užívána k zobrazování všech druhů měkkých tkání. K anatomickému zobrazování těchto tkání je magnetická rezonance nejvhodnější metodou. (17)

Magnetická rezonance není užívána pouze v klinické praxi, jejím důležitým využitím je výzkum. Zobrazování magnetickou rezonancí hraje velmi významnou roli ve vývoji léčiv, a to v několika jeho fázích. V preklinické fázi může být užito k pozorování odpovědi na aplikaci léčiva v časové závislosti v rámci jednoho výzkumného subjektu, nebo lze pozorováním distribuce v organismu určit dávkování léčiva. V klinické fázi je MR zobrazování užíváno k ověření účinku léčiva a optimalizaci správného dávkování pro člověka. (18)

1.5.1 MR zobrazování

MR zobrazení je technikou kdy výstupem jsou obrazová data. Nejčastějším využitím magnetické rezonance jsou statická vyšetření měkkých tkání (např. mozek). V menší míře je za použití krátkých snímacích sekvencí užíváno například i pro angiografii, nebo funkční zobrazování. Speciální metodou zobrazování je Chemical Shift Imaging (CSI),

jehož podstatou je náběr spektroskopických dat v několika omezených objemech, z nichž je následně složena matice. Díky tomuto spektroskopickému zobrazení je možné sledovat např. rozložení určitých metabolitů v mozku.

1.5.2 MR spektroskopie

I když je možné získat informace i z fitování v časové oblasti, kdy pokles FID signálu je popsán křivkou T_2^* , je výhodnější provést nad signálem Fourierovu transformaci, tedy převést FID signál na jeho magnitudové spektrum.

$$S(\omega') = \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \exp(-i\omega't) dt \quad \text{Rovnice 25}$$

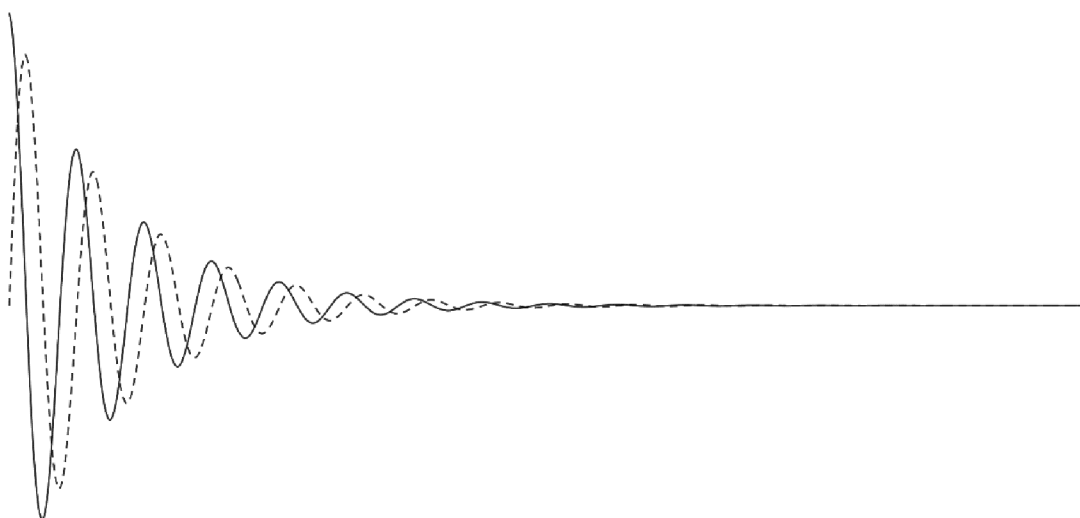
Pokud uvažujeme nulovou počáteční fázi, získáme spektrum FID signálu jako

$$\begin{aligned} S(\omega') &= \int_0^{\infty} a \cdot \exp\{-\alpha + i(\omega - \omega')t\} dt = \left| \frac{a \cdot \exp\{-\alpha + i(\omega - \omega')t\}}{-\alpha + i(\omega - \omega')} \right|_0^{\infty} = \\ &= \frac{a}{-\alpha + i(\omega - \omega')} = R(\omega') + i \cdot I(\omega') \end{aligned} \quad \text{Rovnice 26}$$

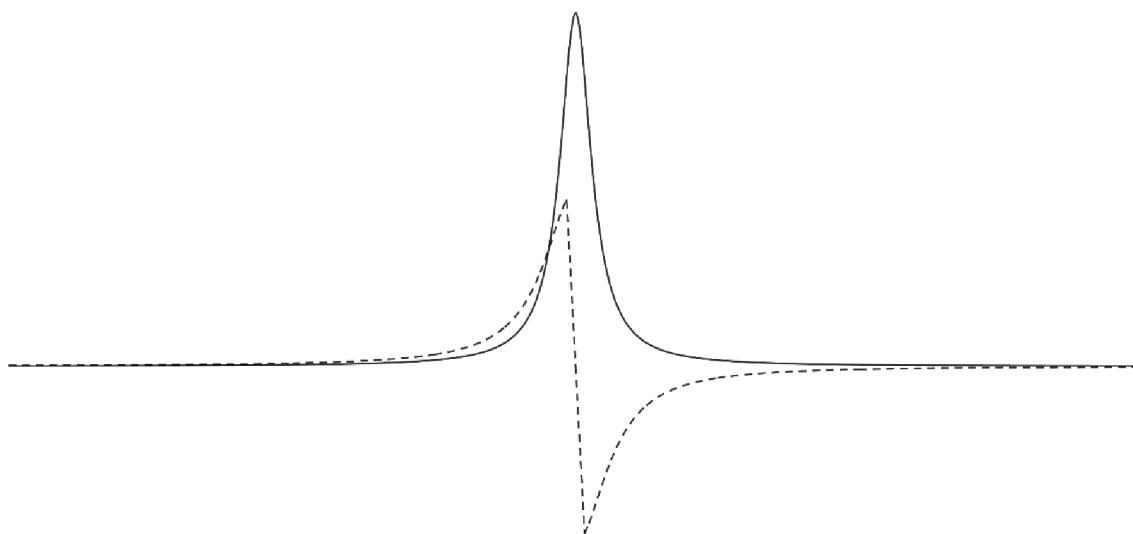
a

$$R(\omega') = \frac{a}{\alpha} \frac{1}{1 + \left(\frac{\omega - \omega'}{\alpha}\right)^2} \quad a \quad I(\omega') = \frac{a}{\alpha} \frac{\frac{\omega - \omega'}{\alpha}}{1 + \left(\frac{\omega - \omega'}{\alpha}\right)^2} \quad \text{Rovnice 27}$$

Kde $R(\omega')$ a $I(\omega')$ jsou reálná a imaginární složka Lorentzovy křivky. (obr. 6 a 7)



Obr. 6 Reprezentace reálné (plná čára) a imaginární (čerchovaná čára) složky signálu FID v časové doméně



Obr. 7 Reprezentace reálné (plná čára) a imaginární (čerchovaná čára) složky FID ve frekvenční doméně

Pro hodnocení je výhodné použít především reálnou část, která popisuje závislost systémem absorbované energie.

Pokud spočítáme plochu pod křivkou reálné složky

$$\int_{-\infty}^{\infty} R(\omega') d\omega' = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{a}{\alpha} \frac{1}{1 + \left(\frac{\omega - \omega'}{\alpha}\right)^2} = \int_{-\infty}^{\infty} a \frac{dx}{1 + x^2} = a\pi \quad \text{Rovnice 28}$$

můžeme získat informaci o počtu jader vyjádřeném parametrem a a z něj následně vypočítat koncentraci.

V praxi však nelze měřit signál na nekonečném intervalu a nelze také zanedbat počáteční fázi signálu. Proto se tvar spektrální čáry mění:

$$\begin{aligned}
 S(\omega') &= \int_{t_1}^{t_2} a \cdot \exp(i\phi) \cdot \exp\{-\alpha + i(\omega - \omega')t\} dt = \\
 &= a \cdot \exp(i\phi) \cdot \left. \frac{a \cdot \exp\{-\alpha + i(\omega - \omega')t\}}{-\alpha + i(\omega - \omega')} \right|_{t_1}^{t_2} = \\
 &= a \cdot \exp(i\phi) \frac{\exp\{-\alpha + i(\omega - \omega')t_2\} - \exp\{-\alpha + i(\omega - \omega')t_1\}}{-\alpha + i(\omega - \omega')}
 \end{aligned}
 \tag{Rovnice 29}$$

Proto je velmi důležitou možností vyšetření magnetickou rezonancí také MR spektroskopie, ta se v klinické praxi využívá k diagnostice různých onemocnění, např. neurologických, psychiatrických, nebo onkologických. Její princip spočívá v měření NMR spektra. Tato metoda je ve své podstatě totožná s chemickým pojetím NMR. Rozdílem oproti NMR je možnost použití gradientních polí a tedy možnost provádět mimo klasické nelokalizované MRS také lokalizovanou, kdy je náběr spektra omezen jen na určitou oblast v prostoru. Tato metoda je využitelná i v chemické praxi pro sledování koncentrací určitých chemických látek a jejich poměrů v organismu. Nejčastější klinickou aplikací je sledování koncentrací metabolitů v mozku. (19)

1.5.3 X-Nuclei

Zatímco ve většině případů se v klinické praxi využívá ^1H MR zobrazování a spektroskopie, je možné excitovat i jiná jádra s nenulovým jaderným spinem, čímž je možné získávat o sledovaném systému další informace. Metody měření X- Nuclei vyžadují určité hardwarové změny, s nimiž se pojí i ekonomická náročnost. Vzhledem k tomu jsou stále ještě rozšířenější v experimentální praxi, i když do klinické praxe v některých případech pronikají. (20)

Tab. 2 Prvky používané pro MRI (21)

Prvek	Spin	Gyromagnetický poměr [MHz/T]	Relativní senzitivita []
^1H	$1/2$	42,58	1,000
^3He	$1/2$	32,43	0,442
^{13}C	$1/2$	10,71	0,016
^{19}F	$1/2$	40,06	0,833
^{23}Na	$3/2$	11,26	0,083
^{31}P	$1/2$	17,24	0,066
^{129}Xe	$1/2$	11,78	0,021

Nejdůležitějšími parametry jsou při volbě jádra jeho gyromagnetický poměr, který udává jeho rezonanční Larmorovu frekvenci a dále žádaná aplikace. (tab. 2)

Jedním z nejpoužívanějších jader je jádro fluoru. Z tabulky výše je zřejmé, že gyromagnetický poměr jader ^{19}F je velmi podobný jádru ^1H , je tedy velmi podobná i rezonanční frekvence. Vzhledem k tomuto faktu jsou hardwarové změny nutné pro měření ^{19}F jader minimální. Je dokonce možné vytvořit bimodální cívku, která umožňuje zobrazovat ^1H a pouhým přeladěním i ^{19}F jádra. Další výhodou jader ^{19}F je jejich stopová přítomnost v organismu, jsou proto ideální např. ke značení léčiv, kdy ^{19}F signál vždy zaručeně pochází z označeného léčiva.

Dalším často užívaným jádrem je fosfor. Gyromagnetický poměr jádra ^{31}P je oproti jádru vodíku více než 2x menší, je zde již třeba změn v konstrukci cívek, kdy pro ^{31}P musí již být vytvořen dedikovaný rezonanční obvod, a dále je třeba jiných filtrů, zesilovačů i A/D převodníku. Využití jader ^{31}P je však velmi výhodné, protože ^{31}P MRI/MRS je možné sledovat a hodnotit např. svalovou aktivitu, nebo intracelulární hodnoty pH. (22) (23) (24)

1.6 MR kontrastní látky

Nativní MR zobrazování sice poskytuje kvalitní informaci, pro některé aplikace je však třeba užít kontrastních látek. Tyto látky interagují s tkání a upravují její relaxační časy. Tímto zvyšují kontrast na MR zobrazení i MR spektroskopii.

1.6.1 ^1H kontrastní látky

Většina kontrastních látek pro ^1H MRI je zpravidla založena na základě chelátových komplexů silně paramagnetických iontů, nejčastěji ze skupiny lanthanoidů. Nejpoužívanějším příkladem takové látky je GADOVIST, jehož základem je Gadolinium. Tyto paramagnetické částice výrazně deformují magnetické pole ve svém okolí, čímž v tomto okolí výrazně zkracují relaxační časy jader vodíku a tím zvyšují kontrast MR zobrazování. Užití těchto kontrastních látek je problematické ze zdravotního hlediska, neboť gadoliniové částice se usazují v mozku a také poškozují funkci ledvin.

Další skupinou ^1H kontrastních látek jsou látky obsahující železo, které oproti gadovistu produkují tzv. negativní kontrast a jsou označovány jako T_2 kontrastní látky. Tyto látky výrazně zkracují T_2 relaxační časy, čímž eliminují signál z dané oblasti a na výsledném obrazu se toto projeví jako výrazně hypointenzní oblast. (25) (26)

1.6.2 ^{31}P kontrastní látky

Použití výše zmiňovaných paramagnetických kontrastních látek však není pro ^{31}P MRI/MRS vhodné, neboť interakce nepárových elektronů paramagnetických částic s jádrem ^{31}P může vést k potlačení užitečného signálu. Pro ^{31}P kontrastní látky je tedy výhodné použít jiných principů účinku.

Jedním z těchto principů je zvýšení koncentrace ^{31}P atomů ve sledované oblasti. Problémem tohoto přístupu je však odlišení atomů fosforu obsažených v organismu a těch dodaných kontrastní látkou.

I tento problém může mít řešení. Většina biogenních látek obsahujících fosfor, např. fosfolipidy nebo nukleové kyseliny, obsahují fosfor vázaný ve fosfoesterové ($\text{P}=\text{O}$) (27) vazbě, může být výhodné vázat fosfor v kontrastní látce v kovalentní vazbě s jiným prvkem, např. fosforothioátové ($\text{P}=\text{S}$), fosforoamidátové ($\text{P}-\text{N}$), fosfonátové, fosfinátové, nebo fosfinové ($\text{P}-\text{C}$) vazby. (28) (26)

2 Praktická část

2.1 Metody

Praktická část práce se zabývá testováním nových kontrastních látek pro ^{31}P MRI, vyvinutých skupinou Ing. Richarda Lagy Ph.D. z ústavu makromolekulární chemie Akademie věd České republiky. Jednalo se o 4 polymerní chemické látky, které byly dodány 24. 01. 2020. Po charakterizaci byly látky porovnány a dvě s nejlepšími výsledky vybrány pro další pokračování experimentu. Z těchto látek byly následně odvozeny další látky, které byly totožnými postupy charakterizovány v druhé fázi experimentu. Pro třetí fázi experimentu, již byl *in vivo* experiment byl vybrán jeden nejlepší vzorek z fáze druhé. (29)

Látky byly charakterizovány těmito postupy:

2.1.1 Metody měření

2.1.1.1 ^1H MRS relaxometrie

Toto měření bylo provedeno pomocí NMR relaxometru Bruker Biospin metodou inversion recovery a CPMG. Tato měření provádí spektrometr automaticky.

2.1.1.2 ^{31}P MRS relaxometrie

Pro charakterizaci kontrastních látek v prostředí ^{31}P magnetické rezonance, bylo třeba provést ^{31}P relaxometrii. Zde však již nešlo k měření použít relaxometr BioSpin, neboť ten z technických důvodů ^{31}P měření nepodporuje. Oproti tomu bylo toto měření, stejně jako měření následující, provedeno na 4,7 T spektrometru Bruker Biospec. K měření křivky T_1 bylo užito sekvence s pouze jedním excitačním pulzem, přičemž byla provedena série těchto měření s totožnými parametry, pouze repetičním časem stoupajícím v rozmezí 200 – 4000 ms. Hodnoty velikosti spektrální čáry byly následně vyneseny do grafu a proloženy křivkou s předpisem:

$$M = M_0 \cdot (1 - e^{-t/T_1})$$

Z vypočítané křivky byly následně zjištěny žádané hodnoty T_1 relaxačních časů.

Pro vyhodnocení T_2 relaxací byla použita série jednoduchých spin echo sekvencí s měněním se echo časem TE v rozmezí 2 – 1200 ms. Obdobně jako při měření T_1 relaxací

byly velikosti spektrálních čar vyneseny do grafu a proloženy křivkou, tentokrát s předpisem: (30)

$$M = M_0 \cdot e^{-t/T_2}$$

2.1.1.3 ³¹P MRS SNR

V zašuměném signálu není postačující popisovat tento signál pouze pomocí absolutní hodnoty velikosti. Proto nejdůležitějším parametrem, pomocí kterého byly v rámci tohoto projektu kontrastní látky charakterizovány je signal to noise ratio (SNR). SNR je definováno jako:

$$SNR = \frac{I_{sig}}{\sigma_{noise}}$$

Dalším parametrem, který nám rozšiřuje informace o látce na MR spektroskopii, je rozdíl intenzit signálu a šumu, v tabulce zvaný signál-šum

Při MR měření je běžné měření opakovat několikrát a následně získané signály superponovat a vypočítat jejich průměr. Tímto postupem dojde k zesílení užitečného signálu a zvýšení SNR. Protože však dochází i k zesilování šumu, závislost SNR na počtu akvizic není lineární. Proto je třeba experimentálně ověřit optimální nastavení sekvence. Druhým cílem tohoto měření bylo porovnání látek mezi sebou.

V rámci tohoto hodnocení byly změřeny 4 sekvence, kde se počet akvizic měnil v rozmezí 100 – 18000.

2.1.1.4 ³¹P MRI SNR

Posledním parametrem použitým k charakterizaci kontrastních látek v rámci tohoto projektu bylo SNR spočtené z MR obrazů. Zobrazení bylo pořízeno metodou chemical shift imaging (CSI) a SNR vypočítáno jako (31):

$$SNR = \frac{I_{sig}}{\sigma_{noise}} \cdot 0.66 \quad \text{Rovnice}$$

Kde podíl intenzity signálu a standardní odchylky v oblasti šumu je vynásoben konstantou 0,66 z důvodu Rayleighova rozdělení šumu v MR obrazu.

Potřeba vyhodnocení ³¹P MRS byla motivací k vytvoření softwarového nástroje v prostředí MATLAB. Do určité míry již sice kvantifikaci spektroskopických dat

umožňují jiné komerčně dostupné nástroje, např. Bruker TopSpin, tyto nástroje však nespĺňují zásadní požadavky tohoto experimentu.

Nový nástroj musel být pro uživatele jednoduchý, schopný za týchž podmínek s týmiž parametry vyhodnotit několik spekter a provést základní analýzu, čímž ulehčit práci hodnotícímu pracovníkovi a také co nejvíce omezit chybu vzniklou lidským faktorem např. při manuálním výběru oblasti hodnocení.

Dalším zásadním požadavkem byla aplikovatelnost v laboratoři experimentální MR, pracoviště radiodiagnostiky a intervenční radioterapie. Bylo tedy nutné zajistit schopnost nástroje načítat a interpretovat data měřená experimentálním 4,7T MR spektrometrem BRUKER BioSpec a spustitelnost v prostředí MATLAB verze R2007b. Schopnost spolupráce s jinými spektrometry nebyla součástí této práce, bude však předmětem dalšího rozvoje nástroje.

2.1.2 Fáze hodnocení pomocí nového nástroje

2.1.2.1 Načtení dat

Data jsou ve formátu vystupujícím z Bruker spektrometru uložena v několika souborech. Soubor fid obsahuje surový výstup FID z A/D převodníku. Tento soubor je vhodným zdrojem dat pro analýzu, neboť automatické zpracování implementované ve spektrometru nemusí být vždy optimální a především jeho parametry nejsou známy. Zde oproti tomu lze parametry zpracování volit dle potřeby a jasně je definovat. Soubor fid je sekvencí čísel, tedy diskretizací FID signálu. Komplikací, která se v průběhu práce objevila, je struktura ukládání dat do souboru fid. V jednotlivých časových bodech je hodnota signálu určena komplexním číslem. V souboru jsou však uloženy jako datový typ double, kde vzorky s lichým indexem tvoří reálné složky a prvky se sudým indexem složky imaginární, tedy každý časový bod je tvořen dvojicí po sobě jdoucích vzorků. Proto je třeba nejprve signál rozdělit na tyto dvě složky a ty následně sloučit do komplexního tvaru.

2.1.2.2 Předzpracování dat

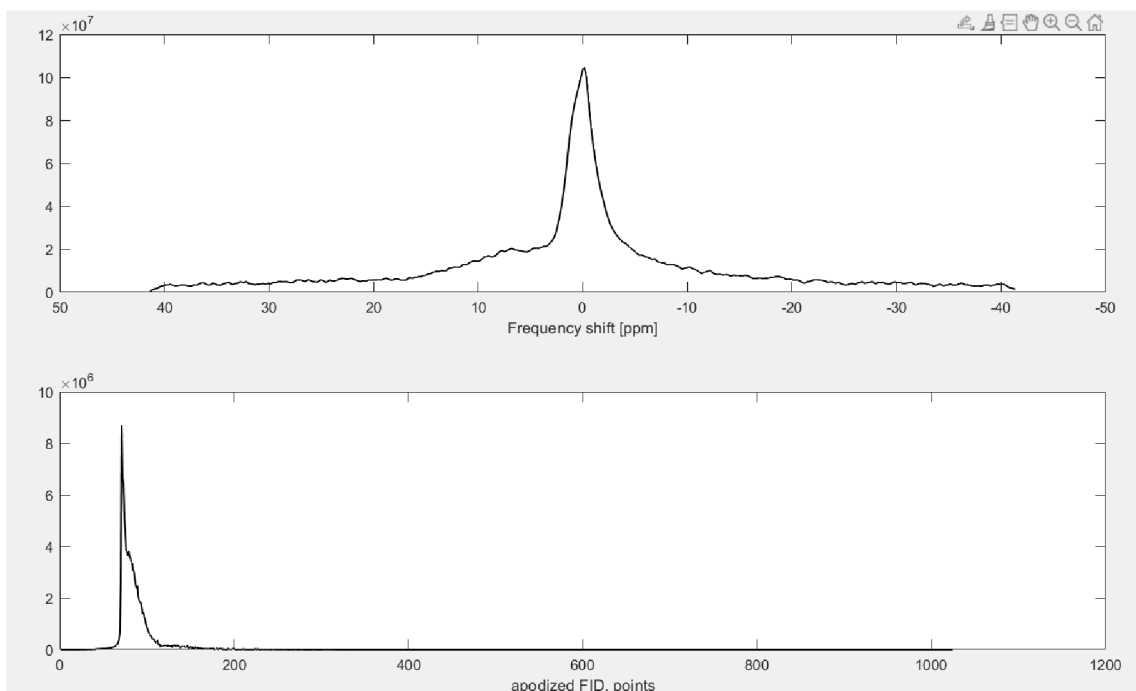
Po tomto kroku může být provedeno samotné předzpracování v časové oblasti. Mezi použité metody tohoto zpracování patří:

2.1.2.2.1 Zvýšení frekvenčního rozlišení

Signál je na jeho konci rozšířen o předem určený počet nul. Díky tomu magnitudové spektrum vzniklé aplikací FFT na signál bude mít větší frekvenční rozlišení.

