



## Diplomová práce

# Nástroje pro zpracování dat z magnetické rezonanční spektroskopie

*Studijní program:*

N0914P360003 Biomedicínské inženýrství

*Autor práce:*

**Bc. Dominik Havlíček**

*Vedoucí práce:*

doc. Ing. Daniel Jiráček, Ph.D.

Fakulta zdravotnických studií

Liberec 2023



## Zadání diplomové práce

# Nástroje pro zpracování dat z magnetické rezonanční spektroskopie

|                          |  |
|--------------------------|--|
| <i>Jméno a příjmení:</i> | <b>Bc. Dominik Havlíček</b>            |
| <i>Osobní číslo:</i>     | D21000152                              |
| <i>Studijní program:</i> | N0914P360003 Biomedicínské inženýrství |
| <i>Zadávací katedra:</i> | Fakulta zdravotnických studií          |
| <i>Akademický rok:</i>   | 2022/2023                              |

## Zásady pro vypracování:

### Cíle práce:

- 1) Popsat princip a možnosti využití metody magnetické rezonanční spektroskopie.
- 2) Vytvoření programu pro zpracování dat naměřenými spektroskopickou metodou typu single-voxel.
- 3) Vytvoření programu pro zpracování dat naměřenými metodou spektroskopického zobrazování.
- 4) Ověření funkčnosti programů na experimentálních měřeních.

### Teoretická východiska:

Magnetická rezonanční spektroskopie (MRS) je neinvazivní diagnostická metoda, která poskytuje informace o biochemickém složení sloučenin, tkání apod. V současnosti je v oblasti diagnostického zobrazování kladen důraz na vývoj nových kontrastních látek a MRS je jednou ze základních metod používanou pro jejich charakterizaci. Pro správné a efektivní vyhodnocení spektroskopických dat musí být k dispozici software, jenž umožňuje zpracovat a charakterizovat naměřená data. Proto by měl software nabízet širokou škálu nástrojů pro zpracování dat (např. apodizace, kvantifikace MRS signálu apod.), robustnost a taktéž uživatelský komfort. Na pracovišti Laboratoře experimentální magnetické rezonance (MR) v Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM), zabývající se preklinickým výzkumem, kde budou probíhat experimentální měření, není takový nástroj k dispozici. Z tohoto důvodu je nutný vývoj univerzálního programu, který by odpovídal zadaným požadavkům pro vyhodnocení spektroskopických dat. Nástroje, v podobě uživatelských grafických rozhraní, budou vytvořeny v programovacím prostředí MATLAB.

### Výzkumné předpoklady:

- 1) Předpokládáme, že vytvoříme dva navzájem kompatibilní programy pro zpracování MR spektroskopických dat typu single a multi-voxel.
- 2) Předpokládáme, že vytvořené programy umožní zpracování MRS signálu z fantomů i *in vivo* experimentů.
- 3) Předpokládáme, že programy nabídnou uživatelům dostačující množství funkcí pro zpracování, vizualizaci i kvantifikaci naměřených dat.

### Metoda:

Kvalitativní

### Technika práce:

Rešerše, programování, naměření experimentálních dat

### Místo a čas realizace výzkumu:

Laboratoř experimentální magnetické rezonance, Institut klinické a experimentální medicíny, Akademický rok 2022/2023.

### Vzorek:

Fantom, laboratorní zvířata

### Rozsah práce:

Rozsah diplomové práce činí 70–90 stran.

### 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. GRAAF, A. Robin. *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques*. 3rd ed. New Jersey: Wiley. 2019. DOI 10.1002/9781119382461.
2. JIRÁK, Daniel. MR buněčné zobrazování. *Česká radiologie*. 2017, **71**(4), 323-330. ISSN 1210-7883.
3. JIRAK, Daniel et al. Fluorine polymer probes for magnetic resonance imaging: quo vadis? *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*. 2019, **32**, 173-185. DOI 10.1007/s10334-018-0724-6.
4. KRETSCHMER, Jan et al. Paramagnetic encoding of molecules. *Nature Communications*. 2022, **13**(3179). DOI 10.1038/s41467-022-30811-9.
5. MEYERSPEER, Martin et al. 31P magnetic resonance spectroscopy in skeletal muscle: Experts' consensus recommendations. *NMR in Biomedicine*. 2020, **34**(5). DOI 10.1002/nbm.4246.
6. PETERSON, K., K. SRIVASTAVA a V. PIERRE. Fluorinated Paramagnetic Complexes: Sensitive and Responsive Probes for Magnetic Resonance Spectroscopy and Imaging. *Frontiers in Chemistry*. 2018, **6**(160), 1-21. DOI 10.3389/fchem.2018.00160.
7. SHANKER, Rohini et al. Fast data acquisition techniques in magnetic resonance spectroscopic imaging. *NMR in Biomedicine*. 2018, **32**(3). DOI 10.1002/nbm.4046.
8. ŠEDIVÝ, Petr et al. 31P a 19F MR spektroskopie a zobrazování v IKEM. *Česká radiologie*. 2017, **71**(4), 312-322. ISSN 1210-7883.
9. WAHSNER, Jessica et al. Chemistry of MRI Contrast Agents: Current Challenges and New Frontiers. *Chemical Reviews*. 2019, **119**(2), 957-1057. DOI 10.1021/acs.chemrev.8b00363.
10. WILSON, Martin et al. Methodological consensus on clinical proton MRS of the brain: Review and recommendations. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2019, **82**(2), 527-550. DOI 10.1002/mrm.27742.
11. ZIÓŁKOWSKA, Natalia et al. Iron-doped calcium phytate nanoparticles as a bio-responsive contrast agent in 1H/31P magnetic resonance imaging. *Scientific Reports*. 2022, **12**(1), 1-9. DOI 10.1038/s41598-022-06125-7.

Vedoucí práce:

doc. Ing. Daniel Jirák, Ph.D.

Fakulta zdravotnických studií

Datum zadání práce:

25. října 2022

Předpokládaný termín odevzdání: 5. května 2023

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.

## **Poděkování**

Rád bych poděkoval všem, kteří napomohli vzniku této práce, především vedoucímu práce doc. Ing. Danielu Jirákovi, Ph.D. a kolegům z experimentální MR laboratoře, Institut klinické a experimentální medicíny za odborné rady, podněty, ochotu a možnost pracovat na zajímavých projektech. Velké poděkování patří také rodině za neustálou podporu.

## **Anotace**

**Autor:** Bc. Dominik Havlíček

**Instituce:** Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií

**Název práce:** Nástroje pro zpracování dat z magnetické rezonanční spektroskopie

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

**Počet stran:** 72

**Počet příloh:** 5

**Rok obhajoby:** 2023

**Abstrakt:** Práce se zabývá vytvořením nástrojů pro zpracování dat z magnetické rezonanční spektroskopie (MRS), konkrétně jednorozměrných MR spekter a dat pořízených metodou spektroskopického zobrazování. Programy jsou plně optimalizovány pro potřeby výzkumného týmu experimentální MR laboratoře v IKEM. V závěru práce byly nástroje důkladně otestovány při experimentálním *in vivo* měření nové kontrastní látky pro  $^{19}\text{F}$  MR zobrazování; měření naznačuje významný klinický potenciál této látky pro lékařské účely.

**Klíčová slova:**  $^{19}\text{F}$ , kontrastní látky, magnetická rezonance, magnetická rezonanční spektroskopie, zpracování signálu

**Annotation**

**Author:** Bc. Dominik Havlíček

**Institution:** Technical University of Liberec, Faculty of Health Studies

**Title:** Data Processing Tools for Magnetic Resonance Spectroscopy

**Supervisor:** doc. Ing. Daniel Jirák, Ph.D.

**Pages:** 72

**Appendix:** 5

**Year:** 2023

**Abstract:** This thesis deals with the development of tools for processing magnetic resonance spectroscopy (MRS) data, specifically one-dimensional MR spectra and data acquired by spectroscopic imaging. The programs are fully optimized for the needs of the research team of the experimental MR laboratory at IKEM. At the end of the work, the scripts have been thoroughly tested in an experimental *in vivo* measurement of a new contrast agent for  $^{19}\text{F}$  MR imaging; the measurement suggests a significant clinical potential of this agent for medical purposes.