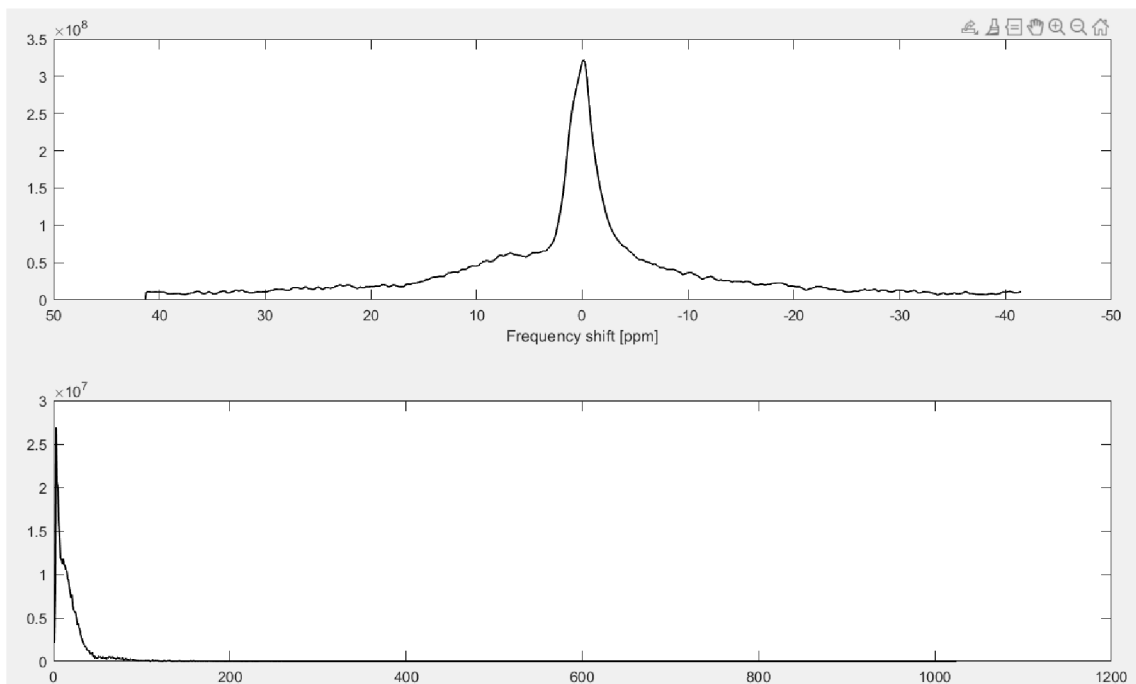
2.1.2.2.2 Odříznutí počátku

Tento bod velmi úzce souvisí s bodem následujícím. Na počátku každého signálu FID je několik vzorků nulových. Tento úsek s sebou nenese žádnou informaci, brání dalším metodám zpracování a je proto možné ho odstranit (obr. 8). Tento počátek je odstraněn a přesunut na konec.



Obr. 8a Reprezentace vlivu oříznutí počátku signálu – stav bez oříznutí

Nahoře podoba spektra FID signálu, dole podoba FID signálu v časové oblasti

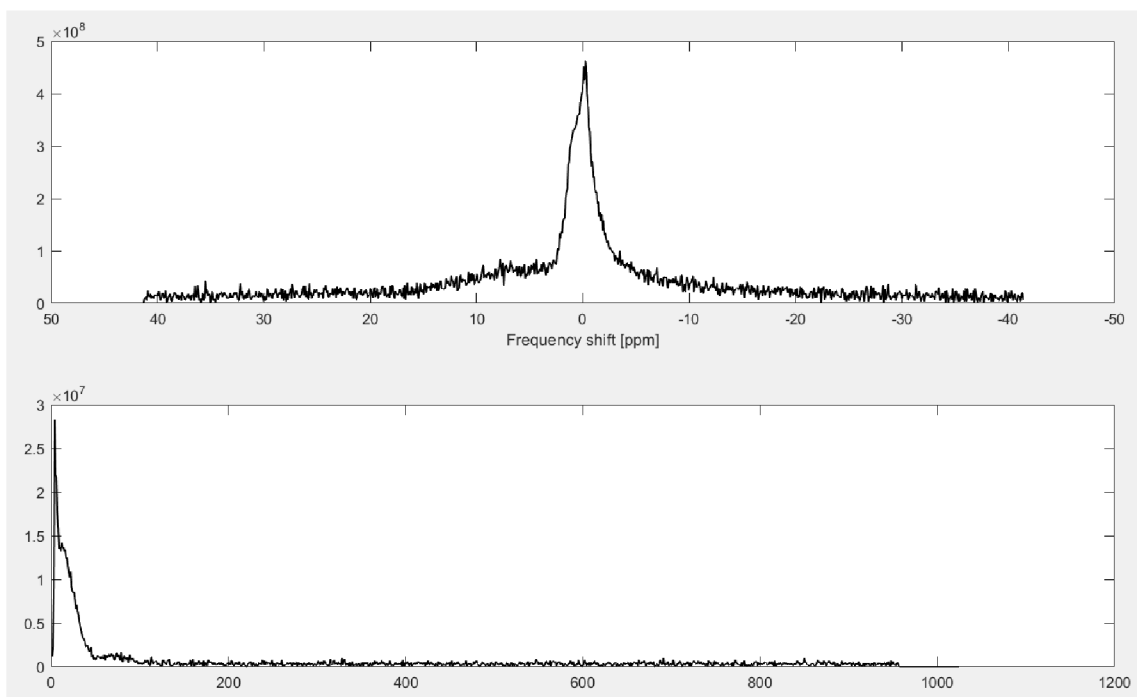


Obr. 8b Reprezentace vlivu ořiznutí počátku signálu – stav po ořiznutí

Nahoře podoba spektra FID signálu, dole podoba FID signálu v časové oblasti

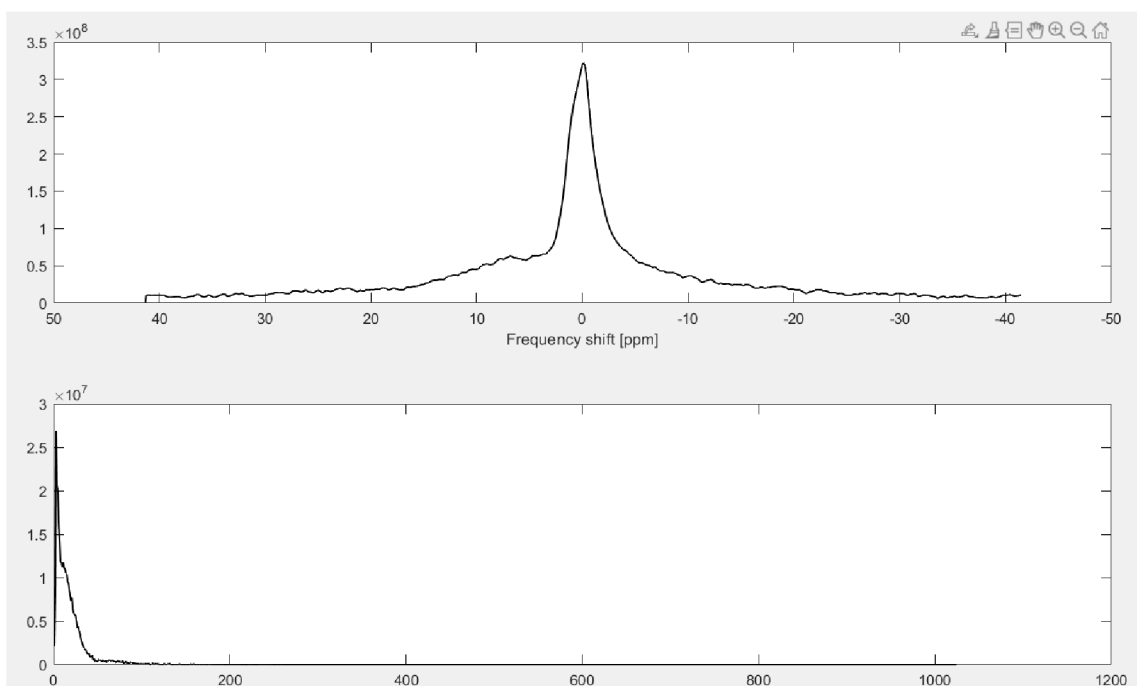
2.1.2.2.3 apodizace

Signál FID má největší amplitudu na svém počátku a postupně slábne. Na jeho počátku je také největší podíl užitečného signálu. Díky této informaci a provedení předchozího kroku víme, že podíl užitečného signálu je nejvyšší v bodě 0 a s rostoucím časem klesá, a proto můžeme signál přenásobit apodizační funkcí, kterou v tomto případě byla exponenciální funkce. Parametr LB zde udává tvar křivky a může mít ve své podstatě dvě podoby. Je-li záporný, exponenciála je klesající, čímž docílíme zachování užitečného signálu (exponenciála má v počátku hodnotu 1) a potlačení šumu, který více vystupuje pozdější fázi FID signálu. Tímto se významně zvýší SNR. Dojde ale také k rozšíření spektrální čáry a zhoršení rozlišení. Pokud je parametr LB kladný, exponenciála roste a naopak zvýrazňuje pozdější vzorky signálu a dochází k zúžení spektrálních čar (zlepšení rozlišení), ale k nárůstu šumu (obr. 9). Je vždy nutné podle konkrétní aplikace a podstatě hledané informace hledat při volbě parametru LB vhodný kompromis mezi frekvenčním rozlišením a SNR.



Obr. 9a Reprezentace vlivu aplikování apodizace – stav bez apodizace

Nahoře podoba spektra FID signálu, dole podoba FID signálu v časové oblasti



Obr. 9b Reprezentace vlivu aplikování apodizace – stav po aplikování apodizace

Nahoře podoba spektra FID signálu, dole podoba FID signálu v časové oblasti

2.1.2.3 Zpracování

Na předzpracovaný FID signál je aplikována FFT. Pro interpretaci dat je nutné definovat frekvenční osu, která udává chemický posun jednotlivých spektrálních čar. K tomu je využito informací o vstupních parametrech snímací sekvence uložených v textovém souboru, který je součástí adresáře s daty. Z tohoto souboru je vyčteno frekvenční rozlišení, s jehož pomocí je možné dopočítat hodnotu každého indexu FFT spektra. Frekvenční osu je možné zobrazit jak v jednotkách Hz, tak ppm.

2.1.2.4 Hodnocení

Nejdůležitější pro správné hodnocení MRS je určení užitečného signálu. Hodnocení spekter pomocí tohoto nástroje je určeno pouze pro experimentální využití, kde nedochází k superpozici spekter jednotlivých zkoumaných látek. V takovém případě nástroj není schopen tyto spektrální čáry od sebe odlišit. Je-li však tato podmínka splněna, lze hodnocení provést.

2.1.2.4.1 Výběr oblasti zájmu

Vzhledem k tomu že ve zkoumaném subjektu se může nacházet více různých látek které jsou reprezentovány spektrálními čarami na různých pozicích, je třeba nejprve identifikovat oblast, která obsahuje pouze zkoumanou látku. Toto provede uživatel manuálně buď zadáním hranic oblasti zájmu, nebo označením myši při prvotním zobrazení spektra v GUI.

2.1.2.4.2 Určení spektrální čáry

Po určení oblasti zájmu je třeba identifikovat oblast hodnocení. Ta je v tomto nástroji definována jako pološířka spektrální čáry, tedy šířka oblasti spektrální čáry, jejíž amplituda dosahuje poloviny jejího maxima a více.

2.1.2.4.3 Analýza

Poté co je určena oblast hodnocení, může být tato oblast analyzována. Zpravidla uživatele zajímají následující parametry, které jsou výstupem tohoto hodnocení. Integrály oblastí signálu a šumu, maximální amplituda spektrální čáry, pozice spektrální čáry, pološířka spektrální čáry a SNR

Tyto hodnoty jsou vypočítány, uloženy a zobrazeny v GUI nástroje a lze je exportovat do přehledné tabulky formátu xls.

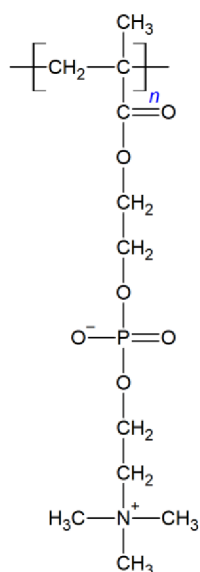
2.1.3 Vzorky

Skupina Ing. Richarda Lagy PhD. vyvinula a připravila několik kontrastních látek pro ^{31}P magnetickou rezonanci. Jednou ze zásadních charakteristik, kterými se všechny tyto látky řídily, byla makromolekulární povaha, díky které se budou látky snáze akumulovat v biologických tkáních. Dalším požadavkem byla dobrá rozpustnost ve vodě. Samozřejmostí je obsah atomů fosforu. Bylo použito několik přístupů a charakterů látek a bylo třeba ověřit jejich účinnost, porovnat je a charakterizovat je v MR prostředí. V první fázi byly dodány 4 kontrastní látky různého složení. V druhé fázi byly dodány další látky, nové i odvozené od látek z fáze 1, které vykazovaly nejlepší výsledky, s cílem zlepšit aplikovatelnost těchto látek nebo pozměněním chemického posunu. Fáze 3 byla zaměřena na bimodální kontrastní látky aplikované nejen v ^{31}P MRI, ale i ^1H MRI.

2.1.3.1 Fáze 1

LW147

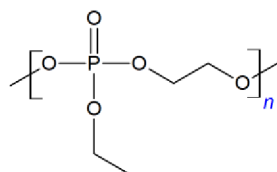
První z těchto látek byl lineární homopolymer obsahující fosfoesterové vazby, které jsou obsaženy i ve většině biogenních fosfor-obsahujících látek. Jeho jednotka je odvozena od 2-methacryloyloxyethylphosphorylcholinu (MPC). Tato látka je tzv. zwitteriont – látka mající kladný i záporný náboj zároveň, díky čemuž je silně hydrofilní, tedy velmi dobře rozpustná ve vodě. Látka je také velmi výhodná pro použití v biologickém prostředí, neboť její struktura je velmi podobná struktuře buněčné membrány. Díky tomu velmi snadno prostupuje buněčnou membránou. V neposlední řadě je tento polymer netoxický a je ho možné definovaně připravit. Další nespornou výhodou této látky je možnost snadno na ní navázat léčivou látku, a tím vytvořit látku teranostickou.



Obr. 10 strukturní vzorec LW147

LA-212-2

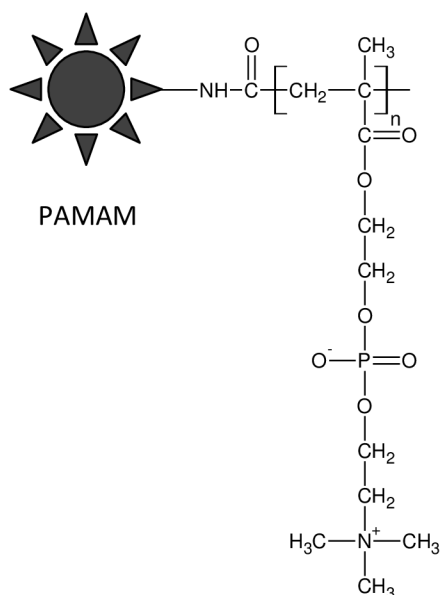
Tento lineární homopolymer též obsahující fosfoesterové vazby je odvozen od Ethyl-3-ethoxypropionátu (EEP). Tato látka není nabitá a je stejně jako látka předchozí dobře rozpustná ve vodě a netoxická.



Obr. 11 strukturní vzorec LA-212-2

LW147-PAMAM

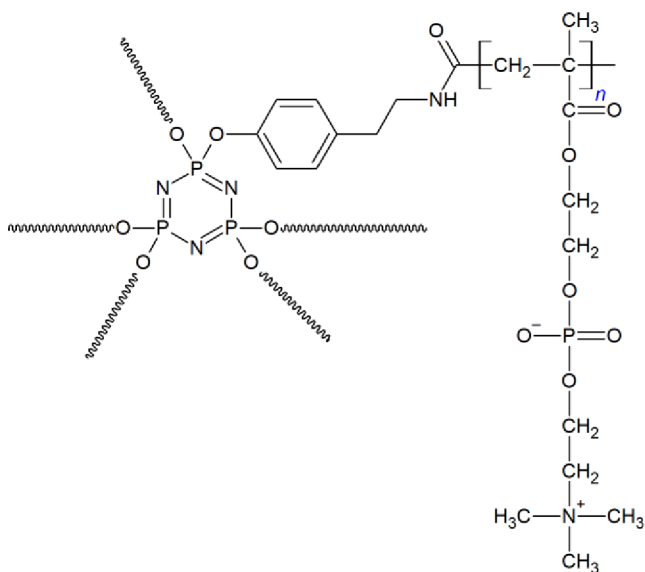
Podstatou této látky je hvězdicový polymer obsahující 18 lineárních p(MPC) ramen vycházejících z polyamidoaminového (PAMAM) dendrimerového jádra. Opět jsou v této látce atomy fosforu vázány fosfoesterovou (P=O) vazbou. Tyto molekuly jsou výše molární analogií látky LW147. Díky vazbě na dendrimerové jádro jsou větší, a mají větší molární hmotnost a větší koncentraci fosforu. Díky své velikosti jsou také obtížněji vylučovány z tkání, jejich využití jako kontrastních látek je tedy velmi výhodné.



Obr. 12 strukturní vzorec LW147-PAMAM

LW154-CTP

Tato poslední látka první fáze je též hvězdicový polymer, obsahuje 6 lineárních p(MPC) jader vycházející z CTP jádra. Oproti předchozí látce LW147-PAMAM je její velikost menší a podstatně menší je i koncentrace fosforu v molekule, neboť makromolekula obsahuje pouze 6 p(MPC) jader. Atomy fosforu jsou obsaženy i v CTP jádře. Protože se však jedná o hvězdicový polymer, celá makromolekula obsahuje pouze 3 atomy fosforu v CTP jádře a miliony atomů fosforu v p(MPC) jednotkách. Signál z CTP jádra je tedy neměřitelný.

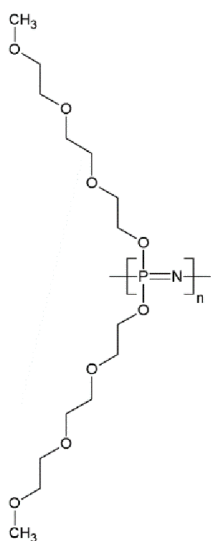


Obr. 13 strukturní vzorec LW154-CTP

2.1.3.2 Fáze 2

IK-55

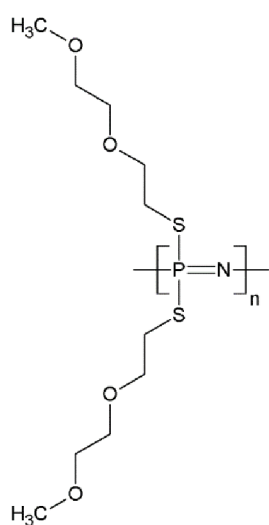
Tato látka je lineárním homopolymerem obsahujícím fosfazenové vazby. Je prvním vzorkem z druhé fáze, tedy vzorkem snažícím se o změnu chemického posunu signálu fosforu v molekule obsaženého. V této látce je fosfoesterová vazba nahrazena vazbou fosfazenovou.



Obr. 14 strukturní vzorec IK-55

IK-61

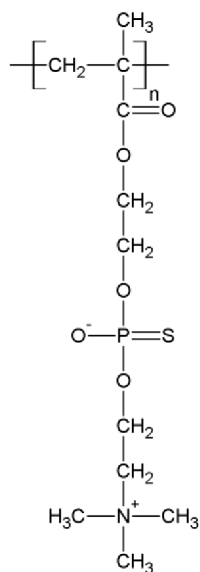
Tato látka se od látky předchozí liší délkou substituentů na hlavním polymerním řetězci a skutečností, že dva kyslíky vázané na atomu fosforu jsou zde nahrazeny sírou, přičemž se předpokládá posun ještě výraznější. V případě této látky bylo také předpokládáno, že v důsledku chemické kompozice budou MR vlastnosti výrazně závislé na teplotě. Tohoto jevu lze využít pro použití kontrastní látky v biologickém prostředí jako látky bioresponzivní, tedy měnící své vlastnosti v závislosti na vlastnostech prostředí charakteristických pro biologické prostředí, v tomto případě na teplotě organismu (např. v oblasti zánětu, zvýšeného metabolismu, atpod.)



Obr. 15 Strukturní vzorec IK-61

LW330

Tato látka je modifikací látky LW147, tedy pTMPC, přičemž fosfoesterová skupina ($P=O$), obsažená běžně ve fosfor-obsahujících sloučeninách v organismu, je zde nahrazena skupinou thiofosfátovou ($P=S$), což by dle předpokladu mělo zapříčinit chemický posun spektrální čáry této látky natolik, že bude možné rozlišit na ^{31}P MR její signál od signálu biogenních sloučenin fosforu.

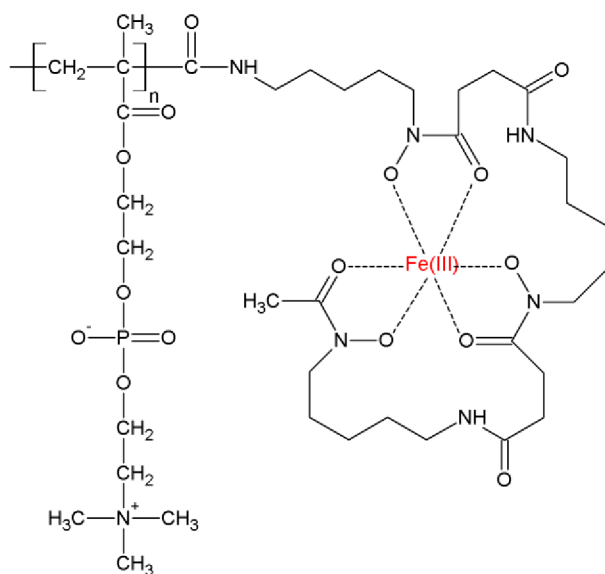


Obr. 16 Strukturní vzorec LW330

2.1.3.3 Fáze 3

LW323-FeCl₃

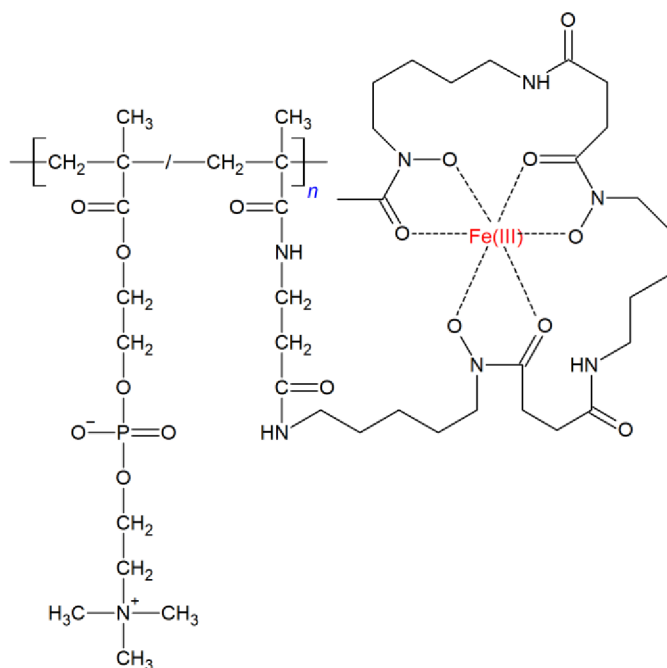
Kontrastní látka s interním označením LW323-FeCl₃ je lineární homopolymer, k jehož polymernímu řetězci je přes stabilní amidovou vazbu připojena deferoxaminová skupina, k níž je pomocí koordinační vazby připojen železitý iont Fe³⁺. Díky připojeným iontům železa je tato látka vhodná k použití jako duální kontrastní látka, kterou lze zároveň zobrazit pomocí ¹H i ³¹P magnetické rezonance. V tomto případě je tento polymer semitelechelický, tzn. Deferoxaminová skupina je k polymernímu řetězci připojena jen na jednom jeho konci. Motivací k vytvoření těchto duálních kontrastních látek byla možnost sledovat působení a distribuci například léčiva v určité oblasti. V tomto případě je železitá částice připojena přes štěpitelnou vazbu, která je v místě účinku rozdělena. Následně lze na základě srovnání určit farmakodynamiku daného léčiva. (32)



Obr. 17 Strukturní vzorec LW323-FeCl₃

LW324-FeCl₃

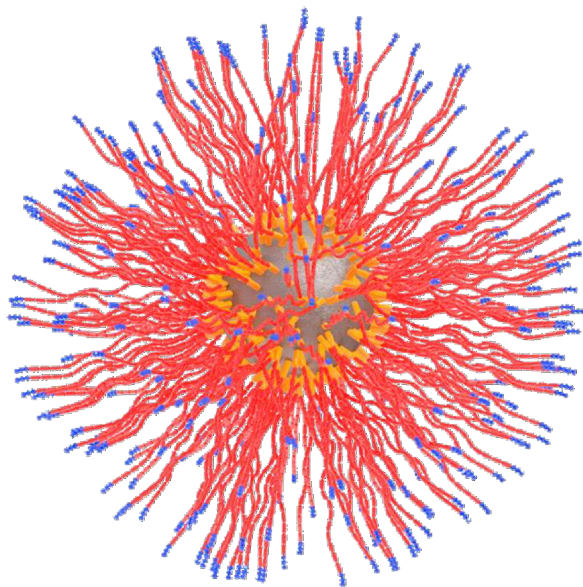
Látka LW324-FeCl₃ je velmi podobná látce LW323-FeCl₃ s tím rozdílem, že LW324-FeCl₃ je statistický kopolymer obsahující 4,7 mol.% DFA/Fe³⁺ skupin náhodně distribuovaných podél polymerního řetězce přes stabilní amidovou vazbu. Tento polymer je takzvaně multivalentní, tedy deferoxaminové skupiny jsou navázány na několika místech jeho hlavního polymerního řetězce.



Obr. 18 strukturní vzorec LW324-FeCl₃

LW323- γ -Fe₂O₃

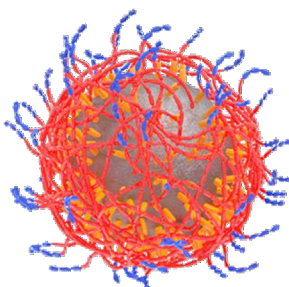
Základ tohoto polymeru je obdobný jako u polymerů předchozích, je též tvořen p(MPC) řetězcí, které jsou na konci přes DFA skupinu připojeny k maghemitové nanočástici. Výhodou této částice je její velikost, a též charakter a mnohem vyšší koncentrace železa. Zatímco předchozí kontrastní látky obsahující atomární železo se nazývaly paramagnetické, tyto látky se nazývají superparamagnetické. Tyto látky nejsou rozpustné ve vodě, tvoří tzv. koloidní roztok



Obr. 19 strukturní vzorec LW323- γ -Fe₂O₃

LW324- γ -Fe₂O₃

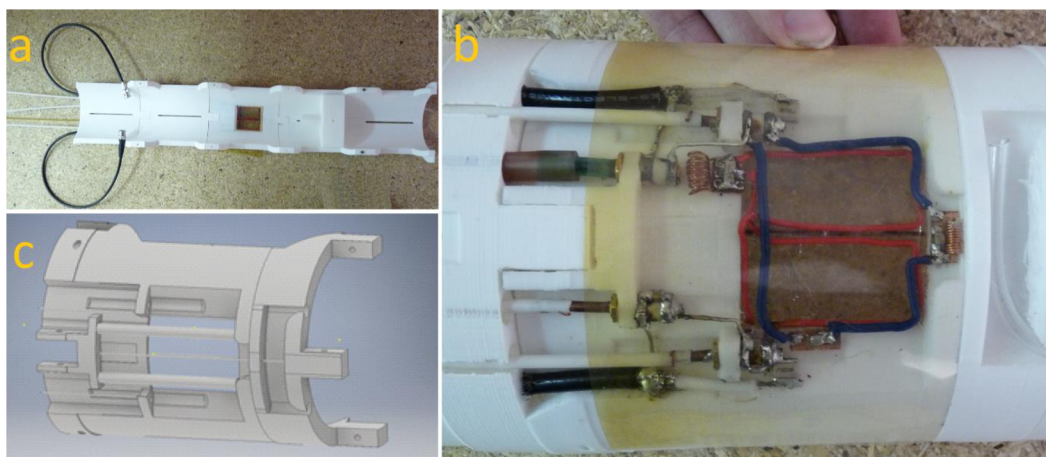
Rozdíl oproti LW323- γ -Fe₂O₃ je obdobný, jako rozdíl mezi LW323-FeCl₃ a LW324-FeCl₃. Obdobně má sloučenina stejný základ, pouze je řetězec připojen k maghemitové částici přes DFA skupiny statisticky rozdělené podél řetězce. Tím je dosaženo pevnější vazby k maghemitové nanočástici.



Obr. 20 strukturní vzorec LW324- γ -Fe₂O₃

2.1.4 Vybavení

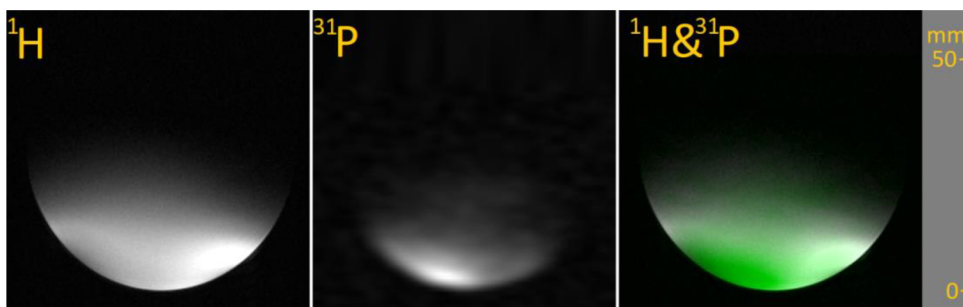
Protože objektem měření byly v tomto projektu vzorky kontrastních látek použitelných pro ^1H i ^{31}P magnetickou rezonanci s potenciálem aplikace v *in vivo* prostředí, byla k měření využita duální $^1\text{H}/^{31}\text{P}$ povrchová cívka určená pro zobrazování potkanů.



Obr. 21 Povrchová cívka použitá k měření

- pohled na kompletní tělo cívky
- pohled na elektrické smyčky tvořící RF přijímač pro oba kanály
- pohled na strukturální prvek těla cívky

Senzitivita i homogenita této cívky je v obou režimech dostatečná, proto byla využita i pro měření *in vitro*, aby bylo dosaženo největší korelace výsledků s *in vivo* měřením. Tato cívka byla vytvořena v rámci studentského grantového projektu SGS (ing. Martin Vít) v laboratoři experimentální magnetické rezonance IKEM v rámci spolupráce s FM TUL.

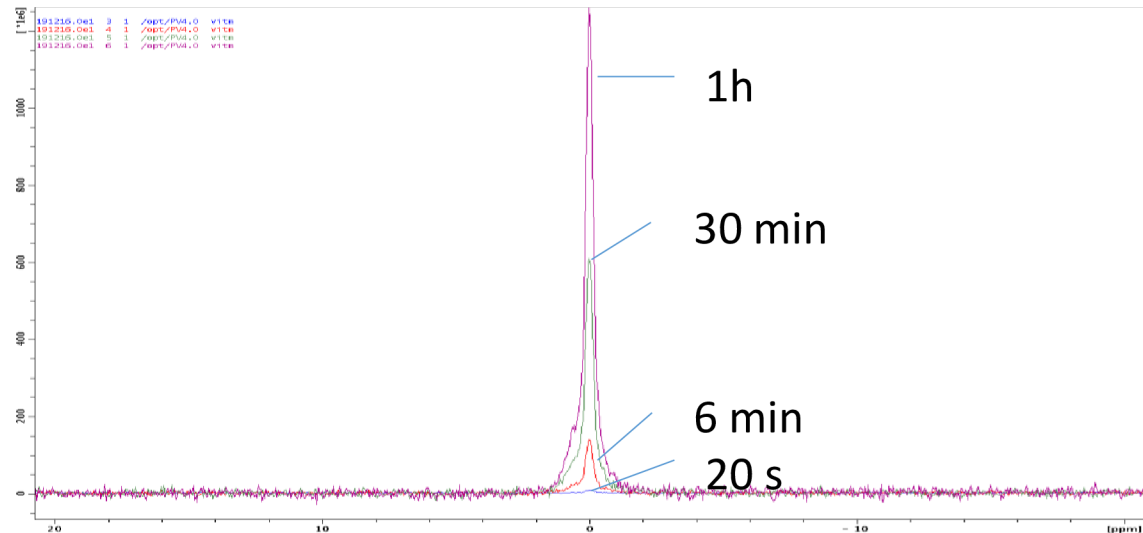


Obr. 22 Měření senzitivity cívky použité pro měření (200 ml 1M H_2O + K_2HPO_4)

2.2 Měření

2.2.1 LW147

Měření vzorku LW147 ukázalo jasně rozlišitelný signál již po šestiminutovém spektroskopickém měření.



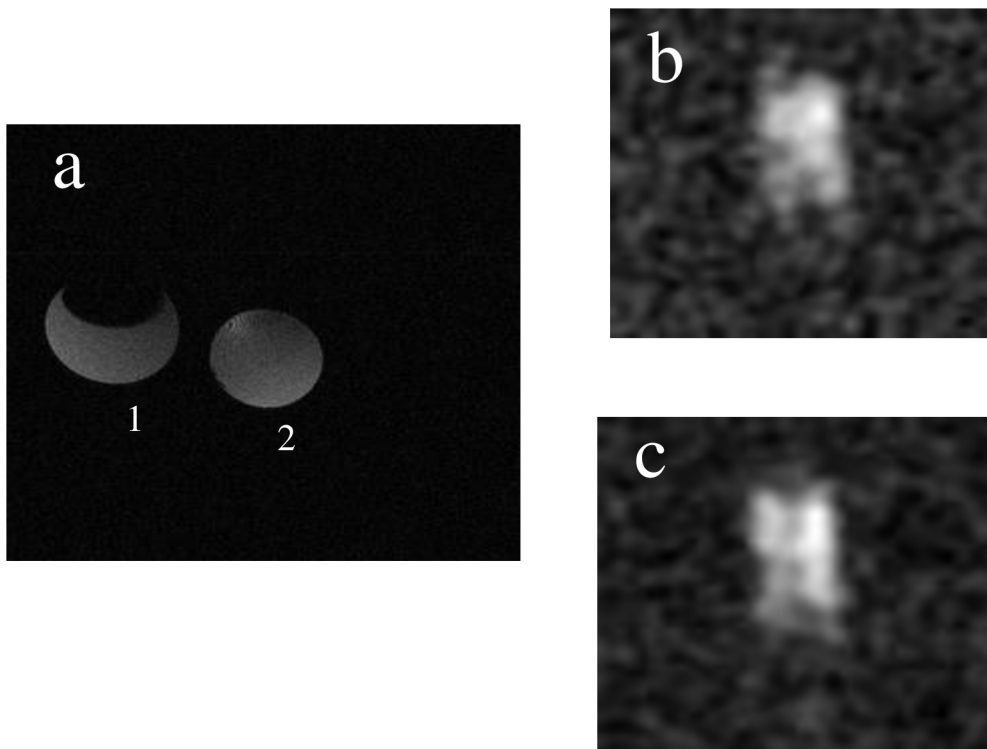
Obr. 23 výsledky MRS látky LW147

Nejlepší SNR vykazovalo měření 30minutové. To bylo poté vybráno i pro vzájemné porovnání látek.

Tab. 3 výsledky MRS látky LW147

t [min]	MRS	Integrál [abs]	Signál-šum	SNR
0.3	Signal	76014744	75667143,9	218,68
	Noise	347599,6		
6	Signal	1,83E+09	1795207804	51,05
	Noise	35865383		
30	Signal	8,32E+09	8281390066	209,78
	Noise	39664972		
60	Signal	1,64E+10	1,5997E+10	44,61
	Noise	3,67E+08		

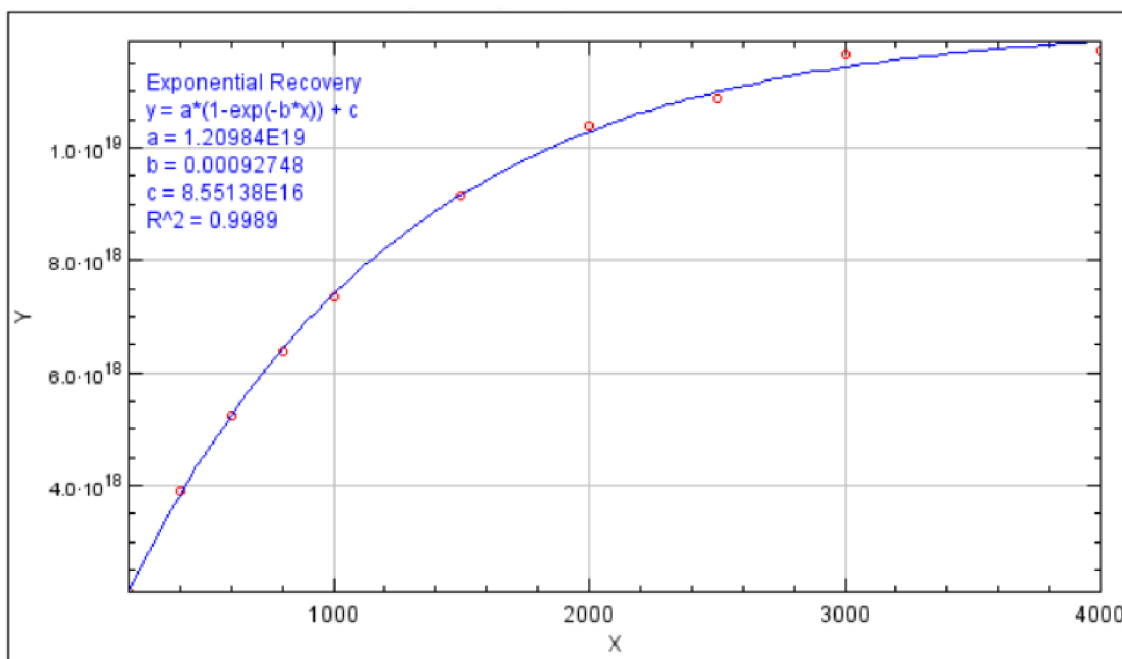
I na MRI zobrazení byl ^{31}P signál jasně patrný již po 30 minutách, SNR pro 30minutové zobrazení bylo 2,47 a pro 60minutové 3,52.



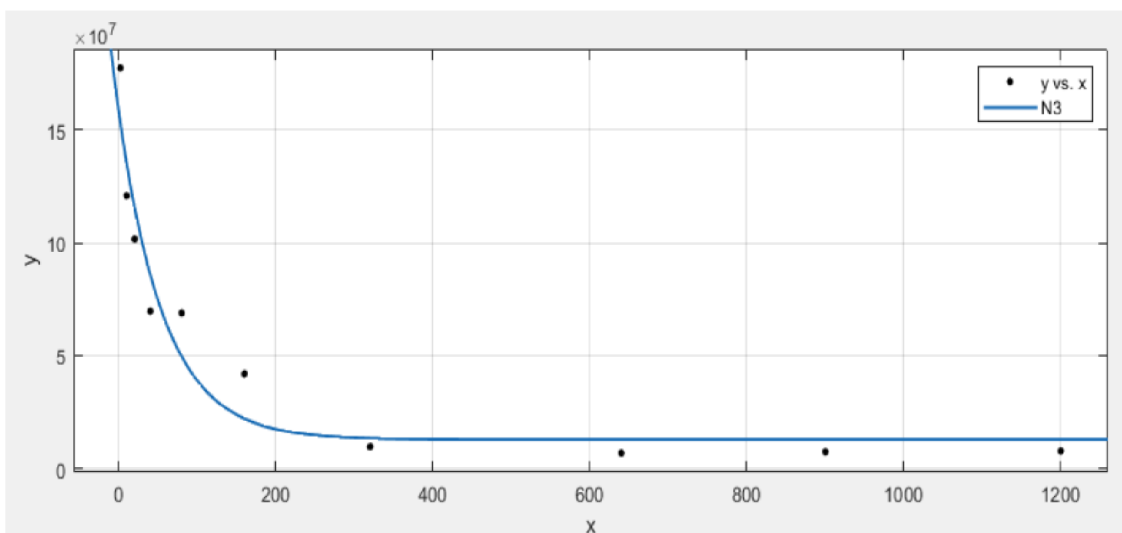
Obr. 24 výsledky MRI látky LW147

- a. ^1H referenční zobrazení (1 – proba, 2 – voda)
- b. Měření CSI s měřicí dobou 30 min
- c. Měření CSI s měřicí dobou 60 min

T_1 relaxometrie provedená sérií měření s měnícím se TR po proložení a výpočtu ukázala T_1 relaxační čas jako 1078,19 ms. Pro T_2 relaxační čas potom byla vypočtena hodnota 58,31 ms. Tato hodnota relaxačního času je poměrně krátká, pro získání signálu je však dostatečná.



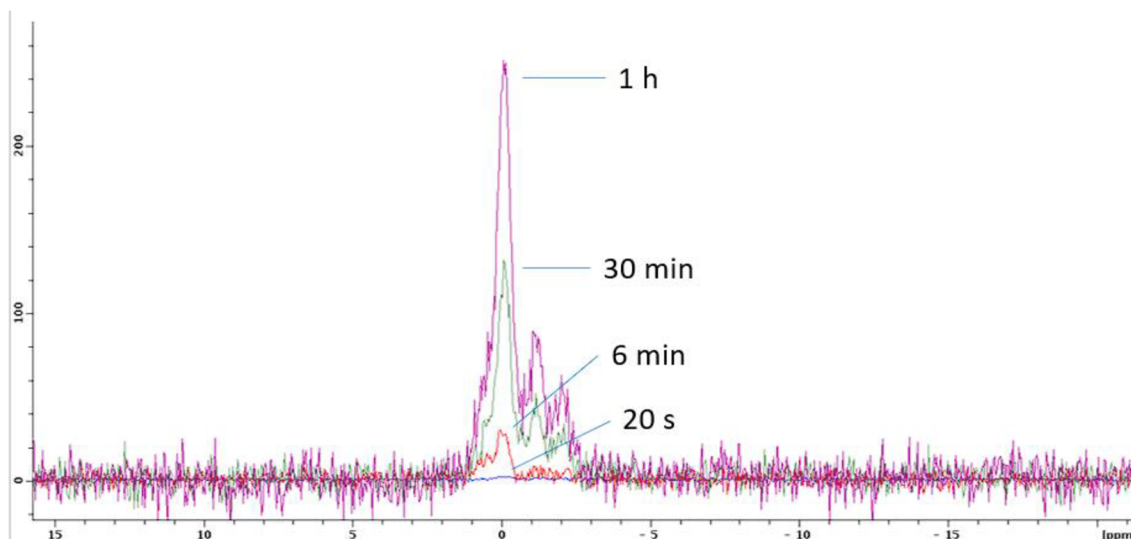
Obr. 25a T_1 relaxační křivka látky LW147



Obr. 25b T_2 relaxační křivka látky LW147

2.2.2 LA-212-1

Při spektroskopickém měření proba LA-212-1 generovala signál detekovatelný již po šesti minutách, v tomto případě však výrazně nižší intenzity a výrazně zašuměný.