**Keywords:**  $^{19}\text{F}$ , Contrast Agents, Magnetic Resonance, Magnetic Resonance Spectroscopy, Signal Processing

## Obsah

|  |    |
|--|----|
| Seznam použitých zkratek .....                         | 10 |
| Seznam použitých symbolů .....                         | 11 |
| 1 Úvod.....  | 12 |
| 2 Teoretická část .....                                | 13 |
| 2.1 Princip magnetická rezonance.....                  | 13 |
| 2.2 Využití MR kontrastních látek .....                | 18 |
| 2.3 Digitální zpracování MRS signálu .....             | 19 |
| 2.3.1 Analogově digitální převodník .....              | 19 |
| 2.3.2 Fourierova transformace .....                    | 20 |
| 2.3.3 Zero filling (doplnění nulami) .....             | 21 |
| 2.3.4 Apodizace .....                                  | 21 |
| 2.4 Magnetická rezonanční spektroskopie .....          | 22 |
| 2.4.1 Single-voxel spektroskopie.....                  | 25 |
| 2.4.2 Multi-voxel spektroskopie .....                  | 26 |
| 3 Výzkumná část.....                                   | 28 |
| 3.1 Cíle a výzkumné předpoklady.....                   | 28 |
| 3.2 Metodika výzkumu.....                              | 29 |
| 3.3 Bruker – datový formát a struktura .....           | 29 |
| 3.4 Materiál pro představení vytvořených skriptů ..... | 31 |
| 3.5 Program pro zpracování 1D MRS dat.....             | 32 |
| 3.5.1 Nabídka prototypu a jeho limitace.....           | 33 |
| 3.5.2 Vícenásobné načtení dat .....                    | 33 |
| 3.5.3 Možnosti zobrazení 1D MRS dat.....               | 34 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 3.5.4 | Export 1D spektroskopických dat.....   | 37 |
| 3.6   | Program pro zpracování CSI dat .....   | 38 |
| 3.6.1 | Představení CSI experimentu.....   | 38 |
| 3.6.2 | Načtení a základní náhled na CSI data .....  | 39 |
| 3.6.3 | Průměrování a projekce maximální intenzity .....                                   | 43 |
| 3.6.4 | Hot-Spot zobrazování .....   | 44 |
| 3.6.5 | Spektroskopická mřížka.....  | 47 |
| 3.6.6 | Export CSI dat .....   | 49 |
| 3.7   | Využití vytvořených nástrojů při <i>in vivo</i> analýze nové kontrastní látky..... | 50 |
| 4     | Diskuze .....  | 56 |
| 5     | Návrh doporučení pro praxi.....  | 57 |
| 6     | Závěr .....  | 58 |
|       | Seznam použité literatury .....  | 60 |
|       | Seznam obrázků.....  | 64 |
|       | Seznam příloh .....  | 67 |

## Seznam použitých zkratk

|            |   |
|------------|---|
| 1D, 2D, 3D | Jednorozměrný, Dvourozměrný, Trojrozměrný       |
| ADC        | Analogově digitální převodník                   |
| CEST       | Přenos saturace prostřednictvím chemické výměny |
| CSI        | Zobrazování chemickým posunem                   |
| DFT        | Diskrétní Fourierova transformace               |
| FID        | Volné doznívání indukce                         |
| FT         | Fourierova transformace                         |
| FFT        | Rychlá Fourierova transformace                  |
| IDFT       | Inverzní diskrétní Fourierova transformace      |
| IKEM       | Institut klinické a experimentální medicíny     |
| KL         | Kontrastní látka                                |
| MIP        | Projekce maximální intenzity                    |
| MR         | Magnetická rezonance                            |
| MRI        | Zobrazování magnetickou rezonancí               |
| MRS        | Magnetická rezonanční spektroskopie             |
| mM         | Milimolární                                     |
| ppm        | Parts per million                               |
| PRESS      | Point RESolved Spectroscopy                     |
| RF         | Radiofrekvenční                                 |
| SNR        | Poměr signálu a šumu                            |
| STEAM      | STimulated Echo Acquisition Mode                |
| SVS        | Single-voxel spektroskopie                      |
| TE         | Echo čas  |
| TR         | Repetiční čas                                   |
| VOI        | Objem zájmu                                     |



## Seznam použitých symbolů

| <i>Veličina</i> | <i>Jednotka</i>         | <i>Význam veličiny</i>         |
|-----------------|-------------------------|--------------------------------|
| $\vec{B}_0$     | [T]                     | Statické magnetické pole       |
| $\vec{B}_1$     | [T]                     | Přídavné magnetické pole       |
| $c$             | [kg · l <sup>-1</sup> ] | Hmotnostní koncentrace         |
| $f$             | [Hz]                    | Frekvence                      |
| $f_L$           | [Hz]                    | Larmorova frekvence            |
| $f_s$           | [Hz]                    | Vzorkovací frekvence           |
| $I$             | [–]                     | Jaderný spin                   |
| $\vec{M}$       | [–]                     | Vektor magnetizace             |
| $T_1$           | [s]                     | Podélný relaxační čas          |
| $T_2$           | [s]                     | Příčný relaxační čas           |
| $T_2^*$         | [s]                     | Efektivní příčný relaxační čas |
| $\gamma$        | [Hz · T <sup>-1</sup> ] | Gyromagnetický poměr           |
| $\delta$        | [ppm]                   | Chemický posun                 |
| $\mu$           | [A · m <sup>2</sup> ]   | Magnetický moment              |

# 1 Úvod

V současné době se v medicíně klade velký důraz na rozvoj diagnostických metod a s tím spojený vývoj nových kontrastních látek, které rozšiřují možnosti klinické diagnostiky i terapie [1,2]. V tomto ohledu hraje magnetická rezonanční (MR) spektroskopie (MRS) významnou roli, jakožto analytická metoda určující chemickou strukturu látek. MRS využívá principů jevu magnetické rezonance a používá se pro základní charakterizaci vlastností a studium nových kontrastních látek. Tyto informace jsou důležité pro určení jejich potenciální aplikace v klinické praxi [3,4].

Klíčem k efektivnímu využití MRS je mít k dispozici specializované nástroje pro zpracování dat, včetně jejich předzpracování, následného zpracování, kvantifikaci (např. zjištění relativní koncentrace měřené látky, vyhodnocení poměru signálu od šumu) nebo rozličnou nabídku pohledů na zpracovávaná data. Aby mohl uživatel se zpracovanými daty pracovat i později nebo je analyzovat v jiných programech, je příhodné poskytnout nabídku exportu dat do vhodného formátu.

I přesto, že existuje široká paleta možných nástrojů, sloužících k práci s MRS daty, tak v současné době Oddělení experimentální magnetické rezonance, Institut klinické a experimentální medicíny (IKEM), nedisponuje softwarem, který by všechny potřebné nástroje nabízel v rámci jednoho komplexního a zároveň přehledného programu. Právě absence takového programu činí rutinní práci v laboratoři časově náročnější a méně efektivní.

Při vývoji univerzálního programu je nutná jak komplexní znalost zkoumané problematiky, tak i pravidelné diskuse s ostatními členy výzkumného týmu o tom, jakým směrem by se vývoj programu měl dále vést, tak aby byly neustále nabízeny nové funkce, a přitom používaný nástroj zůstal přehledný a uživatelsky přívětivý. Tato práce si klade za cíl shrnout základní možnosti zpracování MR spektroskopických dat a na tomto podkladě vytvořit nástroje ve vývojovém prostředí MATLAB (<https://mathworks.com>, Matlab R2021b, The MathWorks, Inc., USA), které budou využity k rutinní práci v rámci laboratoře, což zahrnuje zpracování, vizualizaci a kvantifikaci spektroskopických dat pořízených na 4,7 T MR spektrometru, za použití lokalizovaných i nelokalizovaných MRS sekvencí.

## 2 Teoretická část

Programy, jejichž vývojem se budeme zabývat ve výzkumné části práce, jsou určeny ke zpracování dat z MRS, která využívá jevu MR. Z tohoto důvodu je v rámci teoretické části nezbytné popsat principy zmíněného jevu, stejně tak jako vlastnosti a možnosti modality MRS. Neopomeneme ani představit základní zpracování digitálního MRS signálu.

### 2.1 Princip magnetická rezonance

Metody založené na jevu MR nacházejí široké uplatnění v mnoha aplikačních oborech, mezi které můžeme zařadit např. strukturní analýzu látek [5]. V klinické praxi je principu MR využíváno pro dnes již relativně běžné zobrazování magnetickou rezonancí (MRI) pro zobrazení měkkých tkání nebo k vyhodnocení biochemických procesů tkáně prostřednictvím MRS [6]. V současné době se taktéž rapidně rozvíjí možnosti MR zobrazování na buněčné úrovni. [7]. Nesporným benefitem MR modalit je jejich nedestruktivní povaha díky využití pouze neionizující části elektromagnetického spektra, což umožňuje bezpečné a opakované měření bez poškození vyšetřované tkáně [8].

Princip MR lze popsat pomocí kvantové mechaniky (viz např. práce od R. Browna et al (2014) [9]), ale vzhledem ke komplexnosti MR tematiky, jež by přesahovala rámec této práce, tak k vysvětlení základního principu MR bude využito především modelů mechaniky klasické.

Zprvu si je třeba říci, že ne každý systém může podléhat jevu magnetické rezonance, ale pouze takový, který je složen z prvků, jehož jádra mají výsledný magnetický moment  $\mu$ , a tedy i jaderný spin  $I$ , nenulový, formálněji správně nevykompenzovaný. Jádra, resp. izotopy, jež toto splňují, obsahují ve svém atomovém jádře lichý počet neutronů a/nebo lichý počet protonů [10]. Z této podmínky vychází, že každý prvek periodické tabulky může mít teoreticky alespoň jeden izotop, který je pomocí MR detekovatelný, ale ne každý má k tomu vhodné vlastnosti.