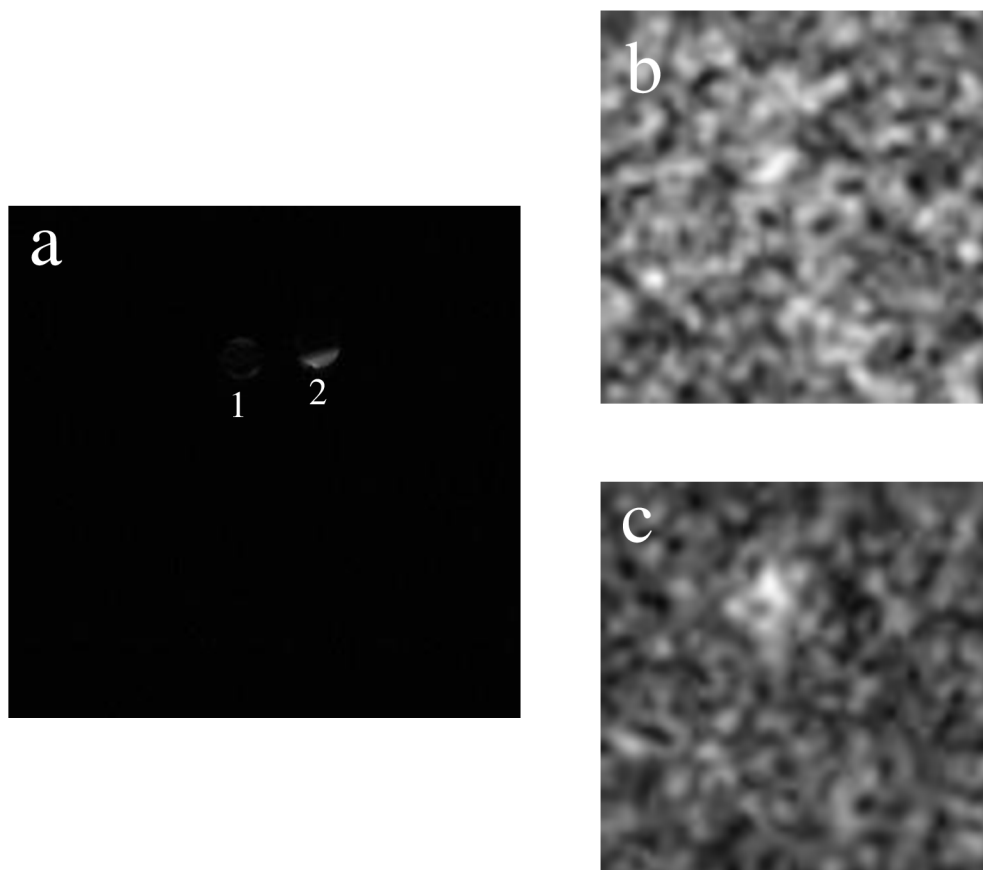
Obr. 26 výsledky MRS látky LW147

SNR 30minutového měření bylo 12,07

Tab. 4 výsledky MRS látky LW147

t [min]	MRS	Integrál [abs]	Signál-šum	SNR
0.3	Signal	55135589	54985114,7	366,42
	Noise	-150474		
6	Signal	800000000	780387225	40,67
	Noise	19672342		
30	Signal	3590000000	3291390330	12,07
	Noise	297000000		
60	Signal	6990000000	6590164299	17,51
	Noise	399000000		

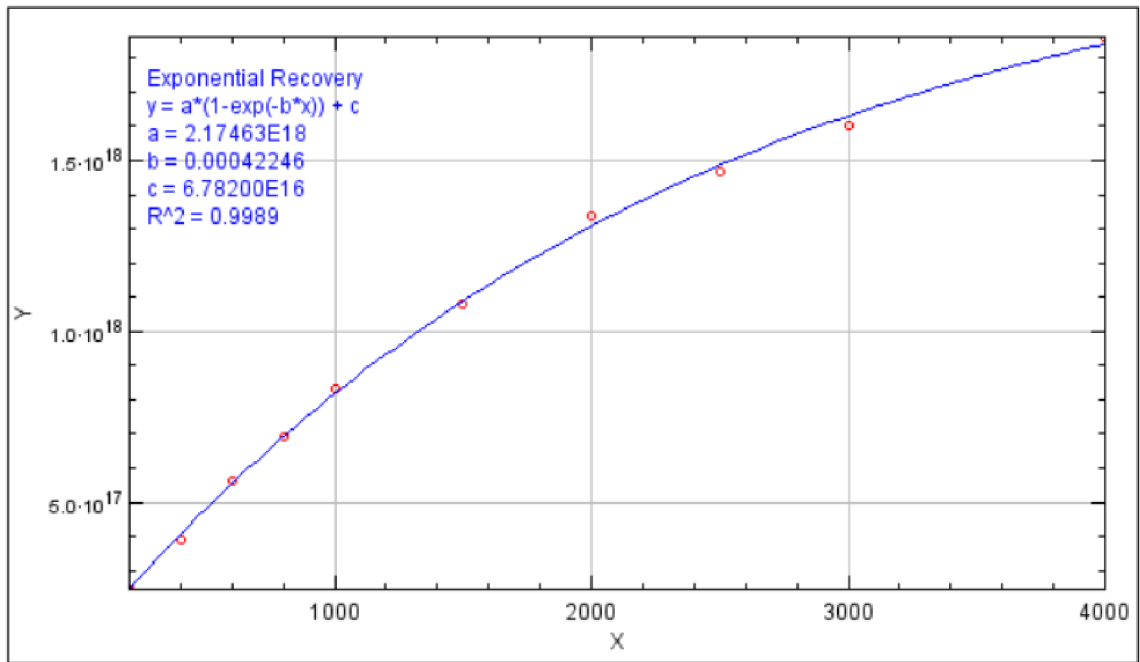
Na MR zobrazení po 30 minutách nebyl odlišitelný signál detekován žádný, po 60 minutách byl velmi slabý signál se SNR 1,11.



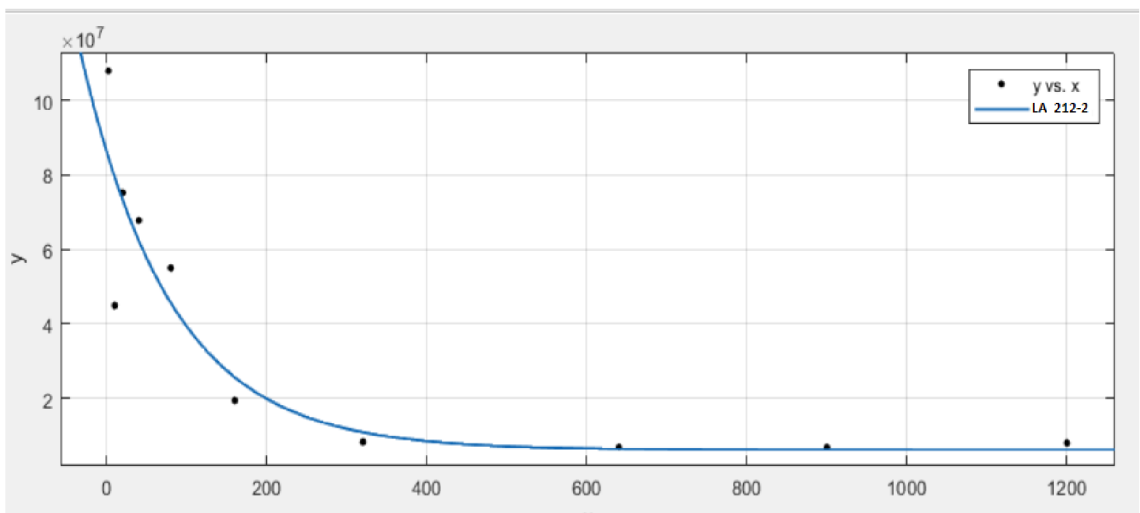
Obr. 27 výsledky MRI látky LA-212-1

- a. ^1H referenční zobrazení (1 – proba, 2 – voda)
- b. Měření CSI s měřicí dobou 30 min
- c. Měření CSI s měřicí dobou 60 min

T_1 relaxace poukázaly na poměrně dlouhý T_1 relaxační čas 2367,8 ms. T_2 relaxační čas byl 113,4 ms.



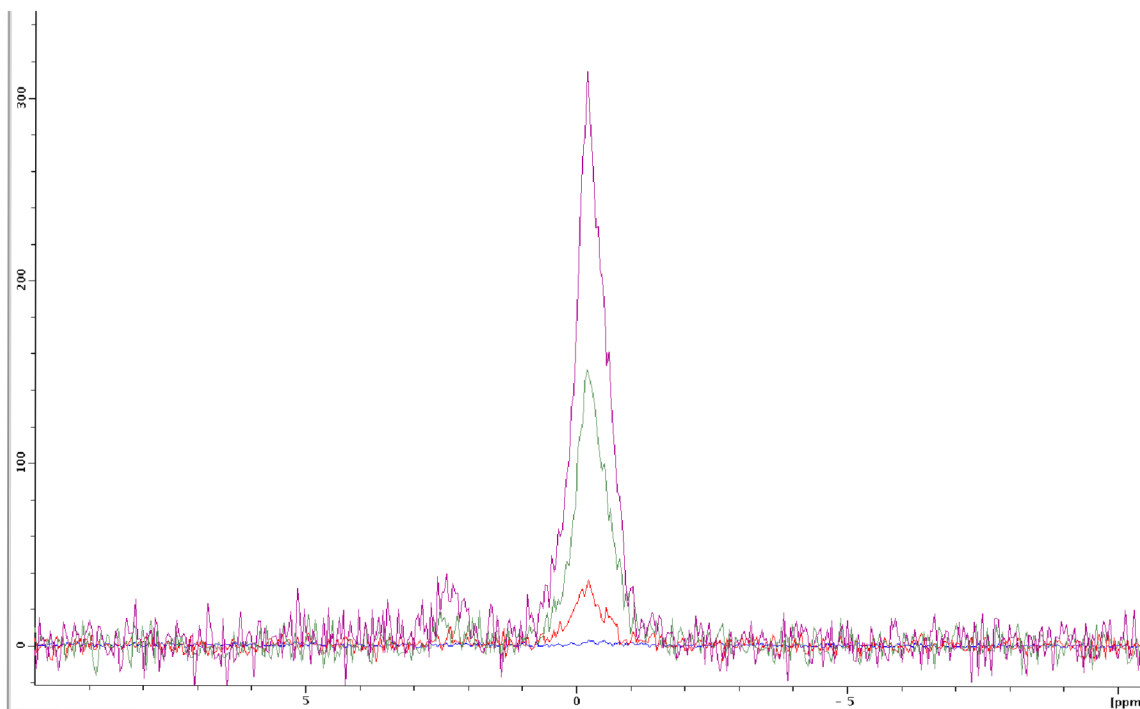
Obr. 28a T_1 relaxační křivka látky LA-212-1



Obr. 28b T_2 relaxační křivka látky LA-212-1

2.2.3 LW147-PAMAM

Signál MRS měření látky LW147-PAMAM byl detekovatelný po šesti minutách,



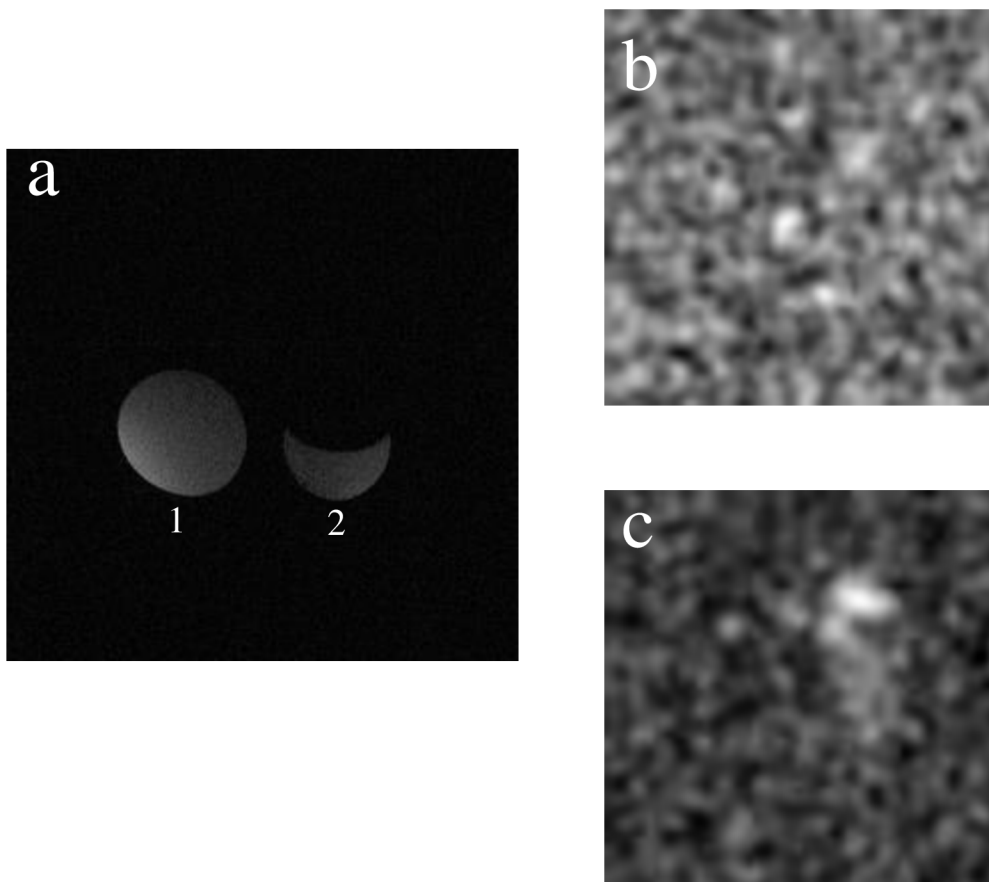
Obr. 29 výsledky MRS látky LW147-PAMAM

SNR signálu LW147-PAMAM bylo 55,71.

Tab. 5 výsledky MRS látky LW147

t [min]	MRS	Integrál [abs]	Signál-šum	SNR
0.3	Signal	54798562	52697799,3	26,09
	Noise	2100763		
6	Signal	7,36E+08	724429432	63,83
	Noise	-1,2E+07		
30	Signal	3,15E+09	3091619592	55,71
	Noise	56509813		
60	Signal	6,42E+09	6050970036	17,58
	Noise	3,65E+08		

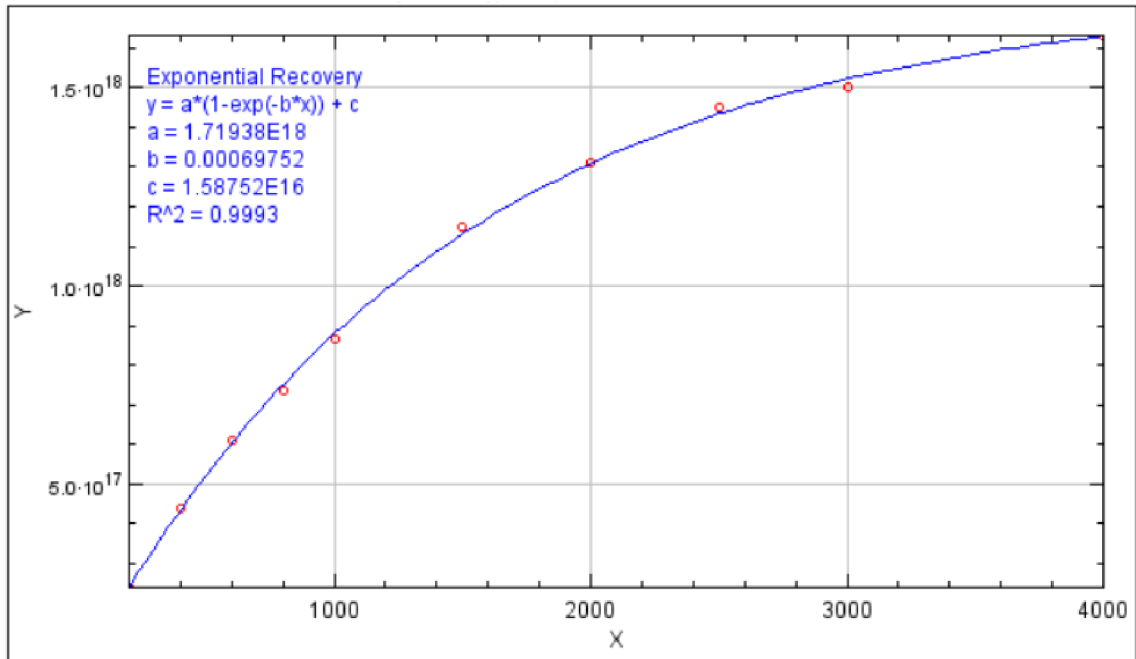
Na ^{31}P MR zobrazení byl rozpoznatelný signál detekován nejdříve po hodinovém měření se SNR 1



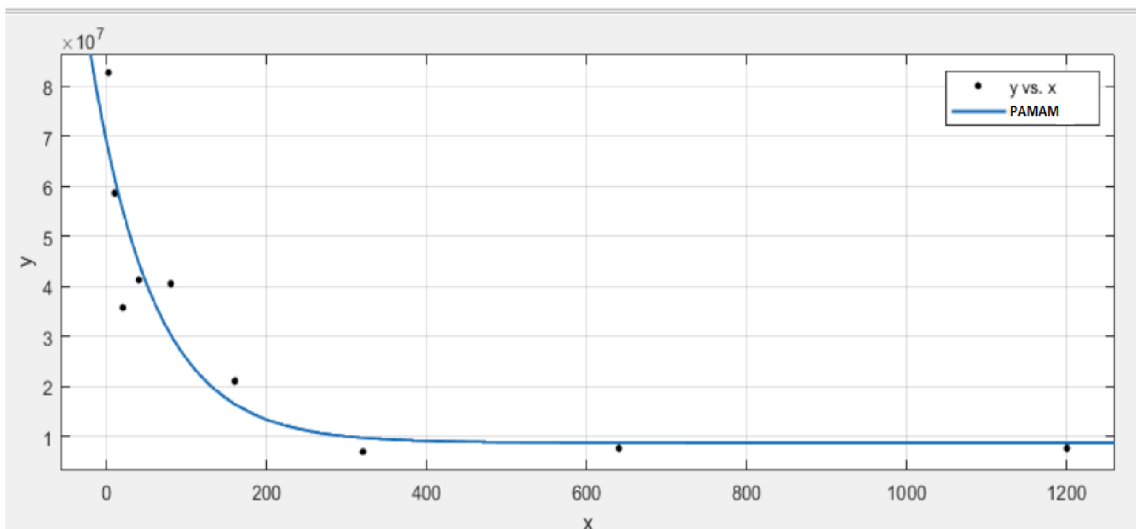
Obr. 30 výsledky MRI látky LW147-PAMAM

- a. ^1H referenční zobrazení (1 – proba, 2 – voda)
- b. Měření CSI s měřicí dobou 30 min
- c. Měření CSI s měřicí dobou 60 min

T_1 relaxační čas látky LW147-PAMAM byl 1433.65, relaxační čas T_2 78.31.



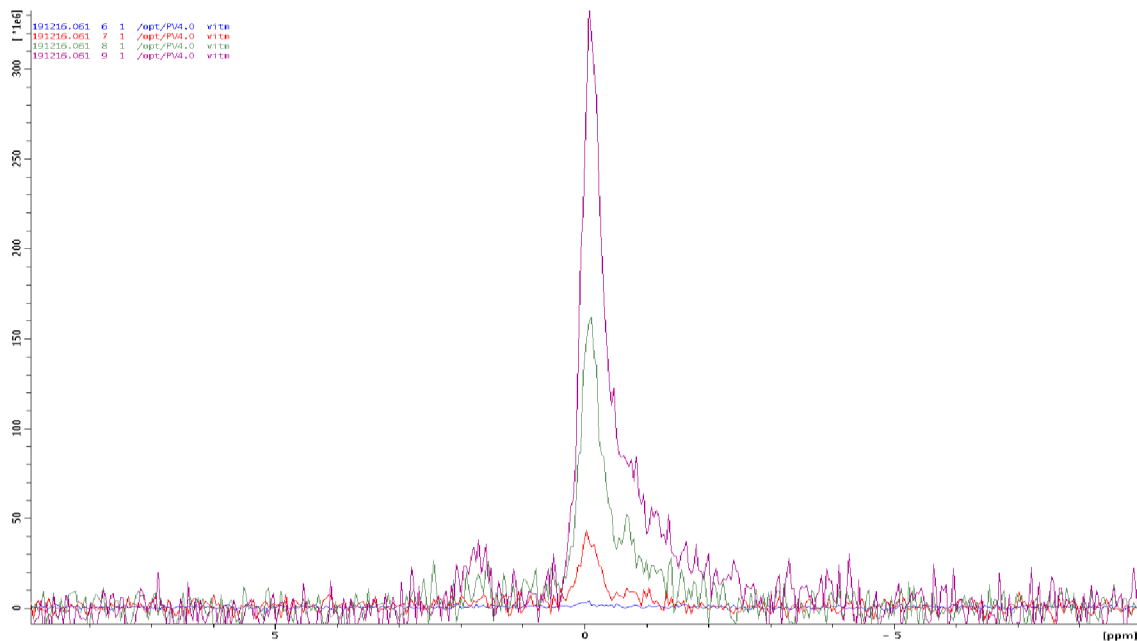
Obr. 30a T₁ relaxační křivka látky LW147-PAMAM



Obr. 30b T₂ relaxační křivka látky LW147-PAMAM

2.2.4 LW154-CTP

Již po šestiminutovém měření byl na MR spektroskopii detekovatelný signál druhého hvězdicového polymeru, vzorku LW154-CTP se SNR 16.31.



Obr. 31 výsledky MRS látky LW154-CTP

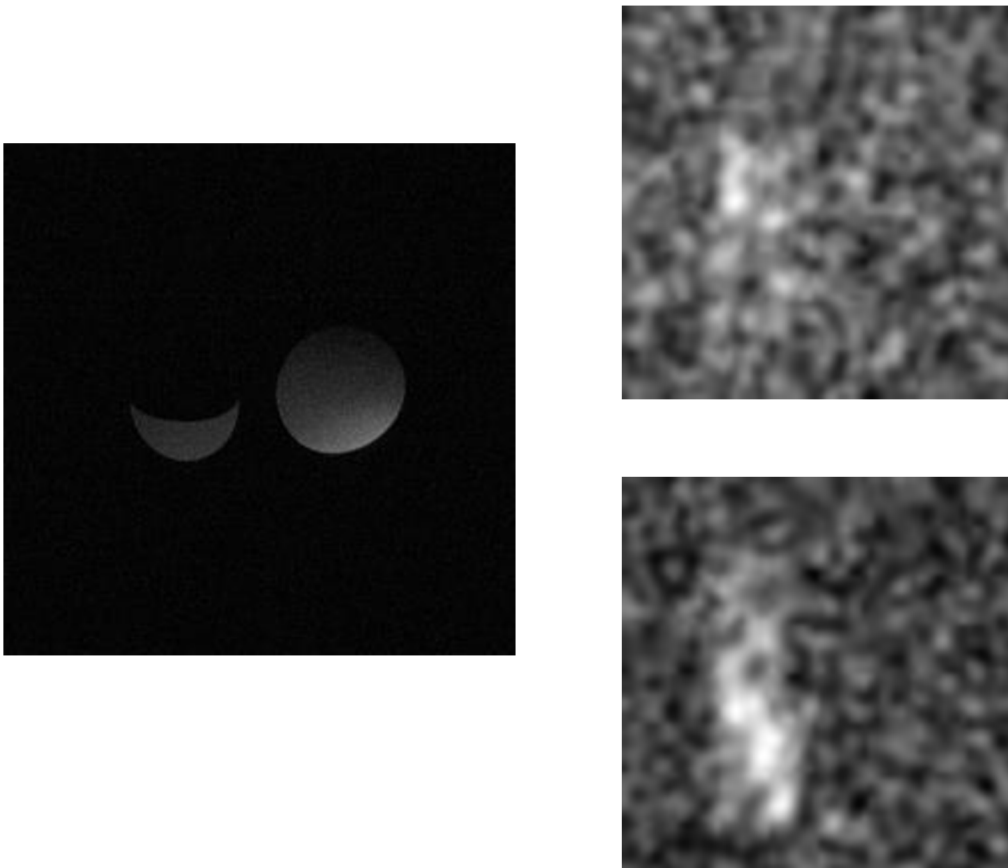
SNR 30minutového měření bylo 43.57. V tomto případě bylo SNR

Tab. 6 výsledky MRS látky LW154-CTP

t [min]	MRS	Integrál [abs]	Signál-šum	SNR
0.3	Signal	50085922	48304774,4	28,12
	Noise	-1781147		
6	Signal	6,91E+08	648243930	16,31
	Noise	-4,2E+07		
30	Signal	3,02E+09	2947976467	43,57
	Noise	69247541		
60	Signal	6,16E+09	5941450724	27,76
	Noise	2,22E+08		

Na MR zobrazení byl na 30minutovém měření detekovaný signál velmi slabý a špatně rozlišitelný od šumu se SNR 0.96. Na měření 60minutovém byl již signál zřetelnější se

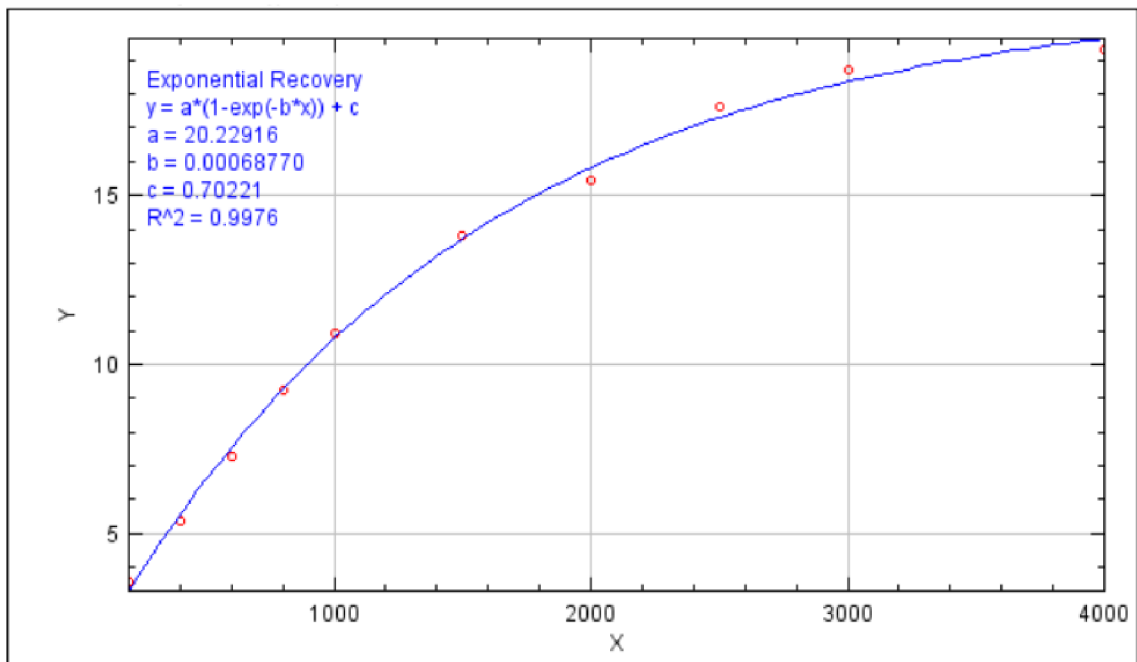
SNR 1.54.



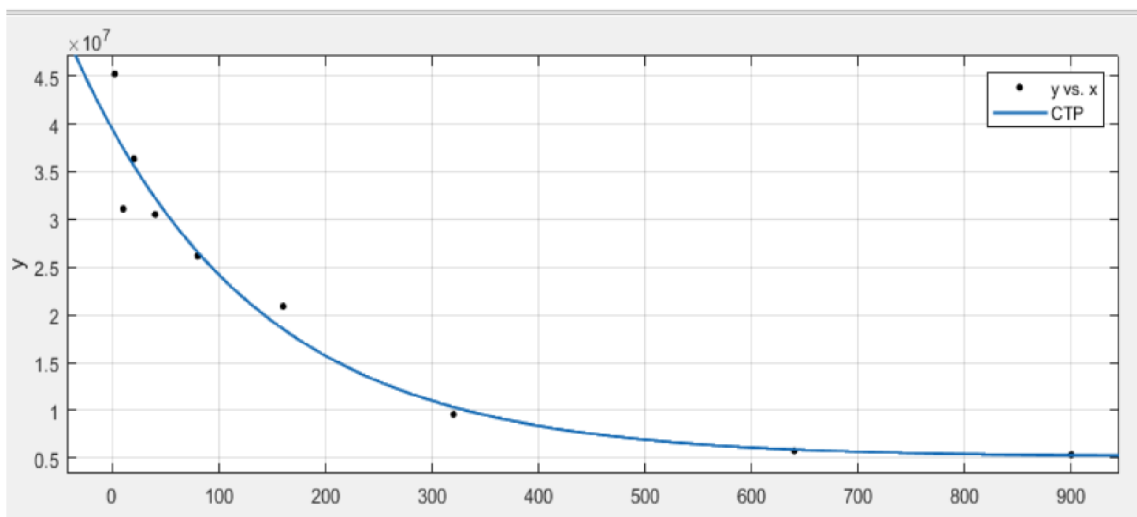
Obr. 32 výsledky MRI látky LW154-CTP

- a. ^1H referenční zobrazení (1 – proba, 2 – voda)
- b. Měření CSI s měřicí dobou 30 min
- c. Měření CSI s měřicí dobou 60 min

Výsledek relaxometrie látky LW154-CTP ukázal T_1 relaxační čas jako 1454.122 ms a relaxační čas T_2 jako 170.6 ms.



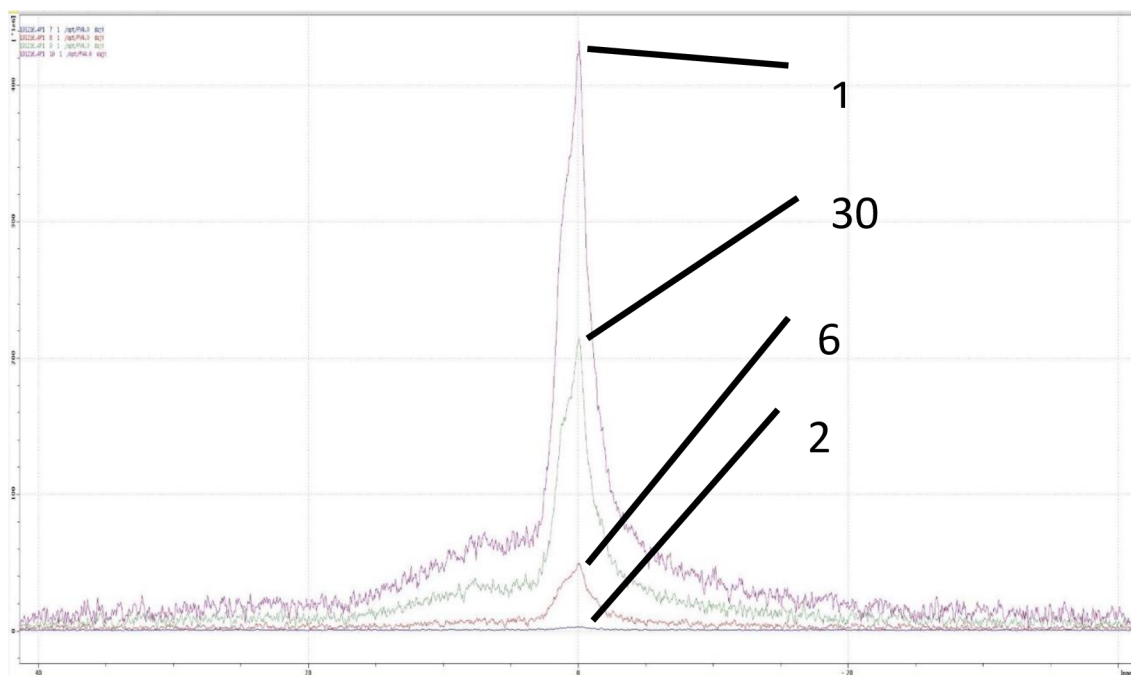
Obr. 33a T_1 relaxační křivka látky LW154-CTP



Obr. 33b T_2 relaxační křivka látky LW154-CTP

2.2.5 IK-55

Měření vzorků druhé fáze probíhalo naprosto totožně jako ve fázi první. Výsledky MRS prvního vzorku, vzorku IK-55 také již po šesti minutách ukázaly odlišitelný signál



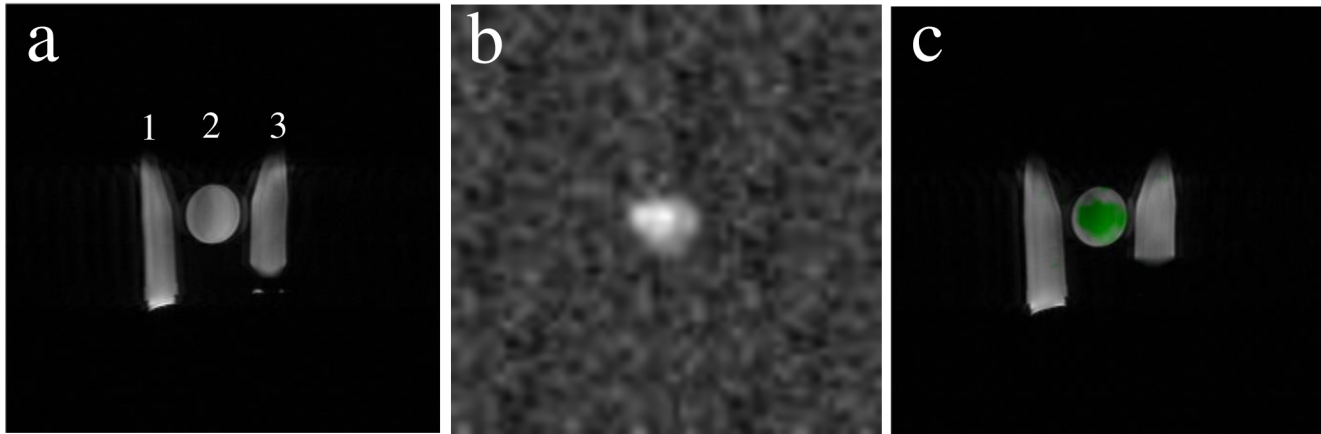
Obr. 34 výsledky MRS látky IK-55

Největší SNR 61.81 vykazovalo měření hodinové, 30minutové měření bylo však velmi blízko na hodnotě 61.58.

Tab. 7 výsledky MRS látky IK-55

t [min]	Max. Amplituda	St. odchylka	Signál-šum	SNR
0.3	1,77E+06	6,20E+05	5,23E+07	1,87
6	3,25E+07	6,20E+05	1,30E+09	34,35
30	1,43E+08	1,53E+06	5,95E+09	61,58
60	2,87E+08	3,04E+06	1,21E+10	61,81

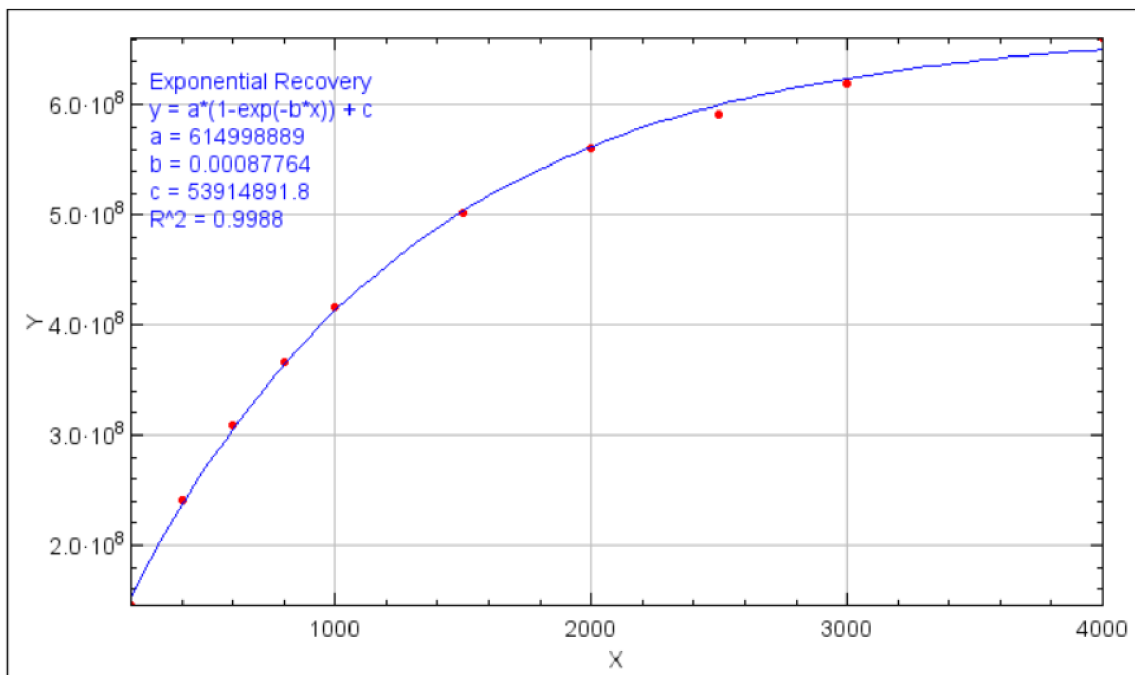
V druhé fázi bylo již zanecháno pouze hodinové měření, neboť po zkušenostech z fáze první není kvalita půlhodinového měření dostatečná. Vzorek IK-55 byl hodinovou CSI sekvencí uspokojivě zobrazitelný, SNR bylo 10,43.



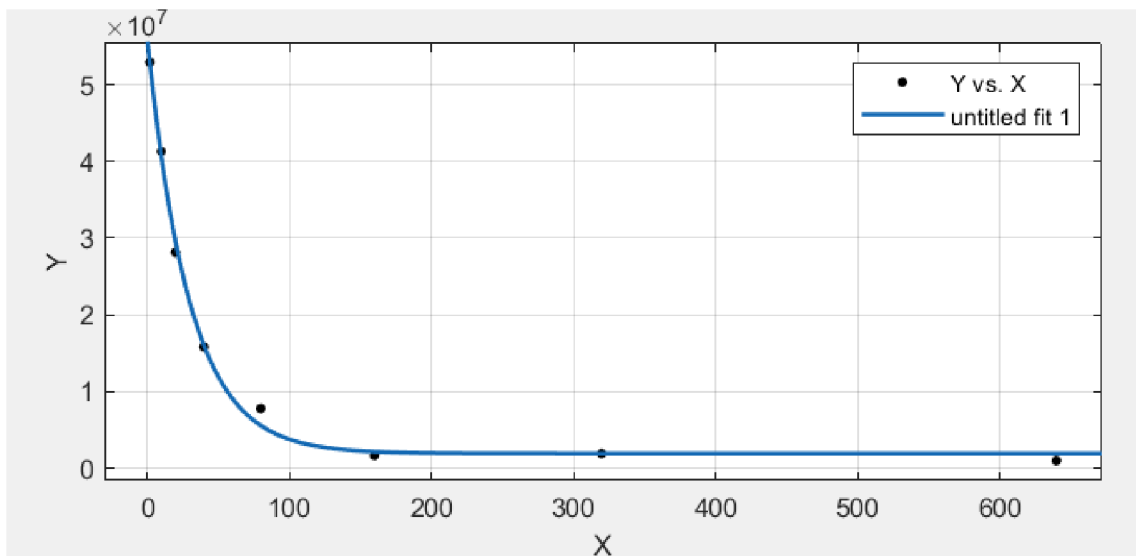
Obr. 35 výsledky MRI látky IK-55

- a. ^1H referenční zobrazení (1 – voda, 2 – proba, 3 – voda)
- b. Měření CSI s měřicí dobou 60 min
- c. Přeložení obou zobrazení

Protokol relaxometrie zůstal totožný jako pro fázi 1, pro vzorek IK-55 byly byhodnoceny relaxační časy T_1 1139,42 ms a T_2 30,30 ms.



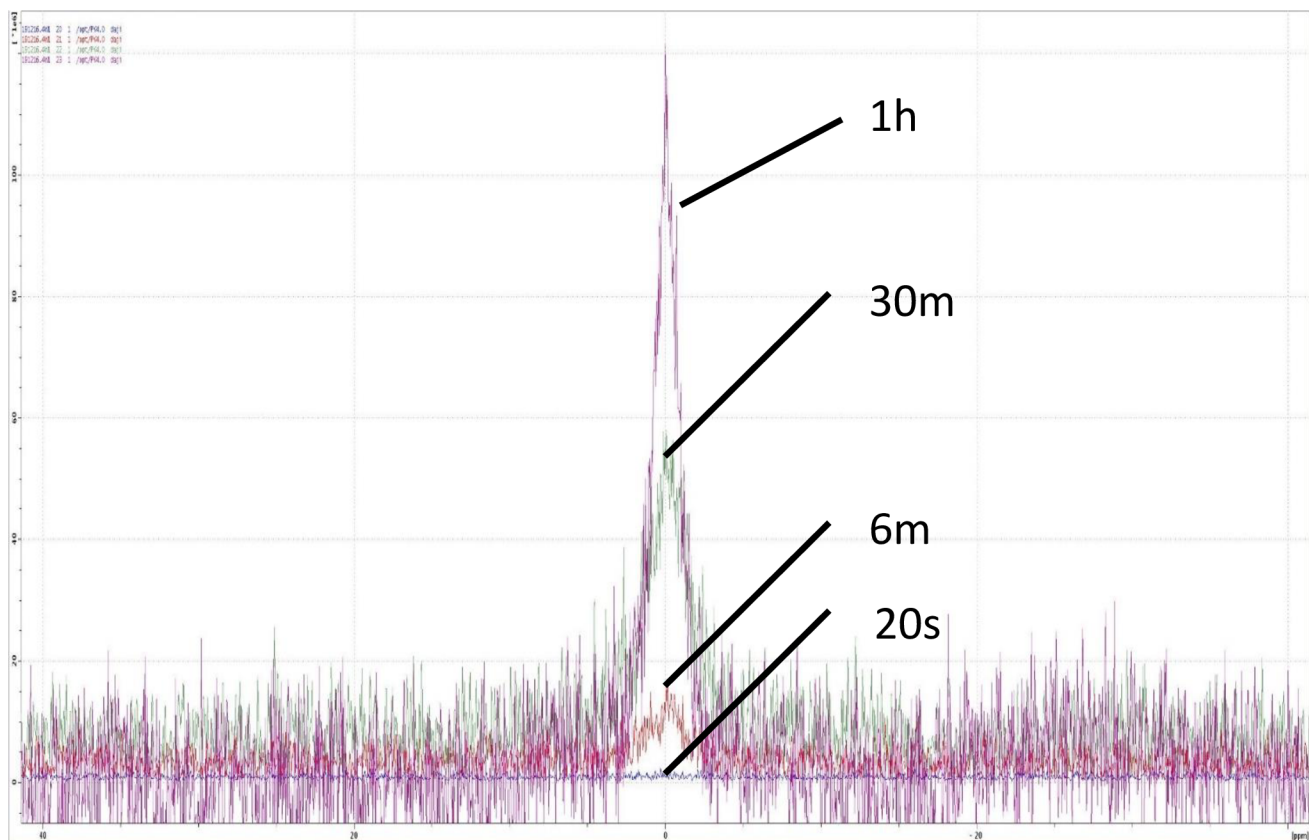
Obr. 36a T_1 relaxační křivka látky IK-55



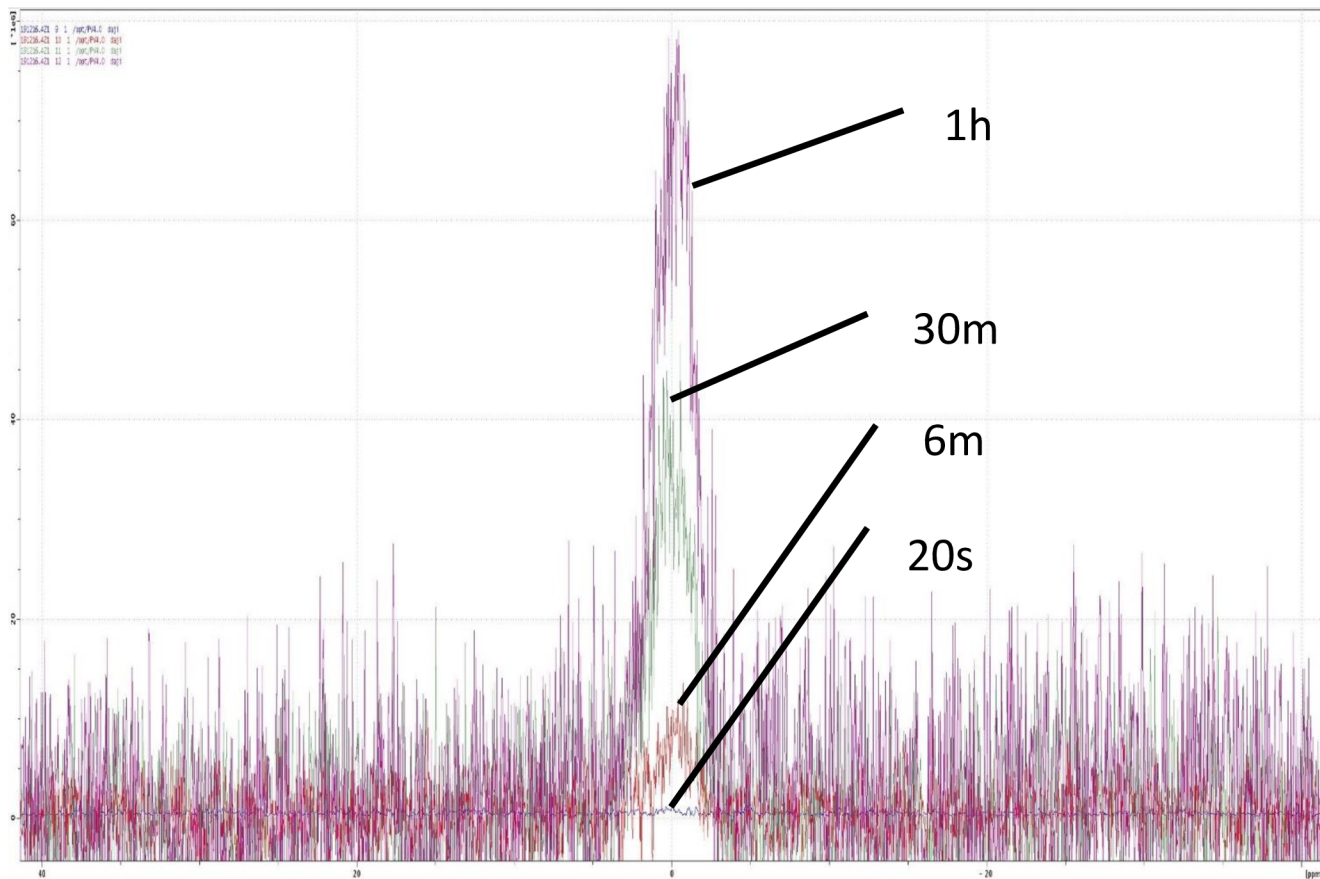
Obr. 36b T_2 relaxační křivka látky IK-55

2.2.6 IK-61

Vzorek IK-61 byl z hlediska protokolu měření specifický ve zdvojení měření pro dvě různé teploty, a to pro 15°C a 37°C . Již jasným okem je patrné, že signál pocházející z měření při 37°C je podstatně méně intenzivní a podstatně více zašuměný. Výsledek šestiminutového měření je sice rozlišitelný, v porovnání s ostatními látkami je však zarušený velmi intenzivně.