Mezi tyto vhodné vlastnosti zařadíme následující: 1) hodnota izotopového složení, tzv. abundance, která udává relativní četnost izotopu daného prvku, přičemž s vyšší hodnotou abundance MR detekovatelného izotopu je možné detekovat silnější signál [11] a 2) síla signálu je taktéž dána relativní sensitivitou, která je úměrná vztahu  $[\gamma^3 \cdot (I) \cdot (I + 1)]$  [12], kde  $\gamma$  představuje gyromagnetický poměr, což je unikátní konstanta pro každý izotop,  $I$  je jaderný spin.

Nejvyšší známou hodnotu  $\gamma$  má izotop vodíku  $^1\text{H}$ , z tohoto důvodu je jeho relativní sensitivity rovna jedné a relativní sensitivity ostatních izotopů se odvozují právě vůči vodíku. Vzhledem k jeho sensitivitě a zároveň vysokému přirozenému výskytu v těle, se jedná o zdaleka nejčastěji využívaný izotop ať už při klinickém, či experimentálním MR měření [13]. Ostatní, používaná nevodíková jádra se označují pro ně společným termínem X-nuclei (X-jádra) [14]. V následující tabulce jsou vypsány nejužívanější izotopy i s jejich základními parametry.

Tab. 1 Nejvíce užívané izotopy pro biomedicínské aplikace [15]

| Izotop                   | Jaderný spin | Gyromagnetický poměr [MHz/T] | Relativní sensitivity [I] | Abundance [%] |
|--------------------------|--------------|------------------------------|---------------------------|---------------|
| $^1\text{H}$ – vodík     | 1/2          | 42,58                        | 1,00                      | 99,99         |
| $^{13}\text{C}$ – uhlík  | 1/2          | 10,71                        | 0,02                      | 1,11          |
| $^{19}\text{F}$ – fluor  | 1/2          | 40,06                        | 0,83                      | 100           |
| $^{23}\text{Na}$ – sodík | 3/2          | 11,26                        | 0,08                      | 100           |
| $^{31}\text{P}$ – fosfor | 1/2          | 17,24                        | 0,07                      | 100           |

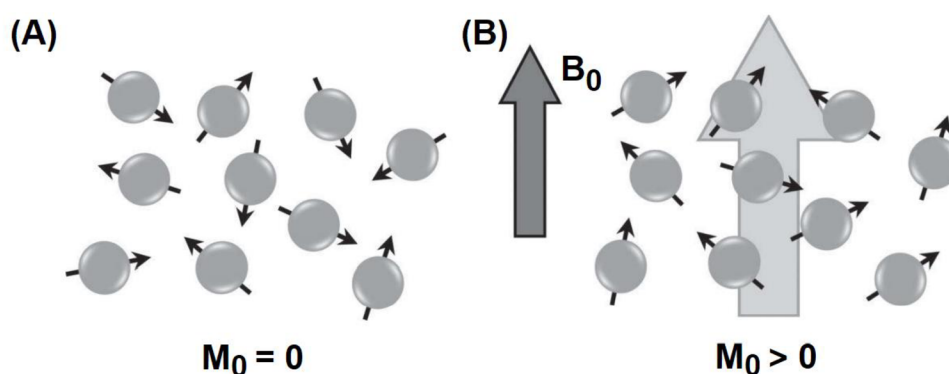
Izotopy, jež je možno využít pro MR, mají nenulový magnetický moment, proto je lze ilustrativně znázornit jako magnetické dipóly. Pro představu, v krychlovém objemu  $1 \times 1 \times 1 \text{ m}^3$  lidského mozku se nachází  $\sim 6 \times 10^{19}$  vodíkových dipólů [16]. I z tohoto důvodu se pro zjednodušení používá celkový moment magnetizace  $\vec{M}$ , který představuje sumaci všech dipólů daného izotopu [17]. Jedná se o vektor umístěný v trojrozměrném (3D) systému souřadnic s definovanou velikostí a směrem.

Pokud v systému na jádra nepůsobí relativně silné statické magnetické pole, tak jsou magnetické momenty natočeny náhodně, dojde tedy k jejich vzájemnému vyrušení [18]; to znamená, že výsledný  $\vec{M}$  je nulový (Obr. 1A). Umístíme-li jádra do statického magnetického

pole  $\vec{B}_0$  (např. přístroj magnetické rezonance), tak momenty mají tendenci se zarovnat podél směru tohoto pole. Taktéž začnou konat rotační pohyb, při kterém se opisuje plocha kužele, tento pohyb je označován jako precese. Při precesním pohybu jádra rotují sice s rozdílnou fází, ale se shodnou frekvencí, která se označuje jako Larmorova frekvence  $f_L$ , která je dána součinem gyromagnetického poměru  $\gamma$  a magnetického pole  $B_0$  (Rovnice 1 [16]). Například jádra vodíku v magnetickém poli o velikosti magnetické indukce 4,7 T mají  $f_L$  rovnu 200,13 MHz.

$$f_L = \gamma B_0 \quad \text{Rovnice 1 [16]}$$

Podíváme-li se na celkový  $\vec{M}$ , poté co je systém vložen do magnetického pole, tak je orientován podél směru vnějšího magnetického pole  $\vec{B}_0$ , velikost podélné složky  $M_z$  je rovna amplitudě  $\vec{M}$ , která se značí  $M_0$ .  $\vec{M}$  v ustáleném stavu nepreceduje, protože jednotlivá jádra rotují s rozdílnými fázemi, což z makroskopického hlediska precesi vyruší, velikost příčné složky  $M_{xy}$  je tedy nulová (Obr. 1B).

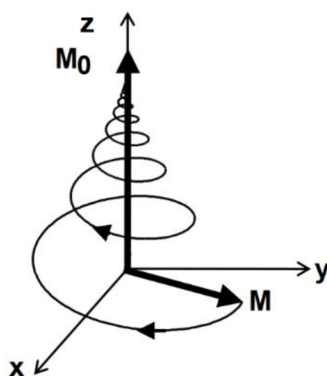


Obr. 1 Chování magnetických momentů; (A) nahodilé rozložení magnetických momentů v nepřítomnosti vnějšího magnetického pole; (B) zarovnání magnetických momentů v přítomnosti vnějšího magnetického pole (převzato a upraveno [19])

Abychom mohli  $\vec{M}$  detekovat, je nutné ho nejdříve sklopit z podélné do příčné roviny. V příčné rovině jsme schopni signál, který je tvořen rotací  $\vec{M}$  detekovat díky zákonu elektromagnetické indukce (Faradayův zákon), kdy proměnlivé magnetické pole v okolí přijímací cívky indukuje elektrický proud. Sklopení docílíme aplikací časově krátkého

(řádově  $ms$ ) radiofrekvenčního (RF) pulzu, jenž vytvoří magnetické pole  $\vec{B}_1$ , pro které musí platit, že je kolmé vůči  $\vec{B}_0$  a zároveň frekvence pulzu je rovna  $f_L$ . Po splnění těchto podmínek nastane jev magnetické rezonance, tedy absorpce energie spinovým systémem. Z makroskopického pohledu se  $\vec{M}$  vychýlí o určitý úhel, nazývaný sklápěcí, z podélné roviny (nastane pokles složky  $M_z$ ), a zároveň dojde ke sfázování magnetických momentů (složka  $M_{xy}$  bude nenulová) [20].

Signál, který je detekován v příčné rovině se označuje zkratkou FID z angl. Free Induction Decay (volné dozívání indukce) [21]. Signál FID nelze detekovat nekonečně dlouho, jelikož po vypnutí RF pulzu nastává postupný návrat  $\vec{M}$  z excitovaného stavu do tepelné rovnováhy (Obr. 2), tento proces se nazývá relaxace a rozděluje se na dvě na sobě nezávislé složky – podélná ( $T_1$ ) a příčná ( $T_2$ ) relaxace [22].



Obr. 2 Proces návratu vektoru magnetizace do tepelné rovnováhy (převzato a upraveno [19])

$T_1$  podélná relaxace představuje návrat  $\vec{M}$  do ustáleného stavu, kdy je opět rovnoběžně zarovnan se směrem  $\vec{B}_0$ . Tento zpětný nárůst složky  $M_z$  je způsoben ztrátou vnitřní energie systému, která byla získána absorpcí energie [23]. Tento proces má exponenciální průběh, který je znázorněn tzv.  $T_1$  křivkou, danou předpisem z Rovnice 2 [24].

$$M_z = M_0 \left( 1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \quad \text{Rovnice 2 [24]}$$

Hodnota  $T_1$  udává dobu, za jakou nastane obnovení velikosti podélné složky  $M_z$  na 63 % hodnoty ustáleného stavu. Každá pozorovaná látka má svoji  $T_1$  hodnotu, která roste s hodnotou magnetického pole  $\vec{B}_0$  [25].