Obr. 37a Výsledky MRS látky IK-61 pro 15° C



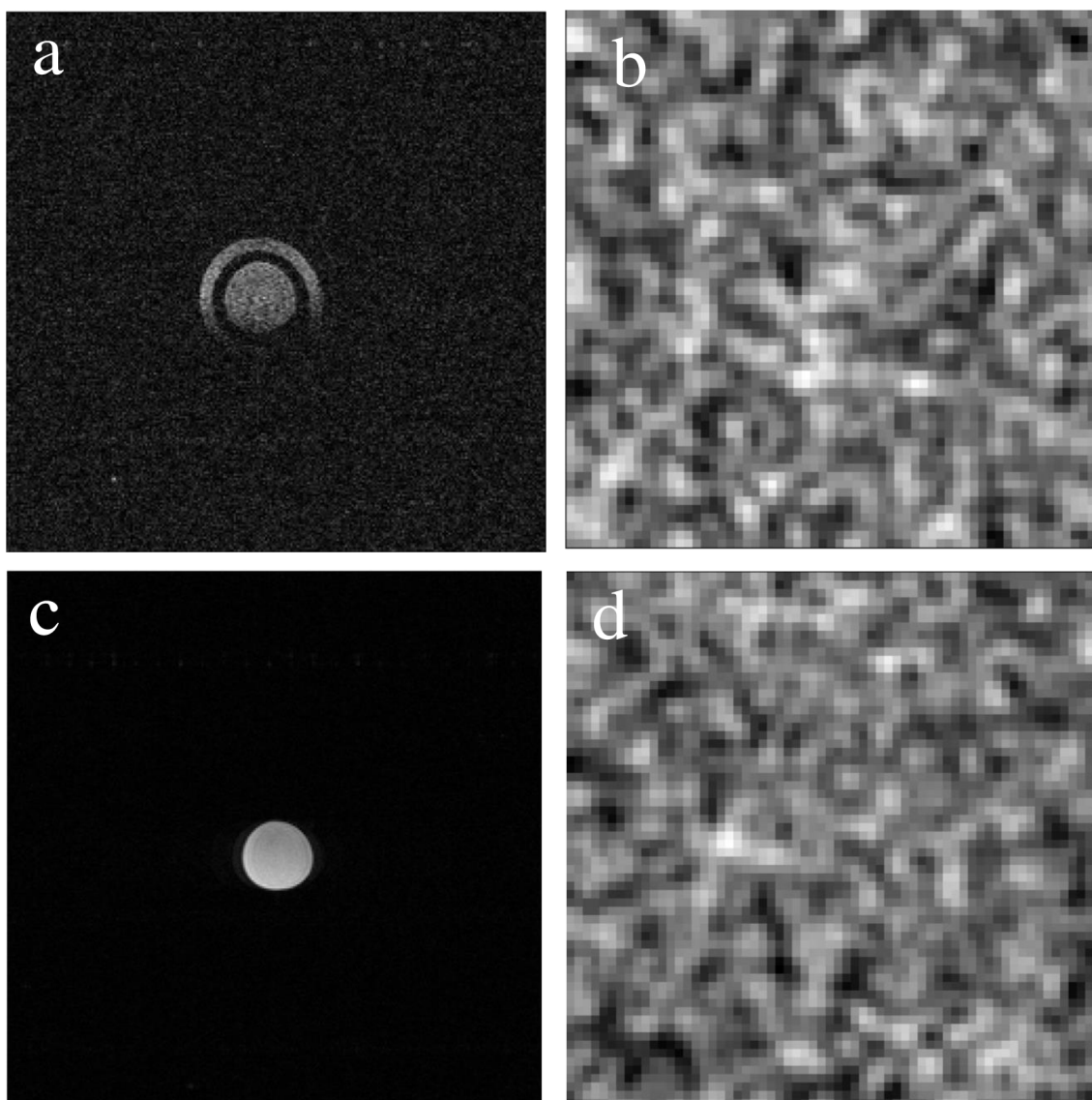
Obr. 37b Výsledky MRS látky IK-61 pro 37° C

SNR půlhodinového měření je 23,44 pro 15° C a 15,52 pro 37° C. I na tomto je jasně patrný vliv teploty na MR vlastnosti látky.

Tab. 8 Výsledky MRS látky IK-61 pro 15° C a 37° C

	15° C				37° C			
AV	Max. Amplituda	St. odchylka	Signál-šum	SNR	Max. Amplituda	St. odchylka	Signál-šum	SNR
20s	6,22E+05	1,02E+05	4,28E+06	4,01	8,18E+05	8,34E+04	1,16E+07	6,42
6m	8,78E+06	3,96E+05	3,24E+08	14,52	6,27E+06	4,04E+05	2,58E+08	10,16
30m	3,51E+07	9,81E+05	1,69E+09	23,44	2,57E+07	1,09E+06	1,53E+09	15,52
1h	7,24E+07	1,95E+06	3,30E+09	24,35	4,96E+07	1,47E+06	3,02E+09	22,12

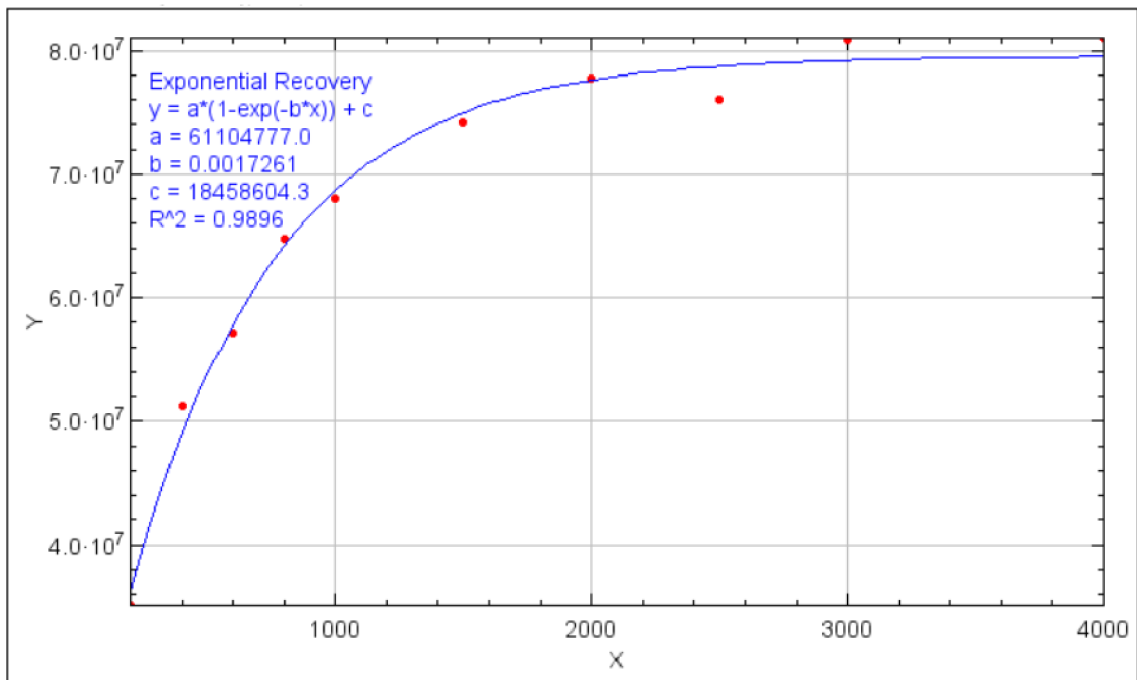
Na MR zobrazování bohužel nebyl ani pro jednu teplotu zjistitelný žádný signál, Proto nemohlo být hodnoceno SNR.



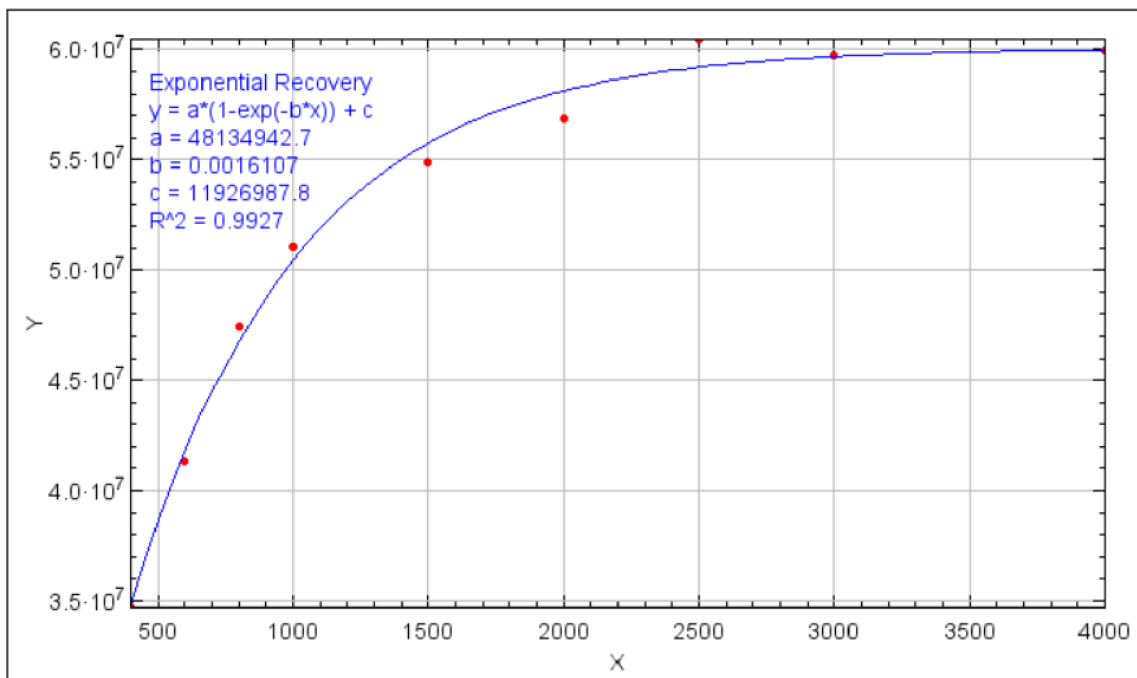
Obr. 38 Výsledky MRI látky IK-61

- a. ^1H referenční zobrazení pro teplotu 15°C
- b. Měření CSI s měřicí dobou 60 min pro teplotu 15°C
- c. ^1H referenční zobrazení pro teplotu 37°C
- d. Měření CSI s měřicí dobou 60 min pro teplotu 37°C

T_1 relaxometrie ukázala pro teplotu 15° relaxační čas T_1 579,34 ms a pro teplotu 37°C o něco delší 620,85 ms.

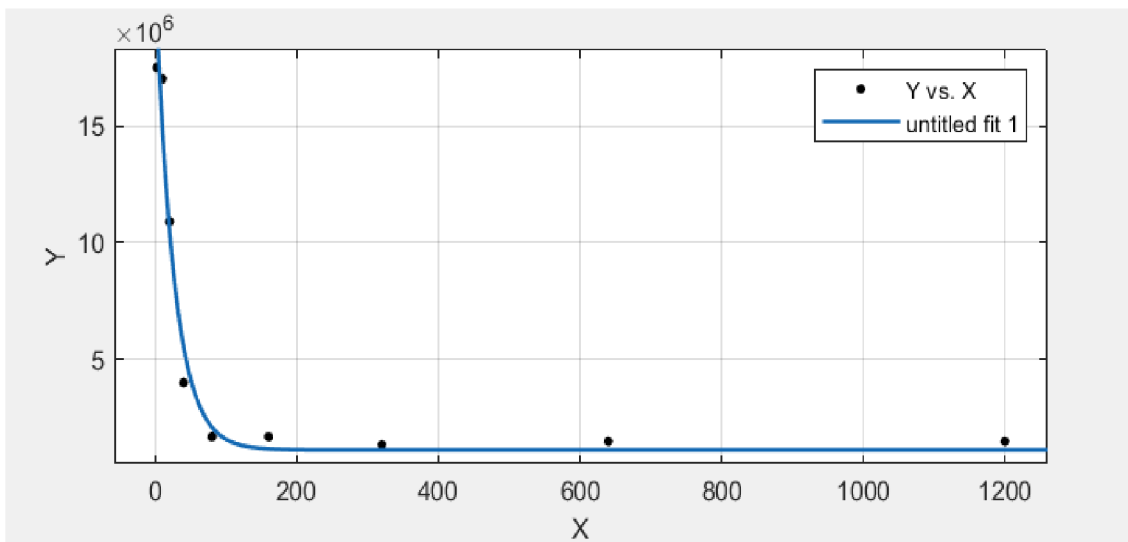


Obr. 39a T_1 křivka látky IK-61 pro teplotu 15° C

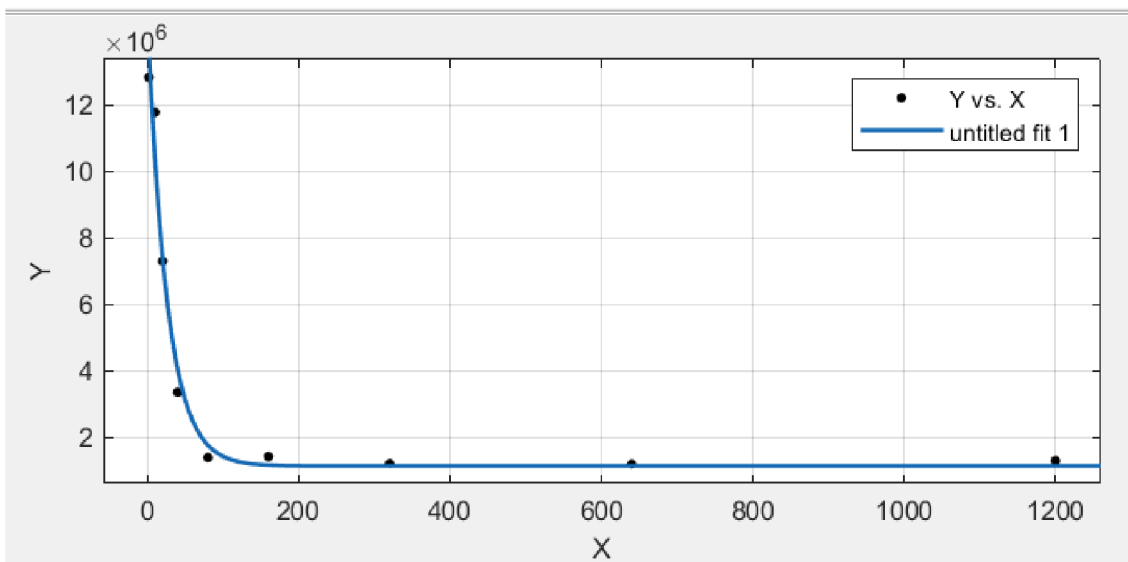


Obr. 39b T_1 křivka látky IK-61 pro teplotu 37° C

T_2 relaxometrie ukázala pro obě teploty výsledky velmi podobné, pro teplotu 15° C byl relaxační čas T_2 26,45 ms a pro teplotu 37° C 26,06 ms.



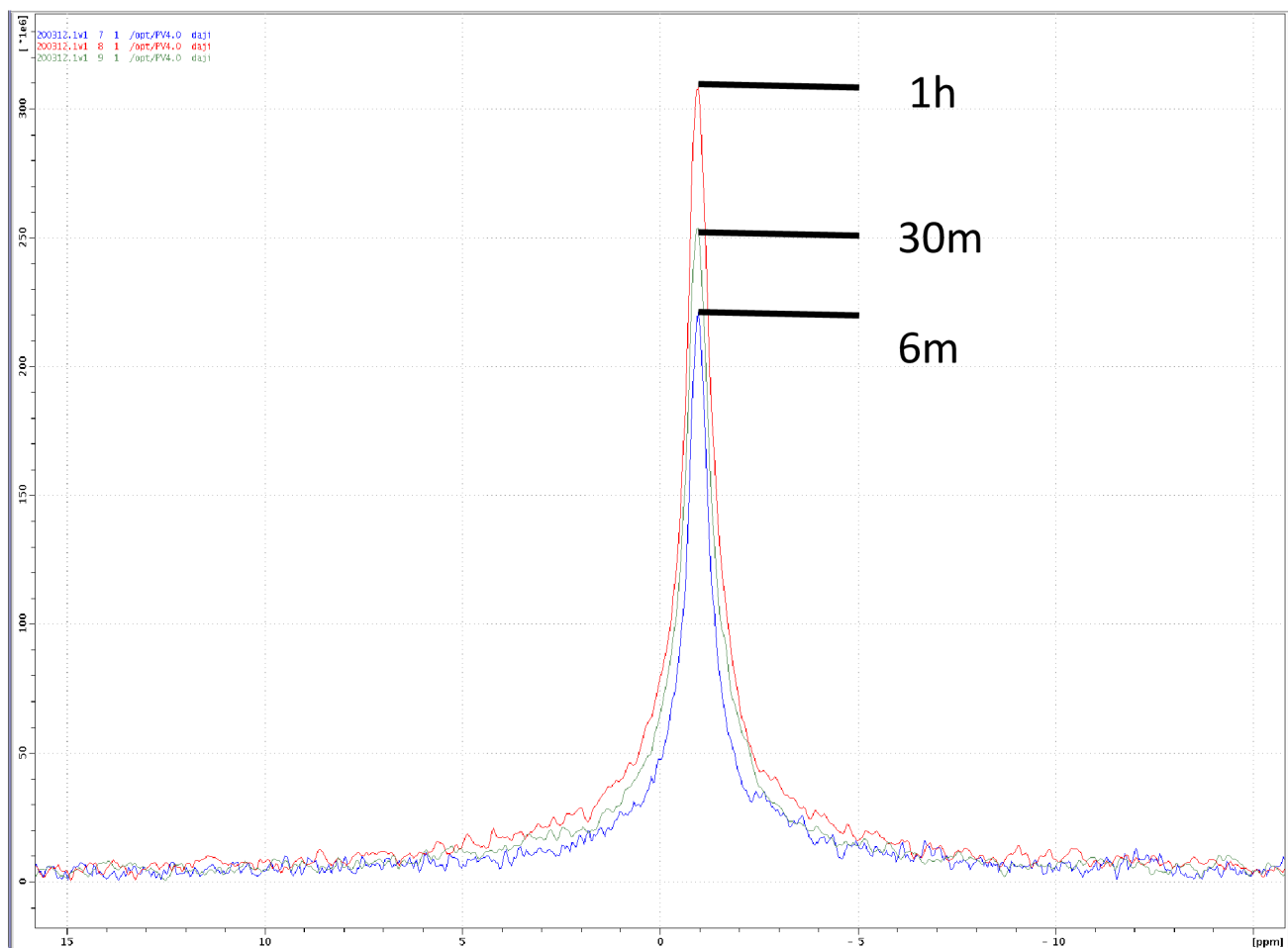
Obr. 39c T₂ křivka látky IK-61 pro teplotu 15° C



Obr. 39c T₂ křivka látky IK-61 pro teplotu 37° C

2.2.7 LW-330

Látka LW-330 již na první pohled vykazuje podstatně lepší výsledky, než látky ostatní. Tuto kvalitu usuzujeme podle vysoké intenzity signálu, nízké šířce a pravidelného tvaru spektrální čáry. Bohužel se kvůli technické závadě nepodařilo změřit 20sekundové měření, dle předpokladu by i to bylo jasně rozlišitelné. Pro srovnání a vyhodnocení však není důležité, proto postačí ostatní tři měření. SNR 30minutového měření bylo 53,36.



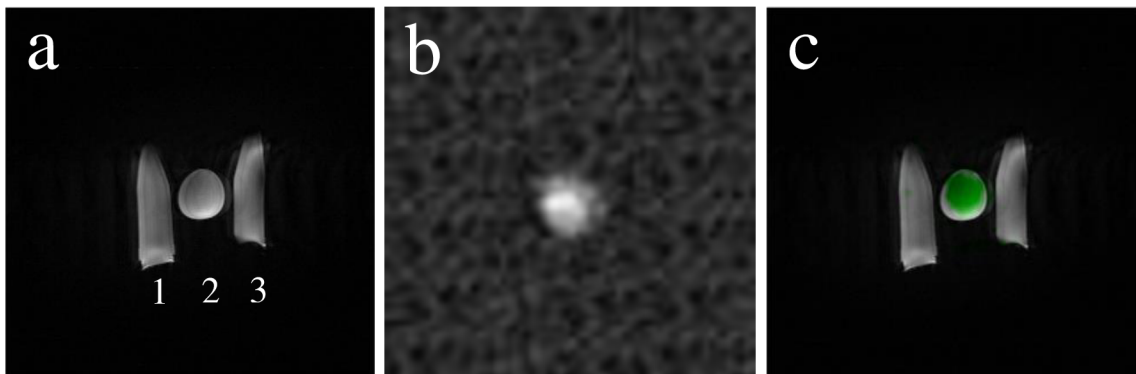
Obr. 40 výsledky MRS látky LW330

SNR 30minutového měření bylo 53,36.

Tab. 9 výsledky MRS látky LW330

t [m]	Amplituda	St. odchylka	Signál-šum	SNR
6	2,95E+07	5,14E+05	1,34E+09	37,63
30	1,26E+08	1,54E+06	5,91E+09	53,36
60	2,53E+08	2,62E+06	1,20E+10	63,41

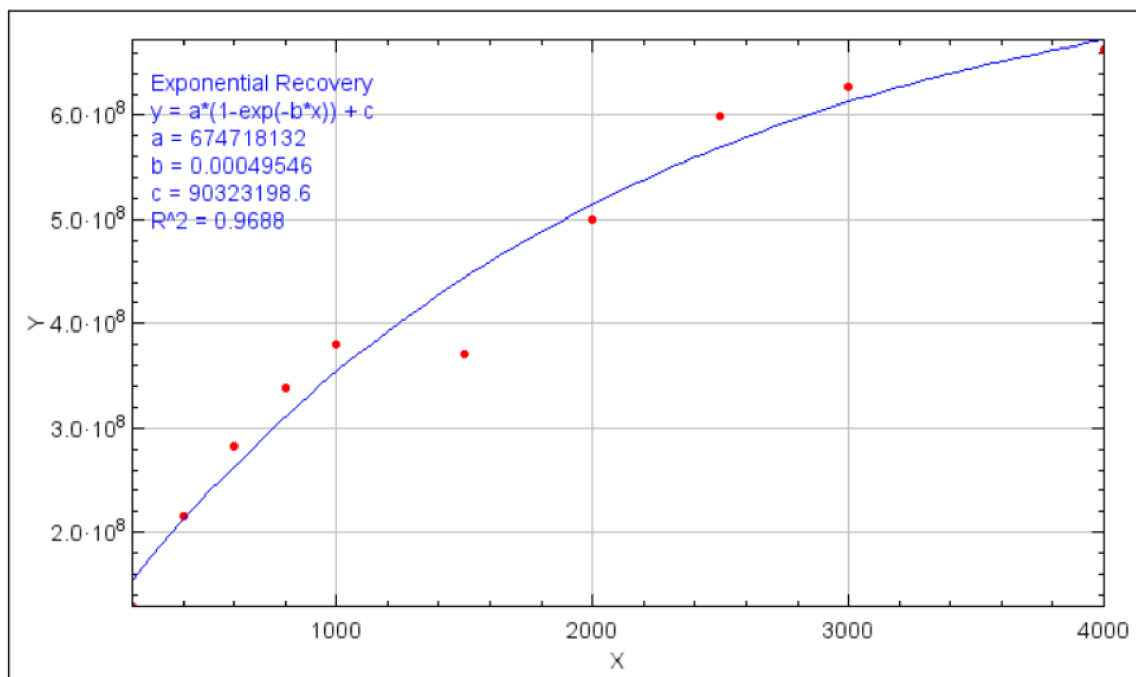
Velmi dobré výsledky látky LW-330 jsou jasně patrné i pouhým okem i na MR zobrazování, kde vystupuje několikanásobně méně šumu a zároveň vzorek samotný je velmi jasně viditelný a homogenní. SNR na MR zobrazení bylo v tomto případě 10,31.



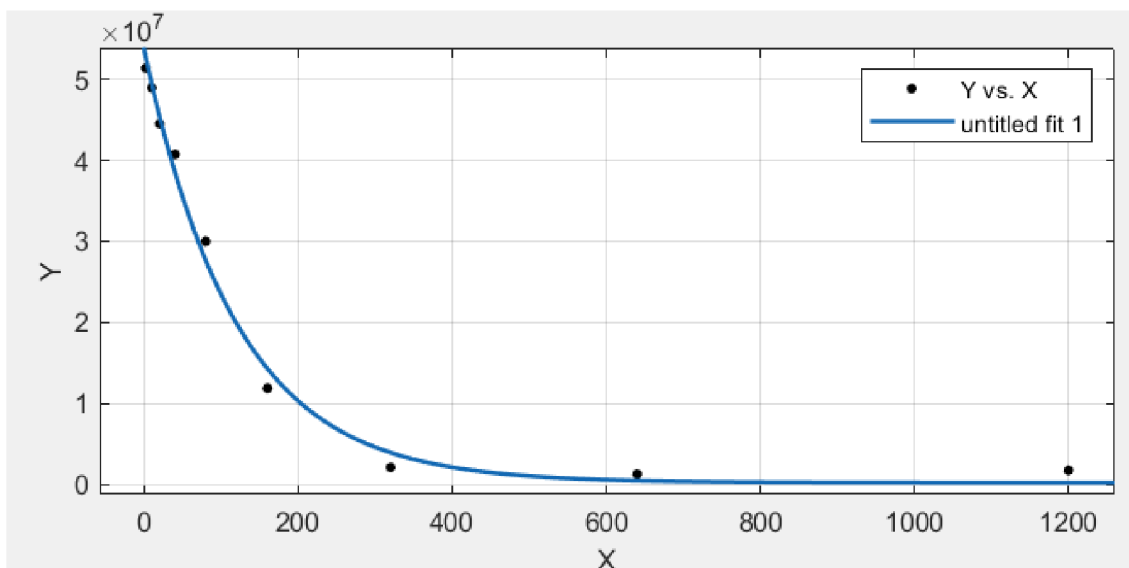
Obr. 41 výsledky MRI látky LW330

- a. ^1H referenční zobrazení (1 – voda, 2 – proba, 3 – voda)
- b. Měření CSI s měřicí dobou 60 min
- c. Přeložení obou zobrazení

relaxační časy vzorku LW-330 byly o něco delší, než u vzorků ostatních, relaxační čas T_1 byl 2018,33 ms a relaxační čas T_2 119,90 ms.

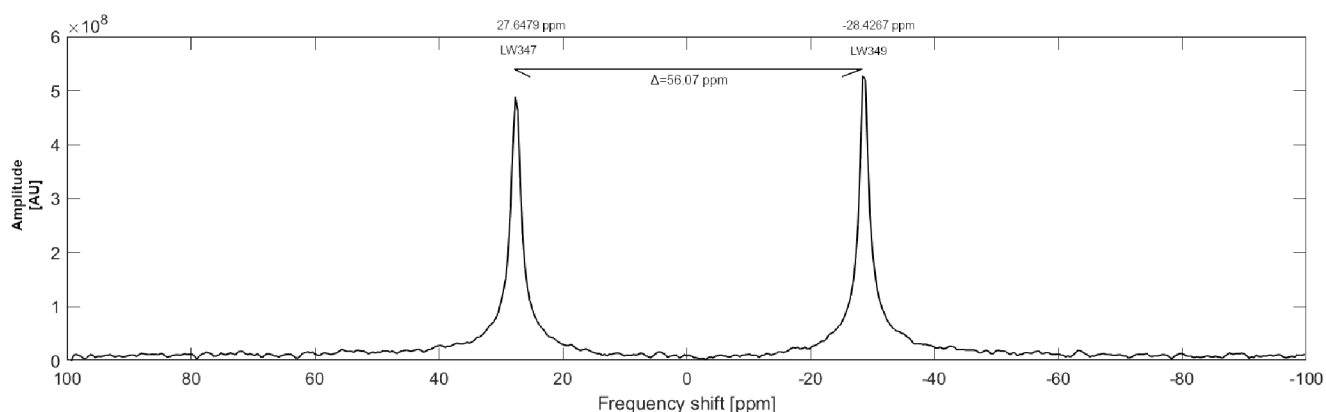


Obr. 42a T_1 křivka látky LW330



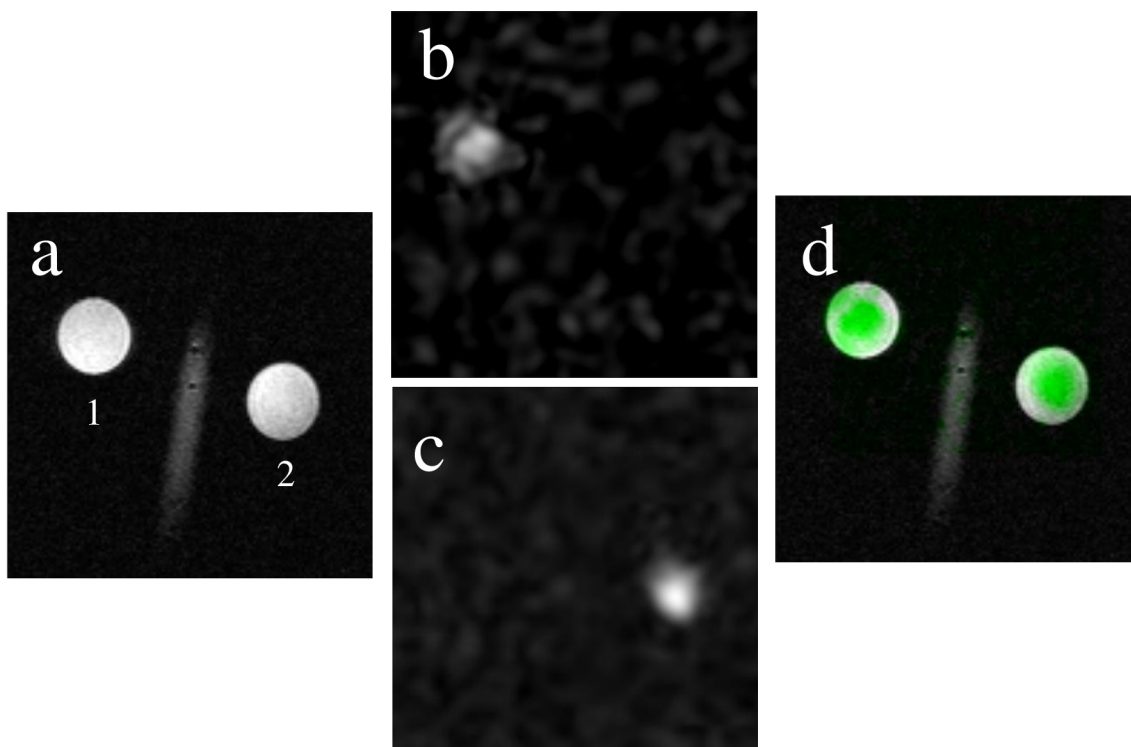
Obr. 42b T₂ křivka látky LW330

Protože se jedná o vzorek mající dle předpokladu znatelný chemický posun od biogenních fosfor-obsahujících látek, a zároveň o vzorek, který vykazoval nejlepší výsledky jak v MR spektroskopii, tak v MR zobrazování, bylo provedeno opakování pokusu pro ověření tohoto chemického posunu pomocí MRS a MRI. V rámci tohoto ověření bylo změřeno ve dvou zkumavkách umístěných v MR zobrazovači zároveň, přičemž jedna zkumavka obsahovala látku LW-330 (pTMPC) obsahující thiofosfoesterové (P=S) vazby a jedna látku LW-147 (pMPC) obsahující fosfoesterové vazby (P=O).



Obr. 43 MRS měření látek LW347

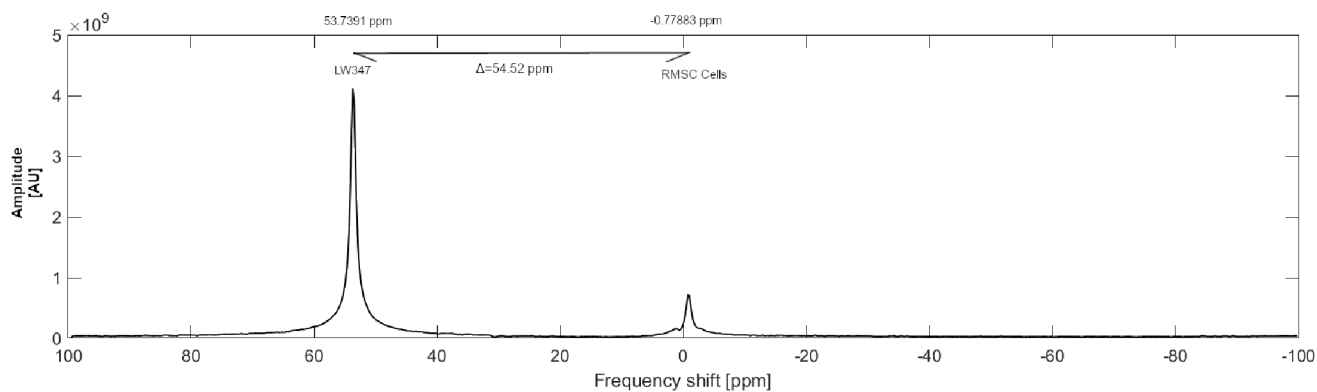
(nová šarže LW330) s fosfoesterovými vazbami (P=S) a LW349 (nová šarže LW147) s fosfothioesterovými vazbami (P=O) ukazující chemický posun mezi těmito látkami 56,07 ppm



Obr. 44 měření MRI látek LW347 a LW349 pomocí CSI

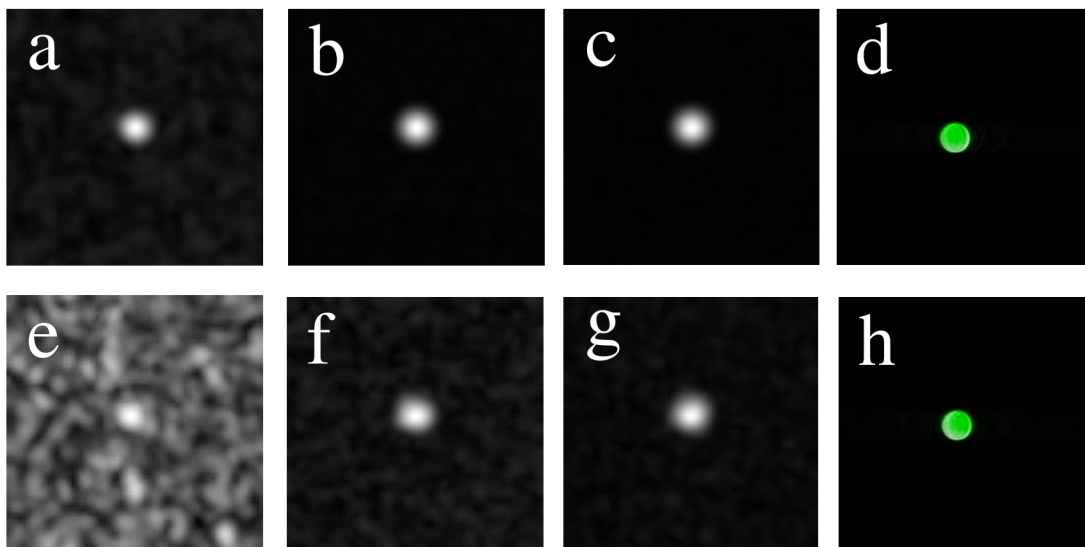
- ^1H referenční zobrazení (1 – LW347, 2 – LW349)
- Měření CSI (frekvenční oblast 22 – 36 ppm)
- Měření CSI (frekvenční oblast -20 – -38 ppm)
- Proložení obou hodnocených oblastí ^{31}P měření a ^1H referenčního zobrazení

Následně bylo stejné ověření provedeno i v biologickém prostředí, kdy ke skupině RMSC buněk byla přidána proba LW-330 a tím byla dokázána přítomnost chemického posunu i v *in vivo* prostředí a tedy i použitelnost této proby v praxi.



Obr. 45 ^{31}P měření RMSC buněk obsahujících látku LW347

(nová šarže LW330) s fosfoesterovými vazbami (P=S). ukazující frekvenční posun 54,52 ppm



Obr. 46 ^{31}P MRI pomocí CSI sekvence

a. – c. ^{31}P CSI zobrazení s dobou trvání 2, 60 a 180 minut pro probu LW347

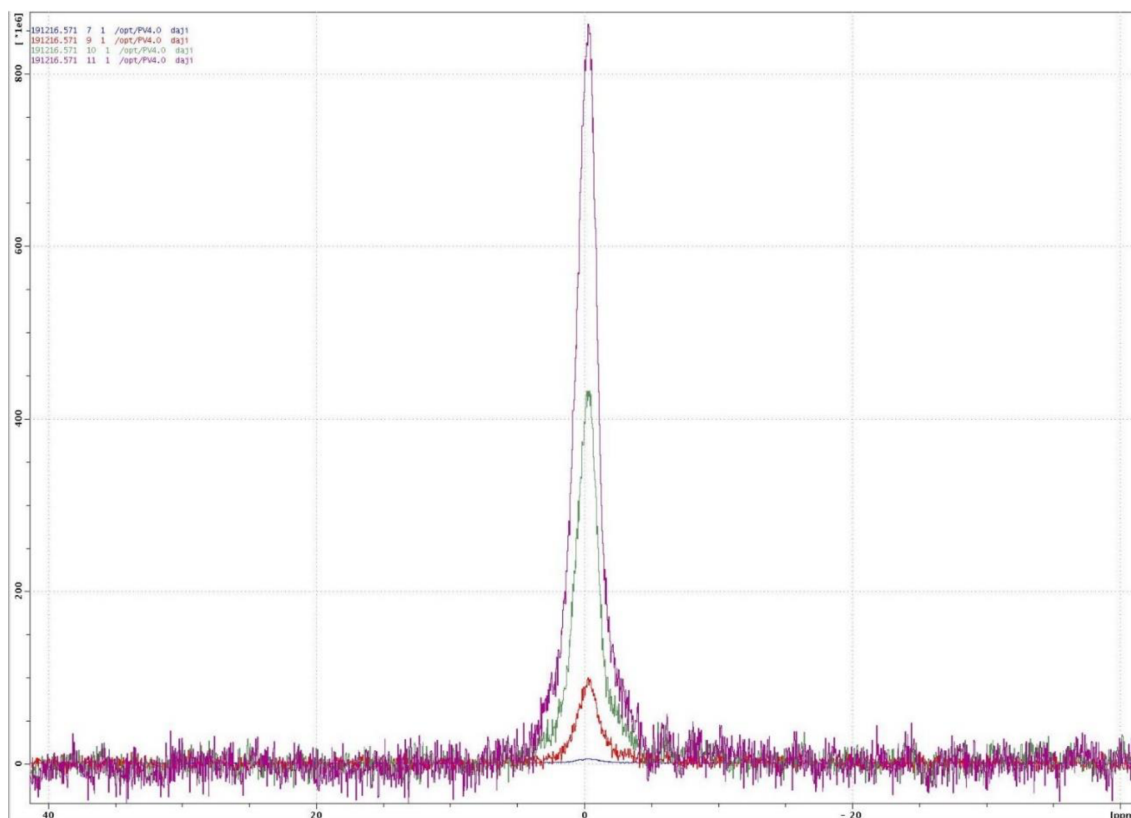
d. přeložení CSI zobrazení pro probu LW347 a vodíkové reference

e. – g. ^{31}P CSI zobrazení s dobou trvání 2, 60 a 180 minut pro RMSC buňky

h. přeložení CSI zobrazení pro RMSC buňky a vodíkové reference

2.2.8 LW323- FeCl_3

MR spektroskopie vzorku LW323- FeCl_3 ukazuje velmi kvalitní výsledky a proto je látka vhodná k použití. SNR půlhodinového měření bylo v tomto případě 51,13.



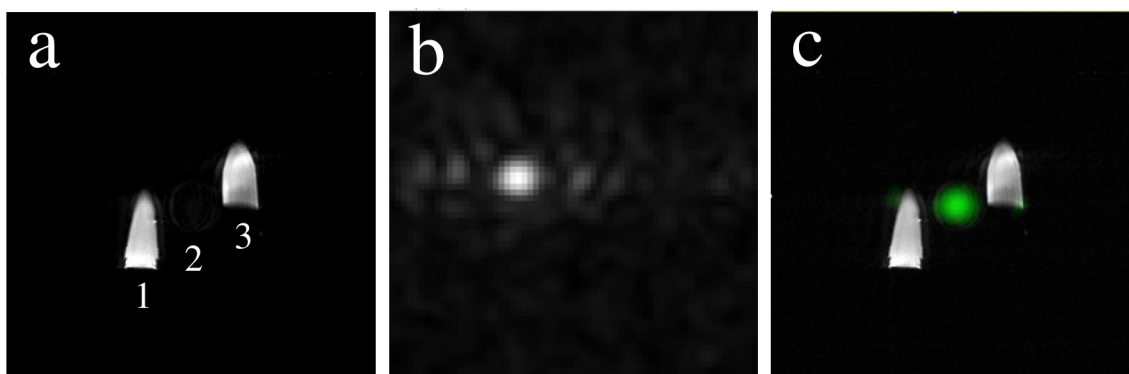
Obř. 47 vřsledky MRS lřtky LW323- FeCl₃

SNR přřhodinovřho mřření bylo v tomto přřpadě 51,13.

Tab. 10 vřsledky MRS lřtky LW323- FeCl₃

T [min]	Max. amplituda	St. odchylka	Signřl-řum	SNR
0.4	6,41E+07	1,15E+06	3,17E+09	36,63
6	6,27E+07	1,26E+06	3,13E+09	32,54
30	2,85E+08	3,65E+06	1,44E+10	51,13
60	5,65E+08	6,23E+06	2,89E+10	59,43

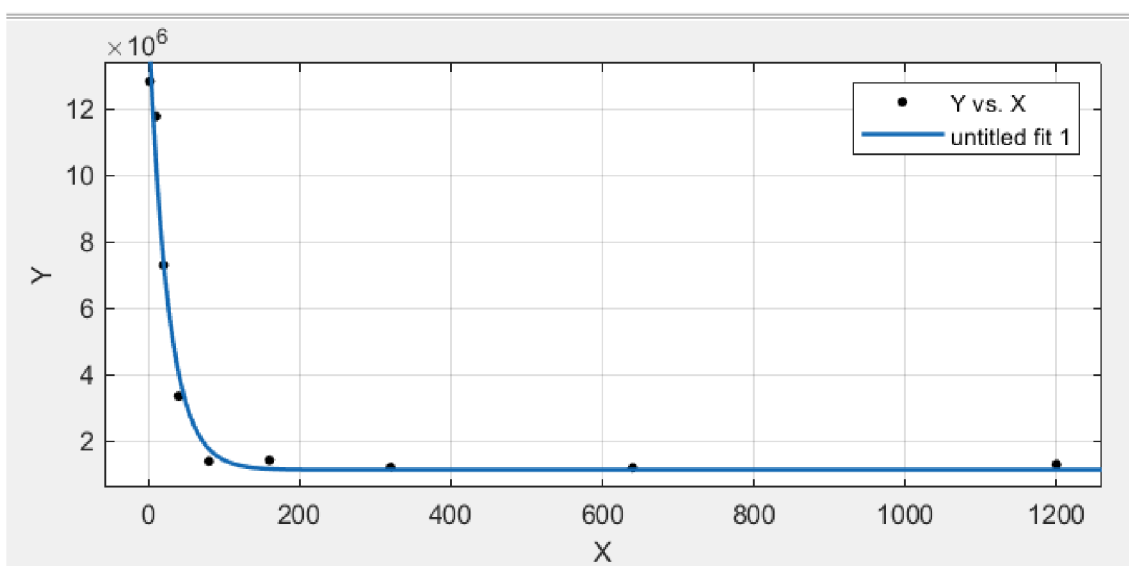
MR zobrazování velmi dobře ukazuje efekt železa v látce obsaženého na T_2 relaxace jader vodíku, kdy tato je natolik krátká, že nelze zobrazovací sekvencí tato jádra zobrazit.