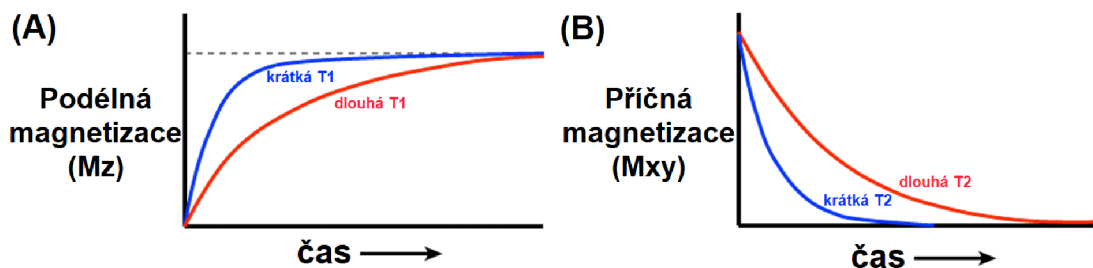
Po aplikaci RF pulzu mj. nastane sfázování magnetických momentů, díky čemuž můžeme měřit velikost vektoru magnetizace v rovině příčné. Postupná ztráta fázové koherence nastává v okamžiku vypnutí RF pulzu a je způsobena vzájemnou interakcí mezi částicemi a jejich magnetickými poli [26], tento exponenciální pokles je popsán  $T_2$  křivkou (Rovnice 3 [24]), která je opět pro zkoumané látky tabelovaná.

$$M_{xy} = M_0 \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \quad \text{Rovnice 3 [24]}$$

Relaxační konstanta  $T_2$  udává čas, za jak dlouho dojde k poklesu příčné složky  $M_{xy}$  na 37 % své maximální hodnoty. Vzhledem k nehomogenitám  $\vec{B}_0$  dochází ve skutečnosti k úbytku fázové koherence vždy rychleji, tento parametr je označován jako efektivní příčná relaxace  $T_2^*$  [27], která zároveň popisuje míru útlumu signálu FID.  $T_2$  relaxace je oproti  $T_1$  pro danou látku vždy kratší a zároveň platí, že termální rovnováha nastává přibližně po uplynutí pěti dob  $T_1$  [28].

Z časových konstant  $T_1$  a  $T_2$  se odvíjejí dva základní parametry měřící sekvence. Těmito parametry jsou repetiční čas (TR – Repetition Time) a čas echa (TE – Echo Time). TR označuje časový úsek mezi dvěma excitačními RF pulzy, TE udává dobu mezi vysláním RF pulzu a jeho detekováním v přijímacích cívkách.

Při MRI je vzájemný kontrast mezi tkáněmi vytvořen, kromě odlišných koncentrací vodíku, především rozdílnými relaxačními časy mezi biologickými strukturami [29]. Relaxační křivky  $T_1$  a  $T_2$  jsou znázorněny na Obr. 3, s porovnáním relativně krátké a dlouhé relaxace.



Obr. 3 Relaxační křivky  $T_1$  (A) a  $T_2$  (B) (převzato a upraveno [30])

## 2.2 Využití MR kontrastních látek

Výsledný kontrast mezi tkáněmi je především určen jejich rozdílnými relaxačními časy, nastane-li tedy situace, že dvě sousedící struktury mají podobné nebo shodné relaxační konstanty, nemusíme být schopni je od sebe na výsledném obraze rozeznat. Tuto situaci můžeme vyřešit použitím kontrastních látek (KL), které jsou schopny zkrátit časy  $T_1$  a  $T_2$  tkáně, do které byla KL aplikována. Podle primárního efektu na relaxaci, se označují buď  $T_1$  nebo  $T_2$  KL.

$T_1$  KL jsou nejčastěji tvořeny silně paramagnetickými ionty (např. gadolinium), které zapříčiní zvýšenou energetickou výměnu mezi magnetickými momenty protonů a okolím, čímž značně zkrátí relaxační čas  $T_1$  v tkáni. Tato tkáň poté produkuje pozitivní (hypersignální) kontrast.

$T_2$  KL zpravidla obsahují superparamagnetické nanočástice oxidů železa, které narušují lokální magnetické pole protonů, což urychluje  $T_2$  relaxaci. Tkáň je nato pozorovatelná jako hyposignální (negativní kontrast) [31].

V současnosti je výzkum věnován i KL, které nevyužívají principu zkracování relaxačních časů, ale využívají např. metod přenosu saturace prostřednictvím chemické výměny (CEST) [32] nebo aplikaci látek, které jsou založeny na nevodíkovém jádře [33]. Při použití kontrastní látky, obsahující např. izotopy  $^{19}\text{F}$  nebo  $^{31}\text{P}$ , využíváme toho, že koncentrace těchto izotopů je v organismu, v porovnání s  $^1\text{H}$ , malá [34]. Problém může nastat při vyhodnocování, kdy je nutné odlišit, zda detekovaný signál je fyziologický, nebo externě aplikovaný. Z tohoto důvodu se velká pozornost upíná k izotopu  $^{19}\text{F}$ , jehož zastoupení



v lidském organismu je zanedbatelné [34] a naměřený signál je specifický, protože jednoznačně odpovídá pouze aplikované látce. Testování nové KL, na bázi  $^{19}\text{F}$ , se věnujeme v kapitole 3.7 *Využití vytvořených nástrojů při in vivo analýze nové kontrastní látky*.

## 2.3 Digitální zpracování MRS signálu

Doposud jsme se bavili o MR signálu, pouze jakožto o průběhu elektrického napětí, tedy spojitého analogového signálu. K tomu, abychom ho mohli zpracovat a vyhodnotit je nejprve nutné tento signál, který v oboru MR označujeme jako FID, převést na digitální.

### 2.3.1 Analogově digitální převodník

K digitalizaci signálu, který je detekován v přijímacích cívkách se využívá analogově digitálního převodníku, zkráceně ADC. Převod můžeme rozdělit do dvou základních fází, první z nich je vzorkování, kdy je časová osa rozdělena na pravidelné úseky a v těchto časových okamžicích je odebrán jeden vzorek, tedy okamžitá hodnota signálu FID. Tato okamžitá hodnota je v analogovém světě nekonečně přesná, je nutné tuto přesnost omezit z důvodů výpočetních kapacit a pamětí, toho docílíme procesem kvantování, kdy každému vzorku je připsána kvantovaná hodnota [35].

Rychlost, s jakou ADC provádí vzorkování, se označuje jako vzorkovací frekvence  $f_s$ ; vhodná hodnota  $f_s$  je předepsána vzorkovacím teorémem. Tento teorém [36] vyjádřen prostřednictvím Rovnice 4 říká, že každý signál tvořený harmonickými složkami, bude po digitalizaci přesně popsán, pokud bude  $f_s$  rovna alespoň dvojnásobku maximální  $f$ , která se v signálu vyskytuje. Není-li tato podmínka splněna může docházet k aliasingu, tedy zkreslení.

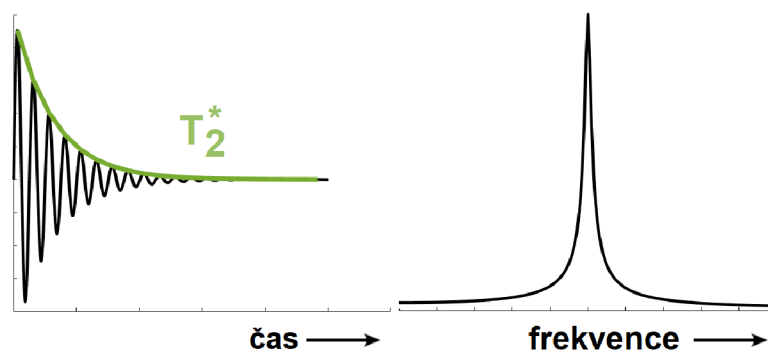
$$f_s \geq 2 \cdot f_{max}$$

Rovnice 4 [36]

### 2.3.2 Fourierova transformace

Způsobem, jak si digitální signál FID vhodněji znázornit, je zobrazení frekvenčních složek, z kterých se skládá. Nástroj pro transformaci FID na frekvenční spektrum se nazývá Fourierova transformace (FT), resp. diskrétní Fourierova transformace (DFT), která se využívá pro konečné nespojitě signály. Jedná se o matematický nástroj, pomocí kterého lze rozložit oscilující signál na jednotlivé harmonické složky.

Výsledkem je graf, kde amplitudy vrcholů na daných frekvencích odpovídají míře zastoupení této frekvence v původním signálu (Obr. 4). Díky tomuto algoritmu můžeme vyhodnotit hodnotu rezonanční frekvence pozorovaného vzorku, včetně relativního zastoupení jader, které podléhají jevu MR na odpovídající frekvenci.



Obr. 4 Signály v časové a frekvenční doméně; signál FID s obálkou, reprezentující křivku  $T_2^*$  (vlevo); spektrum ve frekvenční doméně (vpravo) [autor]

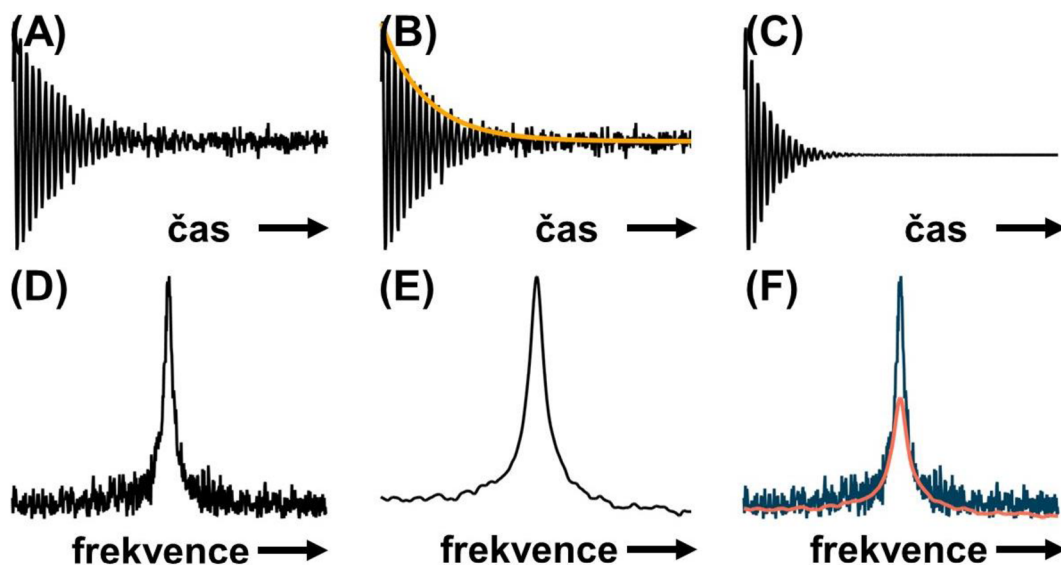
Z důvodu kvadratické asymptotické složitosti  $O(N^2)$ , kde  $N$  odpovídá délce signálu v časové doméně, se v praxi s algoritmem DFT neseťkáváme. Proto se využívá optimalizovaného algoritmu tzv. rychlé Fourierovy transformace (FFT), který spočítá shodný výsledek v  $O(N \log(N))$  operacích. Pro výpočet FFT je vhodné, aby počet diskrétně navzorkovaných bodů signálu, tedy délka FID, byla rovna mocnině dvou. Při práci se spektrem lze využít i zpětného algoritmu, který naopak signál ve frekvenční doméně převádí na signál do domény časové, tzv. inverzní DFT (IDFT) [37].

### 2.3.3 Zero filling (doplnění nulami)

Pro vyhodnocení spektroskopických dat je nutné, aby nedošlo v průběhu digitalizace a aplikace FFT ke ztrátě informace. Snažíme se docílit co největšího frekvenčního (spektrálního) rozlišení. Vyššího rozlišení můžeme kromě zvýšení  $f_s$ , dosáhnout i technikou prodloužení signálu v časové doméně. Tato technika se v oboru digitálního zpracování signálu označuje termínem zero padding, v oblasti MR je preferován výraz zero filling. Při této metodě se za signál v časové doméně přidávají vzorky o nulové informační hodnotě, čímž se signál uměle prodlouží a zároveň informační hodnota zůstane nepozměněna. Z podstaty FFT je výhodné, když je délka signálu rovna mocnině dvou; pokud toto není splněno, můžeme rovněž využít metody zero filling a doplnit potřebné nulové body tak, abychom dosáhli délky, která odpovídá mocnině čísla dva [38].

### 2.3.4 Apodizace

Každý digitalizovaný signál obsahuje kromě své užitečné složky, i část obsahující pouze šum. Jakýkoli naměřený bod je tedy částečně zarušen, z tohoto důvodu je i výsledné spektrum zatíženo šumem. Funkční hodnoty signálu FID dosahují nejvyšších hodnot na počátku signálu, kde se zároveň nachází nejvíce užitečné informace, poté exponenciálně klesá k nule. Přestože je šum rozprostřen napříč celým signálem, tak relativně více šumu se nachází na jeho konci. Této skutečnosti můžeme využít při snaze o jeho potlačení, kdy vynásobíme FID klesající exponenciální funkcí, jejíž obor hodnot je  $H(f) = (0, 1)$ , tento proces je označován jako apodizace. Po vynásobení budou koncové části FID potlačeny, zatímco první vzorky se téměř nezmění. Při apodizaci může docházet ke změně intenzity nebo pološířky spektra, je tedy nevhodné kvantifikovat apodizovaná spektra [39].



Obr. 5 Apodizace [autor]

Obr. 5 (A) uměle vytvořený oscilující signál s přidáním šumu; (B) oscilující signál s vyznačenou apodizační funkcí (žlutá); (C) signál po vynásobení apodizační funkcí; (D) frekvenční spektrum odpovídající signálu (A); (E) frekvenční spektrum po apodizaci; (F) přeložení frekvenčních spekter; modré – před apodizací; oranžové – po apodizaci

## 2.4 Magnetická rezonanční spektroskopie

MRS je neinvazivní diagnostická metoda, jež využívá principů MR. V klinické praxi se používá pro vyhodnocení biochemických procesů, čímž nabízí jiný pohled na anatomickou informaci získanou prostřednictvím MRI [16]. V experimentální sféře můžeme MRS využít např. k analýze metabolismu laboratorních zvířat [40] nebo testování nově vyvíjených kontrastních látek [4]. Modalita MRS nám umožňuje detekovat molekuly, jejichž koncentrace se pohybuje alespoň v řádu desetin milimolů (mM), přičemž s vyšší hodnotou magnetického pole jsme schopni detekovat i méně koncentrované sloučeniny [41].

Výsledný kmitající signál FID, který je detekován v přijímacích cívkách, obsahuje frekvence rovné  $f_L$  a exponenciálně klesající amplitudu podél křivky  $T_2^*$  [42]. Zatím bylo řečeno, že rezonanční frekvence záleží pouze na  $\vec{B}_0$  (Rovnice 1). V 50. letech minulého století [43] ale

bylo zjištěno, že odlišné funkční skupiny daných molekul mají, vlivem elektronového stínění, lehce rozdílné rezonanční frekvence. Rozdíl  $f_L$  mezi funkčními skupinami se označuje jako chemický posun  $\delta$ .

Vzhledem k tomu, že na odlišných pracovištích se využívají MR spektrometry o různé hodnotě magnetické indukce  $B_0$ , není vhodné vyhodnocovat chemický posun v základních jednotkách frekvence [Hz]. Z tohoto důvodu byla zavedena relativní tzv. ppm škála, z angl. parts per milion, která je nezávislá na velikosti použitého magnetického pole.

Základní kvantifikace MRS dat se obecně provádí na spektru ve frekvenční doméně a spočívá ve vyhodnocení oblasti pod křivkou námi sledovaného vrcholu. Využíváme toho, že hodnota integrálu vybraného peaku je přímo úměrná koncentraci měřených izotopů, které podléhají jevu MR na dané frekvenci [44].

Bavíme-li se o *in vivo*  $^1\text{H}$  MRS, tak jejím cílem je neinvazivní kvantifikace chemických sloučenin nacházejících se v organismu. Nejčastěji se využívá pro hodnocení patologií mozkové tkáně [45], ve které jsme schopni vyhodnotit až 20 metabolitů [46]. Namísto absolutních hodnot jednotlivých koncentrací, se mnohdy výsledky udávají jako podíl dvou metabolitů. Často je jedním z nich kreatin, o kterém se udává, že je relativně stabilní jak při fyziologických, tak patologických stavech [47]. Pokud se, oproti tabulkovým hodnotám, vzájemný poměr koncentrací liší, tak to může poukazovat na patologický nálezn, ale samotné MRS vyšetření k určení přesné diagnózy nestačí.

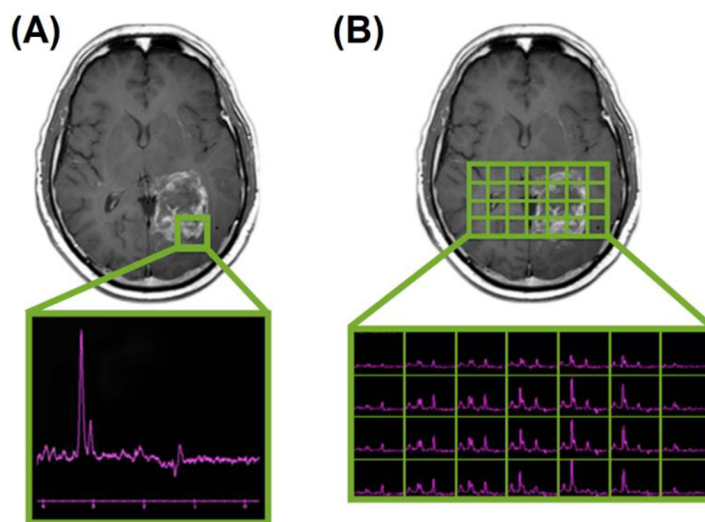
Mezi další uplatnění *in vivo* MRS můžeme uvést hodnocení nádorů prsu [48], prostaty [49], jater [50] aj. Co se týče nevodíkových jader, tak např. k popisu energetického metabolismu svalové tkáně se využívá fosforová  $^{31}\text{P}$  MRS [51].

Nedílnou součástí MR modalit, tedy i MRS, je možnost prostorového kódování – uložení informace, odkud naměřený signál anatomicky pochází. K tomu se využívá tzv. gradientů, což jsou tři na sebe kolmé cívky, které jsou přímo součástí MR přístroje. Když těmito cívkami prochází proud, generují lineárně proměnné magnetické pole (řádově o velikosti  $m\text{T}/m$ ). Takto vytvořená magnetická pole záměrně ovlivňují hlavní magnetické pole  $\vec{B}_0$  tak, že v některých místech bude zeslabené a v jiných zesílené s tím, že čím dál budeme od středu

magnetu, tak tento rozdíl bude větší, v isocentru zůstává neměnné. Po aplikaci gradientů bude na jádra, v závislosti na jejich pozici ve zkoumaném objektu, působit rozdílné magnetické pole, tzn. jejich rezonanční frekvence se budou lišit [23].

V okamžiku vyslání RF pulzu je aplikován vrstvý gradient, který určuje rovinu a její rozsah, z které bude probíhat náběr dat. Zbylé dva gradienty, které můžeme použít, jsou označovány jako fázové a frekvenčně selektivní. Pomocí těchto gradientů měníme fázi spinů a jejich frekvenci. V závislosti na počtu RF pulzů, použití gradientů, jejich pořadí, hodnotách TR a TE atd. definujeme pulzní sekvence, které mají své využití v různých aplikacích [52].

K akvizici MR spekter lze využít tří základních přístupů, přičemž hlavním rozdílem je vymezení objemu zájmu (VOI). První, relativně jednoduchá možnost je tzv. single-voxel spektroskopie (SVS) (Obr. 6A), kde výsledkem je jeden jednorozměrný (1D) signál. Jako druhou volbu máme k dispozici spektroskopické zobrazování, při kterém je naměřeno více 1D signálů [53] (Obr. 6B). Tyto dvě metody se označují jako lokalizovaná spektroskopie.



Obr. 6 Lokalizovaná MR spektroskopie mozku; (A) lokalizovaná SVS; (B) spektroskopické zobrazování (převzato a upraveno [54])

V praxi se můžeme také setkat i s nelokalizovanou 1D spektroskopií, při které nedochází k excitaci přesně vymezené oblasti, ale měříme z celkového objemu látky, přesněji řečeno z oblasti, kterou pokrývá RF cívka. Tento typ sekvence je nejjednodušší možný, protože

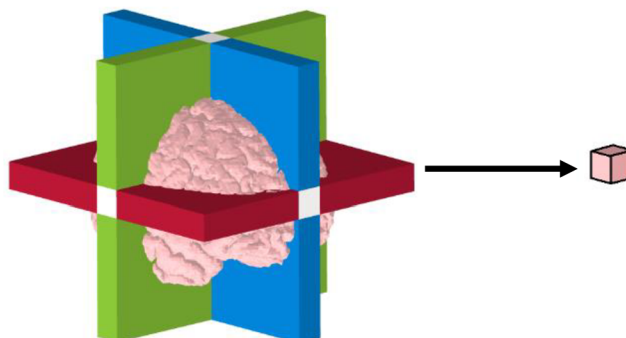
nevyužívá gradientů a k excitaci jader je aplikován jediný excitační pulz, po kterém okamžitě probíhá náběr dat. Tato sekvence se označuje jako tzv. single-pulse sekvence [51].

### 2.4.1 Single-voxel spektroskopie

Jako SVS můžeme označit metodu, kdy výsledkem měřicí sekvence je jeden 1D signál, a toto MR spektrum je naměřeno z jednoho předem definovaného VOI. Díky tomu, že jsme schopni přesně vymežit VOI, z kterého bude náběr dat probíhat, označuje se tato metoda jako lokalizovaná [46].

SVS techniky jsou relativně jednoduché jak na získání, tak i interpretaci dat; z tohoto důvodu jsou častěji využívány oproti spektroskopickému zobrazování. Při diagnostice nádorových onemocnění se lokalizovaná SVS doporučuje pro středně velké homogenní léze velkých orgánů [55].

V praxi nejužívanější lokalizovaná SVS sekvence je PRESS (Point RESolved Spectroscopy). Je tvořena třemi po sobě jdoucími RF pulzy, se sklápěcími úhly  $90^\circ - 180^\circ - 180^\circ$ . Při každém pulzu je zapnut gradient, vždy v jednom směru osy, určující rovinu a šíři řezu. Jev rezonance tedy postoupí pouze jádra, která se nacházejí v průsečíku všech tří rovin (Obr. 7). Tímto průsečíkem je kvádr, v digitalizované podobě voxel. Sekvence, která se od PRESS liší především hodnotami sklápěcích úhlů je STimulated Echo Acquisition Mode (STEAM), která využívá aplikaci tří  $90^\circ$  sklápěcích úhlů po sobě.



Obr. 7 Princip SVS lokalizace voxelu; průsečík tří barevných rovin vymezuje voxel, z kterého bude proveden náběr dat [autor]

Díky  $180^\circ$  refokusačním pulzům, které využíváme u PRESS sekvence, lze teoreticky získat až  $2\times$  více signálu oproti STEAM. Na druhou stranu nevýhodou sekvence PRESS je, že aplikace  $180^\circ$  refokusačních pulzů trvá déle, tzn. že není technicky možné měřit echo tak brzo jako u STEAM [56]. Relativně dlouhé TE není pro MRS žádoucí, protože dochází vlivem  $T_2$  relaxace ke ztrátě fázové koherence spinů a z toho vyplývající ztrátě užitečného signálu, což má za následek snížené hodnoty poměru signálu a šumu (SNR).

I přes tuto skutečnost se sekvence PRESS využívá při MRS mozkové tkáně, díky relativně dlouhým relaxačním časům  $T_2$  vodíkových  $^1\text{H}$  metabolitů, není využití této pulzní sekvence problematické. Komplikace nastávají např. u  $^{31}\text{P}$  MRS, kde metabolity mají krátké  $T_2$  relaxace, proto se zde využívá buď nelokalizovaná single-pulse sekvence nebo STEAM [57]. V současnosti stále vznikají a optimalizují sekvence, tak aby bylo možné získat co nejvíce signálu za co nejkratší možnou dobu TE [58].

## 2.4.2 Multi-voxel spektroskopie

Z názvu metody je patrné, že multi-voxel spektroskopie je technikou, kdy v rámci jednoho skenu jsme schopni změřit MR spektra z několika voxelů najednou, výsledkem je několik (obvykle stovky [59], výjimečně až tisíce [60]) individuálních 1D signálů [52].

Technika multi-voxel spektroskopie se v praxi označuje dvěma vzájemně zaměnitelnými termíny, přičemž oba přímo odkazují na to, že se jedná mj. o zobrazovací metodu. Prvním možným názvem je *spektroskopické zobrazování*, druhým označením je *Chemical Shift Imaging* (CSI), tedy *zobrazování chemického posunu*.

Oproti SVS je CSI technicky náročnější, především z důvodu nedokonalé homogenity magnetického pole napříč vyšetřovaným objektem, delším procesem nastavování sekvence, stejně tak delší doba samotného skenu [61]. Jako další nevýhodu můžeme označit vzájemné ovlivňování sousedících voxelů, s čímž je spojeno nižší SNR z měřených objemů [62]. Přesto, pokud je sken proveden optimálně, získáme možnost analýzy mnoha spekter s vysokým prostorovým rozlišením z relativně velkého objemu.



CSI se upřednostňuje, pokud je VOI nejistý, nebo je nutné vyhodnotit více oblastí současně. Používá se při zkoumání distribuce metabolitů velkých orgánů. Díky tomu, že CSI, oproti SVS, nám umožňuje měřit jednotlivá spektra z více lokalizovaných objemů najednou, tak se taktéž využívá při analýze heterogenních lézí v malých orgánech, jako je např. prostata [49]. Naměřenou matici je možné převést do barevné mapy, kde jas voxelu odpovídá relativní hodnotě koncentrace vybraného metabolitu, bližší představení metody CSI v kapitole *3.6 Program pro zpracování CSI dat*.

Princip CSI kombinuje sekvenci PRESS, ke které jsou přidány fázově selektivní gradienty. V závislosti na tom, zdali se jedná o 1D, 2D nebo 3D CSI, je použitý odpovídající počet na sebe kolmých fázově selektivních gradientů, které jsou aplikovány najednou v době mezi RF pulzy. Chceme-li vytvořit např. 2D CSI matici o velikosti  $16 \times 16$  voxelů, je nutné provést 256 kombinací nastavení gradientních amplitud [61].

## 3 Výzkumná část

### 3.1 Cíle a výzkumné předpoklady

Cílem předkládané práce je vytvoření nástrojů, pomocí kterých bude možno zpracovat MRS data, která vycházejí z preklinického výzkumu. Taktéž bude provedena sada experimentálních měření nové kontrastní látky, na kterých se funkčnost vytvořených nástrojů otestuje. Konkrétní cíle, jež budou plněny ve výzkumné části práce jsou definovány následovně

#### 1) Vytvoření programu pro zpracování dat naměřenými spektroskopickou metodou typu single-voxel

- Při realizaci prvního cíle vycházíme z prototypu, který vznikl při zpracování bakalářské práce [63]. Tímto cílem na něj volně navazujeme tak, abychom značně rozšířili paletu funkcí a umožnili tak praktické využití vyhodnocování preklinických experimentálních dat.

#### 2) Vytvoření programu pro zpracování dat naměřenými metodou spektroskopického zobrazování

- Metoda spektroskopického zobrazování, je druhou základní možností, jak měřit MR spektroskopická data. Z tohoto důvodu je vytvářen i druhý nástroj se záměrem, aby našel své využití při zpracování dat z fantomů, *in vitro* i *in vivo* měření.

#### 3) Ověření funkčnosti programů na experimentálních měřeních

- Praktická ukázka využití programů bude představena na *in vivo* experimentálním měření, při kterém probíhalo testování nové kontrastní látky.

Taktéž předpokládáme, že oba nástroje budou vzájemně kompatibilní, tak aby jednotlivá spektra, pořízená metodou spektroskopického zobrazování šlo exportovat do programu pro zpracování 1D MRS dat.

### 3.2 Metodika výzkumu

Při tvorbě programu pro zpracování 1D MRS dat vycházíme z již vytvořeného prototypu v rámci bakalářské práce, který budeme rozvíjet. Nástroj pro práci s CSI daty bude zcela nový. Programy budou psány ve vývojovém prostředí MATLAB.

Výzkum je realizován v laboratoři experimentální MR, IKEM. Z tohoto důvodu jsou nástroje především vytvářeny na základě potřeb členů vědeckého týmu laboratoře. K samotnému měření dat je využíván MR tomograf Bruker Biospec 4.7T (Ettlingen, Německo) (Příloha A), kterým laboratoř disponuje.

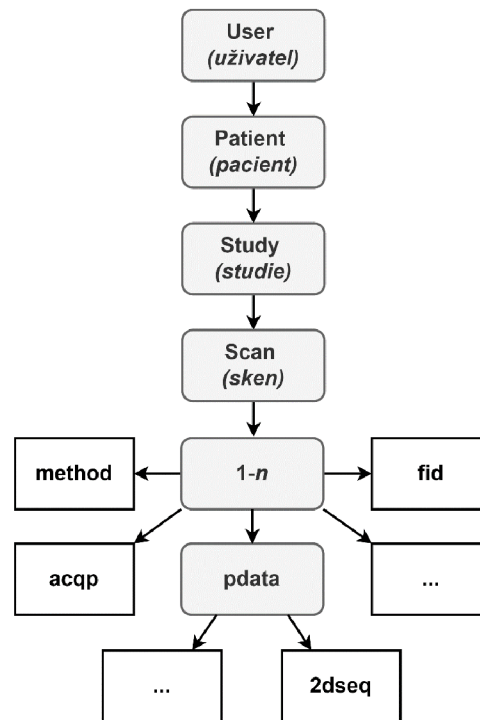
Při programování budeme využívat tzv. agilní metodiky, což je způsob vývoje softwaru, který je založen na postupném a iterativním přístupu. Tento přístup si můžeme představit tak, že poté co je určitá funkce nově implementována, je verze softwaru nabízející nové možnosti předána uživatelům a využita v praxi, přičemž na základě zpětné vazby se provádí následné úpravy.

### 3.3 Bruker – datový formát a struktura

MR přístroje od společnosti Bruker využívají ke svému ovládní software *Paravision* (<https://www.bruker.com/en.html>, verze 4.0, Bruker Corporation, Billerica, Massachusetts, USA), který je vyvíjen taktéž společností Bruker. Software umožňuje provést mj. měření na základě námi nastavených parametrů, zrekonstruovat a zobrazit naměřená data a ty také exportovat, jedná se tedy o nepostradatelné programové vybavení experimentálního MR tomografu.

Před vytvářením nového software, je nejprve nutné se obeznámit s datovou strukturou a obsahem dat, která jsou exportována. Kompletní datová struktura obsahuje několik vnořených podsložek, které se mohou větvit. K popisu struktury je využit ilustrační diagram níže (Obr. 8). Výchozí pozice je dána jednotlivými *uživateli*. Tito *uživatelé* mají možnost vytvářet tzv. *pacienty*, přičemž tato struktura zastřešuje individuální projekty, které se následně dělí na *studie*. V rámci těchto *studií* probíhá již měření samotných *skenu*, které jsou

označeny v závislosti na pořadí, v jakém byly provedeny (1 až  $n$ ). Skeny zahrnují datové soubory, které obsahují informace o proběhlém měření včetně surových raw dat. Zpracovaná data a informace k nim se nacházejí v podsložce s názvem *pdata*.



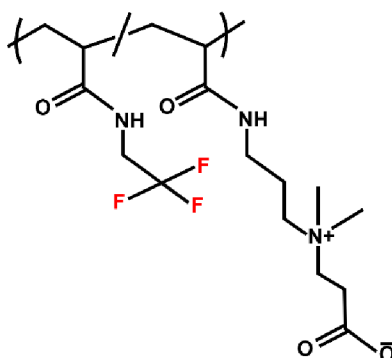
Obr. 8 Diagram struktury exportovaných dat [autor]

Pro naši potřebu jsou nejdůležitějšími soubory následující: *method* – textový soubor obsahující základní informace o proběhlém skenu; *acqp* – textový soubor s dalšími podrobnostmi o použitých parametrech akvizice; *fid* – formát raw dat, který se skládá z dvojic reálných a imaginárních komplexních bodů; *2dseq* – zrekonstruovaná data, uložena jako vektor hodnot. Data jsou typicky ukládána jako 16bitové, případně 32bitové (v závislosti na použité sekvenci) celá čísla se znaménkem.

### 3.4 Materiál pro představení vytvořených skriptů

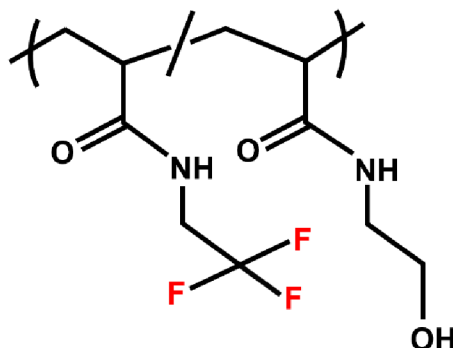
K představení základních vlastností a možností námi vytvořených nástrojů využijeme naměřená MR data čtyř chemických sloučenin, které obsahují ekvivalentní atomy fluoru  $^{19}\text{F}$  a lze je tedy vhodně využít až už pro fluorové MR zobrazování nebo spektroskopii. Konkrétně se jedná o kopolymery s neurčeným uspořádáním, které byly připraveny ve spolupráci s Přírodovědeckou fakultou Univerzity Karlovy. Dále v textu bude na sloučeniny odkazováno jejich zkrácenými názvy.

- poly(karboxybetain-akrylamid-*co*-trifluoroethyl-akrylamid)
  - Zkráceně označován jako PCBAM-*co*-PTFEAM



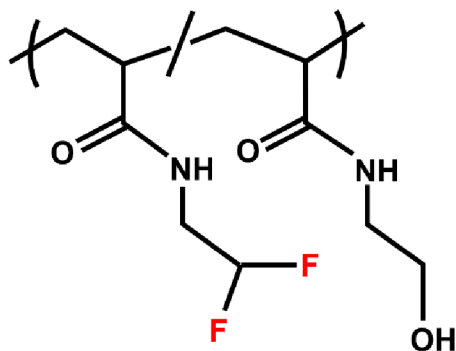
Obr. 9 PCBAM-*co*-PTFEAM [autor]

- poly(*N*-hydroxyethyl-akrylamid-*co*-trifluoroethyl-akrylamid)
  - Zkráceně označován jako PHEAM-*co*-PTFEAM



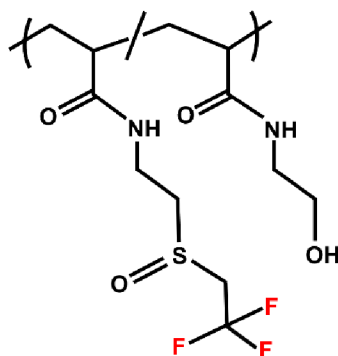
Obr. 10 PHEAM-*co*-PTFEAM [autor]

- poly(*N*-hydroxyethyl-akrylamid-*co*-difluoroethyl-akrylamid)
  - Zkráceně označován jako PHEAM-*co*-PDFEAM



Obr. 11 PHEAM-*co*-PDFEAM [autor]

- poly(*N*-hydroxyethyl-akrylamid-*co*-*N*-(2-((2,2,2trifluoroethyl)sulfinyl)ethyl)akrylamid)
  - Zkráceně označován jako PHEAM-*co*-PFSAM



Obr. 12 PHEAM-*co*-PFSAM [autor]

### 3.5 Program pro zpracování 1D MRS dat

Program, který bude v praxi využíván ke zpracování SVS a 1D nelokalizovaných dat a bude v této kapitole popsán, tak ve svém základu vychází z již vypracované bakalářské práce [63]. Původně vytvořený nástroj sloužil především jako potvrzení toho, že jsme schopni naměřená data číst, graficky znázornit a provést základní analýzu. Cílem nastávajících verzí je poskytnout komplexní nabídku funkcí, která může být využita při praktickém zpracování SVS experimentálních dat. Celkový náhled na vytvořený nástroj se nachází v Příloze B.

### **3.5.1 Nabídka prototypu a jeho limitace**

Již vytvořený prototyp nástroje nabízel funkce, které lze využít pro elementární analýzu 1D MRS dat. Mezi implementované funkce patřilo načtení libovolného počtu naměřených dat, včetně jejich jednoduché grafické prezentace. Základní metody post-processingu, pod které spadá zero filling a apodizace, byly rovněž implementovány. Uživatel také mohl využít kvantifikačních nástrojů v podobě výpočtu SNR a určitého integrálu, přičemž tyto hodnoty spolu s dalšími významnými proměnnými bylo možno exportovat do externího souboru tabulkového formátu.

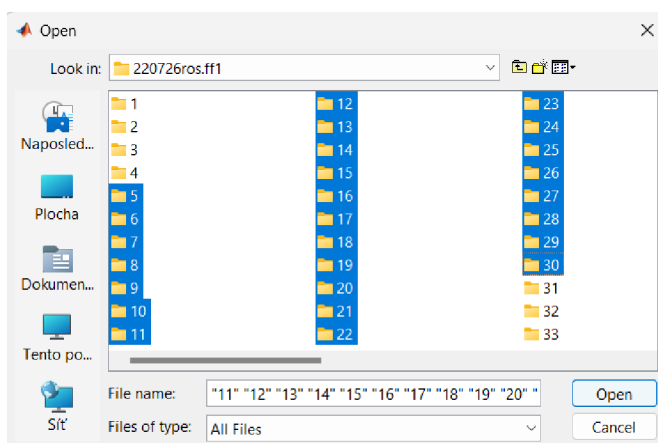
Určité limitace tohoto prototypu se ukázaly a byly již v závěrečné práci zmíněny, další se projeví až při následných projektech zpracovávaných v rámci laboratoře. Mezi velké nedostatky zařadíme nutnost postupného načtení jednotlivých skenů, stejně tak jako export parametrů pouze jednoho vybraného skenu. Základní zobrazení spekter, tedy pouhý jejich překryv, taktéž není v každém případě ideální, obzvláště jeli načteno větší množství spektroskopických dat. Přesto, že nabídka funkcí byla relativně bohatá, tak nebyla příliš vhodná a uživatelsky přívětivá při praktickém využití. V této části výzkumné práce se tedy pokusíme tyto nedostatky vyřešit a nabídnout další vylepšení pro zpracování dat.

### **3.5.2 Vícenásobné načtení dat**

Při měření spektroskopických dat se často setkáváme s tím, že je nutné pořídit větší množství skenů v průběhu jedné sady měření. Tato situace mnohdy nastává, když aplikujeme rozličné parametry pulzních sekvencí a následně analyzujeme vzájemné rozdíly mezi naměřenými spektry. Dalším příkladem je vyhodnocování biochemických změn v čase, kdy je provedeno větší množství skenů se shodnými parametry.

Doposud bylo možné pomocí vytvořeného prototypu načítat jednotlivé signály pouze postupně. Vzhledem k tomu, že při určitých analýzách je nutné vyhodnotit kupříkladu až stovky spekter, je metoda postupného nahrávání značně neefektivní. Z tohoto důvodu je vhodné, aby byla poskytnuta možnost načíst více souborů najednou.

Protože nativní MATLAB funkce `uigetdir`, která slouží k výběru složky, neumožňuje výběr více složek najednou, bylo nutné zvolit jiný přístup. Využili jsme tedy dostupnou kompatibilní komponentu `JFileChooser` z programovacího jazyka Java, která nabízí nastavení více parametrů, včetně vícenásobného výběru. Po zavolání komponenty se otevře vlastní prohlížeč souborů, který nám umožňuje vybrání libovolného množství složek (Obr. 13). Pro naši potřebu je nutné, aby složky obsahovaly již zmíněné soubory *fid*, *method* a *acqp*. V závislosti na přečtených parametrech ze zmíněných souborů dochází k dalšímu zpracování.



Obr. 13 Nabídka vícenásobného výběru [autor]

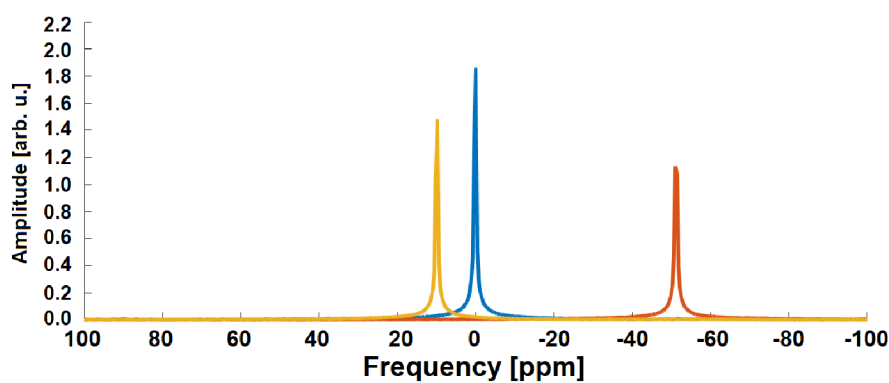
### 3.5.3 Možnosti zobrazení 1D MRS dat

Ve vytvořeném prototypu byla uživatelům, při zobrazování dat, dána jediná možnost zobrazení, a to v podobě základního překrytí načtených spekter. V okamžiku, kdy bylo načteno více signálů, tak ale docházelo ke značné nepřehlednosti z důvodu překrytí jednotlivých dat. Tento fakt mohl zamezit rychlou vizuální analýzu a taktéž tento způsob není vhodný pro publikační účely. Rozhodli jsme se tedy pro zabudování více možných náhledů, které lze libovolně přepínat pomocí ovládacího prvku přepínače. Momentálně implementované a nejčastěji používané zobrazovací módy jsou následující:



- Výchozí

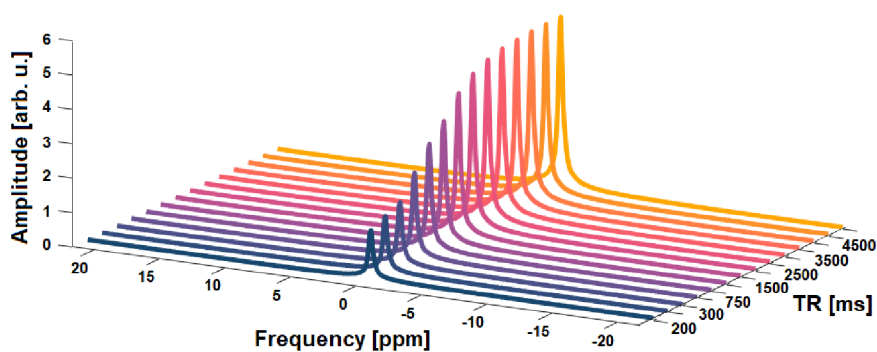
Základním pohledem – je možnost, kdy jednotlivá spektra jsou pouze přeložena přes sebe, což je vhodné pro vizuální analýzu relativně nízkého počtu načtených dat (Obr. 14). Tento zobrazovací mód je také příhodný při nastavování kvantifikačních parametrů pro následný export. Na obrázku můžeme pozorovat spektra ze tří různých vzorků, konkrétně PHEAM-*co*-PFSAM (žlutá), zde s chemickým posunem  $\Delta\delta \sim 10$  ppm od nosné frekvence, PHEAM-*co*-PTFEAM (modrá) s nulovým chemickým posunem a PHEAM-*co*-PDFEAM (oranžová) s  $\Delta\delta \sim 53$  ppm.



Obr. 14 Výchozí zobrazení 1D nelokalizovaných MRS dat [autor]

- 3D

Trojrozměrný náhled, kdy na Z ose je zpravidla čas nebo parametr měřící sekvence, který byl rozdílný pro danou sadu měření (např. TR nebo TE). Tento náhled může být vhodný, když je načteno více dat.

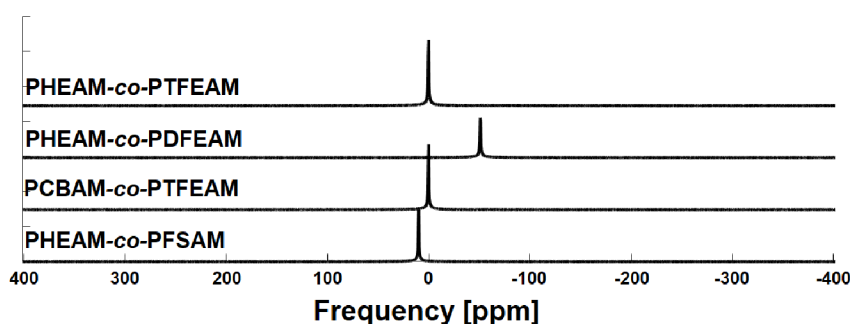


Obr. 15 3D zobrazení 1D nelokalizovaných MRS dat [autor]

Data z Obr. 15 ukazují  $^{19}\text{F}$  nelokalizovaná spektra vzorku PHEAM-co-PFSAM, která se vzájemně lišila pouze parametrem TR, je patrné, že s rostoucí hodnotou TR roste taktéž intenzita signálu. Na základě proložení intenzit signálů funkcí  $y = a \cdot (1 - e^{-b \cdot x}) + c$ , lze vyhodnotit časovou konstantu  $T_1$  měřeného vzorku.

- Offset

Tato možnost se jeví jako možný kompromis mezi výchozím a 3D pohledem, kdy zároveň lze spektra mezi sebou posunout o uživatelsky nastavitelný offset na ose Y.