Obr. 48 výsledky MRI látky LW323- FeCl_3

- 1H referenční zobrazení (1 – voda, 2 – tracer, 3 – voda)
- Měření CSI s měřicí cdobou 60 min
- Přeložení obou zobrazení

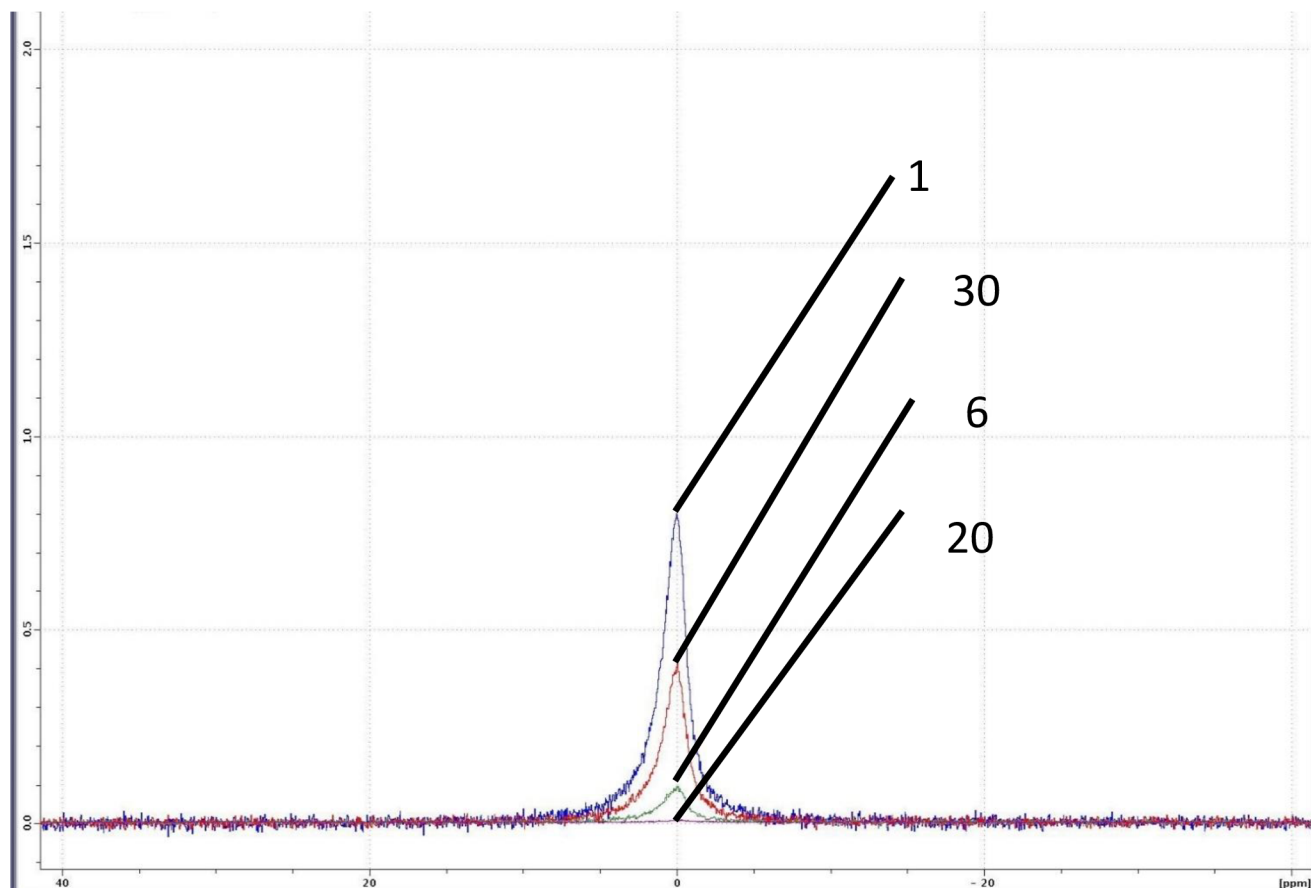
Ionty železa obsažené v této látce mají vliv nejen na relaxaci jader vodíku, ale i na relaxaci jader fosforu. Tento vliv byl natolik silný, že technické možnosti zobrazovače nedovolily změřit T_1 relaxometrickou křivku, neboť již pro nejkratší čas byla jádra již plně zrelaxována. T_2 relaxační čas byl 11,66 ms.



Obr. 49 T_2 křivka látky LW323- FeCl_3

2.2.9 LW324-FeCl₃

Výsledky MRS látky LW324-FeCl₃ byly srovnatelné s látkou předchozí, vystupovalo v naměřených datech méně šumu, proto SNR bylo vyšší, pro půlhodinové měření 75,52.

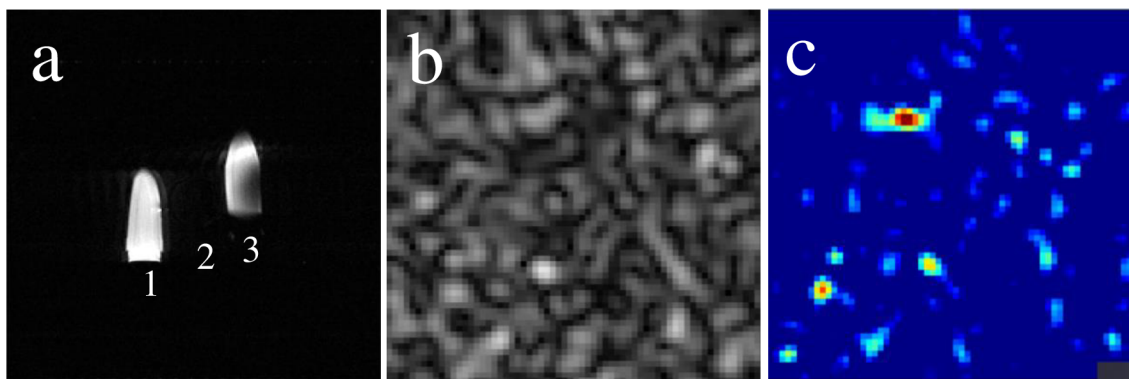


Obr. 50 výsledky MRS látky LW324- FeCl₃

Tab. 11 výsledky MRS látky LW324- FeCl₃

T [min]	Max. Amplituda	St. Odchylka	Signál-šum	SNR
0.4	3,03E+06	1,36E+05	1,27E+08	14,62
6	5,98E+07	8,23E+05	3,10E+09	47,57
30	2,65E+08	2,30E+06	1,38E+10	75,52
60	5,27E+08	4,89E+06	2,76E+10	70,67

Na MR zobrazování nebyl detekován žádný signál, neboť koncentrace atomů železa je v případě této látky ještě vyšší. To ovlivňuje T_2 relaxace natolik, že není možné zobrazovací sekvencí látku zobrazit.



Obr. 51 výsledky MRI látky LW324- FeCl_3

- a. ^1H referenční zobrazení (1 – voda, 2 – proba, 3 – voda)
- b. Měření CSI s měřící dobou 60 min
- c. Přeložení obou zobrazení

Stejný efekt železa ovlivňující relaxace ^{31}P jader, stejně jako v případě látky LW-323- FeCl_3 , znemožňuje měření T_1 relaxační křivky. Relaxační křivka T_2 je již na pohled viditelně strmá, relaxační čas T_2 je v tomto případě 3,05 ms.

2.2.10 LW323- Fe_2O_3 a LW324- Fe_2O_3

V případě těchto posledních dvou látek je vliv železa natolik veliký, že nelze zachytit žádný signál.

2.3 Výsledky

V první fázi tohoto experimentu byly charakterizovány 4 polymerní chemické látky, které byly dodány 24. 01. 2020. Po charakterizaci byly látky porovnány a podle výsledků tohoto srovnání bylo pro další pokračování experimentu syntetizováno 5 nových látek.

Pro čtvrtou fázi experimentu, již byl *in vivo* experiment byl vybrán jeden nejlepší vzorek z fáze druhé.

V první fázi se jako nejlepší ukázal vzorek LW147-N3, tedy lineární homopolymer obsahující fosfoesterové vazby, jehož jednotka je odvozena od 2-methacryloyloxyethylphosphorylcholinu (MPC). Tento vzorek poskytoval nejvíce užitečného signálu jak na MR spektroskopii tak na MR zobrazování a i jeho relaxační časy byly ze zkoumaných látek nejkratší, avšak dostatečně dlouhé na to aby umožňovaly detekci na MR zobrazení.

Po skončení první fáze bylo dodáno dalších 5 látek, z nichž většina byla odvozena právě od MPC jádra, které bylo vybráno jako nejlepší ve fázi první.

Prvním vzorkem byl vzorek LW-330, který byl s vzorkem LW-147 v podstatě totožný, s tím rozdílem, že zde byla fosfoesterová vazba nahrazena vazbou fosfotioátovou, což bylo základem předpokladu, že spektrální čára této proby bude mít oproti biogenním fosfor-obsahujícím látkám chemický posun, tento předpoklad se potvrdil jak v *in vitro* prostředí v porovnání s jinou probou, tak i v *in vivo* prostředí, kdy byla proba LW-330 navázán na buněčné kultury RMSC. V obou případech byl signál proby jasně odlišitelný s odstupem 49 ppm od traceru IK55 a 54 ppm od buněčných kultur.

Další dvojicí látek byly lineární homopolymery obsahující fosfazenové vazby IK-55 a IK-61, vzájemně se lišící délkou monomerních řetězců. Původní předpoklad, že tyto látky by mohly mít podobné vlastnosti, se nepotvrdil, neboť látka IK-61 poskytovala na MR spektroskopii velmi málo užitečného signálu a na MR zobrazení nebyla detekovatelná vůbec. Oproti tomu látka IK-55 poskytovala na MR spektroskopii i zobrazování výsledky srovnatelné s výše zmiňovanou látkou LW330.

Třetí fázi experimentu tvořily látky multimodální, tedy sloužící zároveň jako markery pro ^{31}P MRI i jako kontrastní látky pro ^1H MRI.

První dvojicí těchto látek byla dvojice látek LW323- FeCl_3 a LW324- FeCl_3 , obsahující DFA/ Fe^{3+} skupiny přichycené k pMPC řetězci přes stabilní amidovou vazbu. Tento obsah železitých iontů umožní využití této látky jako multimodální, jako kontrastní látky pro ^1H zobrazování i traceru pro ^{31}P zobrazování a spektroskopii. Rozdíl mezi těmito látkami je ve struktuře polymerního řetězce. Zatímco LW323 je lineární homopolymer obsahující jednu koncovou DFA/ Fe^{3+} skupinu, LW324 je statistický kopolymer obsahující 4.7 mol.% DFA/ Fe^{3+} skupin náhodně distribuovaných podél polymerního řetězce. Obě tyto kontrastní látky poskytují na MR spektroskopii velký podíl užitečného signálu, obsah železa však velmi deformuje magnetické pole v jejich

okolí a urychluje tak relaxační časy, především T_2 . Důsledkem tohoto jevu se kvůli technickým možnostem spektrometru nepodařilo změřit ^{31}P T_1 relaxometrie obou vzorků a zobrazení vzorku LW324, jehož koncentrace železa a tedy i vliv na relaxace je oproti druhému vzorku ještě vyšší.

Poslední dvojici látek měřených v rámci tohoto experimentu je dvojice LW323- γ - Fe_2O_3 a LW324- γ - Fe_2O_3 . Tato dvojice je velmi podobná dvojici předchozí, rozdíl je v železité částici. Zatímco v předchozí dvojici bylo železo vázané v deferoxaminové skupině, v tomto případě jsou monomerní řetězce vázány k maghemitovému jádru. Motivací k vytvoření těchto látek bylo zvýšení obsahu železa a zvýšení velikosti částic.

Bohužel v tomto případě nebyl detekován žádný signál ani na MR zobrazování ani na MR spektroskopii, neboť obsah železa a tedy působení na relaxační procesy je příliš vysoký.

3 Závěr

Cílem tohoto projektu bylo charakterizovat a porovnat nové polymerní kontrastní látky pro ^{31}P magnetickou rezonanci vytvořené ve spolupráci s Akademií Věd České Republiky, Ústavem makromolekulární chemie. Jedná se o první unikátní kontrastní látky pro ^{31}P MR, dosud takové látky nebyly publikovány ani patentovány.

Pro hodnocení dat z MR spektroskopie byl ve vývojovém prostředí MATLAB vytvořen v rámci diplomové práce nový nástroj pro analýzu MR spekter. Tento nástroj lze použít na jakékoli spektroskopická data z experimentálního stroje 4,7 T a využívá se v laboratoři Molekulárního zobrazování IKEM. Tímto nástrojem jsme kvantifikovali také ^{31}P MR data a porovnávali testované ^{31}P MR kontrastní látky.

V první fázi se jednalo o porovnání 4 kontrastních látek různé struktury a cílem bylo vybrat neoptimálnější kontrastní látku. Jako struktura s nejlepšími výsledky byl vybrán pro pokračování experimentu polymer označený LW147, tedy chemickou podstatou poly(2-methacryloyloxyethylphosphorylcholin). Tento polymer vykazoval velmi dobré výsledky z hlediska intenzity signálu, SNR i relaxačních časů.

V druhé fázi byl adresován zásadní problém ^{31}P kontrastních látek spočívající v překryvu signálu próby a biogenního fosforu. Zvoleným řešením tohoto problému byla náhrada fosfoesterových vazeb vazbami jinými. Opět v této fázi bylo představeno několik přístupů, z nichž jako nejlepší byl vyhodnocen polymer LW-330, tedy opět

polymer na základě pMPC, kde byla fosfoesterová vazba nahrazena vazbou thiofosfoesterovou. V této práci jsem ověřil, že jsme schopni jednoznačně odlišit signál kontrastní látky od biogenního fosforu. To umožňuje použít tyto látky pro tzv. hot spot zobrazování, protože signál s takovými rezonančními frekvencemi se přirozeně v živém organismu nevyskytuje.

Ve třetí fázi byla testována možnost použití polymerních kontrastních látek jako multimodálních kontrastních látek pro ^1H i ^{31}P magnetickou rezonanci. Zde byly představeny dva přístupy, vazání polymeru pTMPC na atomární nebo koloidní železo. Všechny kontrastní látky třetí fáze obsahovaly příliš vysokou koncentraci železa a byly tedy velmi obtížně zobrazitelné.

V rámci celého experimentu byl jako nejvhodnější pro další použití vybrán vzorek s označením LW-330, tedy polymer pTMPC. Tento vzorek poskytoval dostatečnou intenzitu signálu, dostatečné SNR a jeho signál měl dostatečný chemický posun od signálu fosfoesterových vazeb obsažených v biogenním prostředí. Zároveň je možné jej snadno definovaně připravit a je netoxický, což velmi usnadňuje potenciální použití v klinické praxi. Dále bylo zjištěno, že polymer pTMPC reaguje na přítomnost reaktivních forem kyslíku (ROS) metabolickou oxidací thiofosfoesterových vazeb na fosfoesterové. Reaktivní formy kyslíku jsou vysokou měrou přítomny v oblastech zánětů nebo nádorů. Polymer pTMPC je tedy potenciálně použitelný jako indikátor oxidativního stresu.

Jedním z výstupů této práce jsou data použita v článku *Phosphorus-Containing Polymeric Zwitterion: A Pioneering Bioresponsive Probe for ^{31}P -Magnetic Resonance Imaging* publikovaném v impaktovaném vědeckém časopise *Macromolecular Bioscience* (IF = 5.859) a další manuskript se odeslal do recenzního řízení.

Seznam použité Literatury

1. EDELMAN, Robert R. The History of MR Imaging as seen through the Pages of Radiology. *Radiology*. 2014, Sv. 273, 2.
2. *Klinické systémy magnetické rezonance: vývoj za.* TINTĚRA, Jaroslav. 2017, Česká Radiologie, stránky 243-259.
3. BENEŠ, Jiří, JIRÁK, Daniel a VÍTEK, František. *Základy lékařské fyziky*. Praha : Carolinum, 2015. 978-80-246-2645-1.
4. OLDENDORF, William. *Basics of magnetic resonance imaging*. Boston : Martinus Nijhoff Publishing, 1988.
5. *Neuroradiological history: Sir Joseph Larmor and the basis of MRI physics.* TURBIDY, Niall. 2000, *Neuroradiology*, stránky 852-855.
6. JAMES, Thomas L. *Fundamentals of NMR*. San Francisco : University of California, 1998.
7. BROWN, Robert W. *Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design*. New Jersey : John Wiley & Sons, 2014.
8. ELSTER, Allen D. Gradient-echo MR imaging: Techniques and acronyms. *Radiology*. 1993, 186.
9. BERNSTEIN, Matt A., KING, Kevin F. a ZHOU, Xiaohong Joe. *Handbook of MRI Pulse Sequences*. Burlington : Elsevier, 2004. 0-12-092861-2.
10. BLOCH, Felix. Nuclear induction. *Physical Review*. 1946, Sv. 70, 7.
11. Glossary of MRI terms. *The American college of radiology*. [Online] www.acr.org/-/media/ACR/Files/Radiology-Safety/MR-Safety/MRGlossary.pdf?la=en.
12. *Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques: Lessons for Clinicians.* GROVER, V.P.B. et al. 2020, *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, stránky 355-376.
13. MCROBBIE, Donald W. *MRI from picture to proton*. Cambridge : Cambridge University Press, 2003.

14. MÍRKA Hynek et al. Diagnostika nádorů měkkých tkání pomocí magnetické rezonance. *Česká radiologie*. 15. 08 2012, stránky 410-419.
15. WEISSHAUPT, Dominik. *How does MRI work?: An introduction to the physics and function of Magnetic Resonance Imaging*. Berlin : Springer, 2008.
16. PIETERMAN, K., DAM, J. A. M. a POSTMA, H. Low Temperature Closed Cooling System for MRI Magnets. *Advances in Cryogenic Engineering*. New York : Springer, 1986.
17. WAGNEROVÁ, D., a další. Využití kombinace metod magnetické rezonance pro diagnostiku tumorů. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*. 2011, Sv. 74, 107.
18. PARKER, Geoff J. M. Magnetic Resonance Imaging (MRI) In Drug Development. *Drug development world*. 2016, Sv. Winter 2015/16.
19. BOTTOMLEY, Paul A. a GRIFFITHS, John R. *Handbook of magnetic resonance spectroscopy In Vivo. MRS Theory, Practice and Applications*. Chichester : John Wiley & Sons, 2014.
20. KONSTANDIN, Simon a SCHAD, Lothar R. 30 years of sodium/X-nuclei magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*. 2014, Sv. 27, 1.
21. KELLER, Philip. Values of Gyromagnetic ratios. *metrolab*. [Online] 08. 03 2017. <https://www.metrolab.com/wp-content/uploads/2017/03/Values-of-Gyromagnetic-Ratios.pdf>.
22. *X-nuclei imaging: Current state, technical challenges and future directions*. HU, R. et al. 2020, *Journal of magnetic resonance imaging*, stránky 355-376.
23. *Phosphorus magnetic resonance spectroscopy and imaging (P-31-MRS/MRSI) as a window to brain and muscle metabolism: A review of the methods*. SANTOS-DIAZ, A. a NOSEWORTHY, M. D. 2020, *Biomedical Signal Processing and Control*.
24. *spectroscopy in food analysis*. SPYROS, A. a DAIS, P. 2009, *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, stránky 195-207.
25. *Gadolinium as an MRI contrast agent*. KIM, H. K., LEE, G. H. a CHANG, Y. 2018, *Future medicinal Chemistry*, stránky 639-661.

26. *MRI contrast agents: Classification and application (Review)*. XIAO, Y. D. et al. 2016, *Int J Mol Med*, stránky 1319-1326.
27. *Natural Products Containing 'Rare' Organophosphorus Functional Groups*. PETKOWSKI, J. J., BAINS, W. a SEAGER, S. 2019, *Molecules*.
28. *Polymer therapeutics-prospects for 21st century: The end of the beginning*. DUNCAN, R. a VINCENT, M. J. 2013, *Advanced Drug Delivery Reviews*, stránky 60-70.
29. *Phosphorus-Containing Polymeric Zwitterion: A Pioneering Bioresponsive Probe for 31 P-Magnetic Resonance Imaging*. LAGA, Richard et al. 2022, *Macromolecular Bioscience*.
30. WESTBROOK, Catherine. *Handbook of MR technique*. New Jersey : John Wiley & Sons, 2013.
31. PALLIER, Christophe. Signal to noise ratio in MRI. *Christophe Pallier*. [Online] 18. 12 2015. [Citace: 15. 04 2019.] <http://www.pallier.org/pdfs/snr-in-mri.pdf>.
32. *Biocompatible and Biodegradable Fe³⁺-Melanoidin Chelate as a Potentially Safe Contrast Agent for Liver MRI*. LEE, M. Y. et al. 2018, *J Gastroenterol*, stránky 2426-2435.
33. *Noise in Magnitude Magnetic Resonance Images*. CÁRDENAS-BLANCO, Arturo et al. 2008, *Concepts in Magnetic Resonance*.
34. *Measurement of signal-to-noise ratios in MR images: Influence of multi-channel coils, parallel imaging, and reconstruction filters*. DIETRICH, Olaf et al. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*.
35. *The Rician Distribution of Noisy MRI Data*. GUDBJARTSSON, Hákon a PATZ, Samuel. 1995, *Magnetic resonance medical*.
36. *Paramagnetic Metal Complexes as Water Proton Relaxation Agents for NMR Imaging: Theory and Design*. LAUFER, Randall B. 1987, *Chemical reviews*.
37. *Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption*. BLOEMBERGEN, N., PURCELL, E. M. a POUND, R. V. 1948, *Physical review*.

38. *ADVANCES IN MAGNETIC RESONANCE: Formal Theory of Spin–Lattice Relaxation*. GOLDMAN, Maurice. 2000, Journal of Magnetic Resonance.

39. *Is Quantum Mechanics necessary for understanding Magnetic Resonance?* HANSON, Lars G. 2008, Concepts in Magnetic Resonance.

40. *Spin Echo Magnetic Resonance Imaging*. JUNG, Bernd André a WEIGEL, Matthias. 2013, JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING.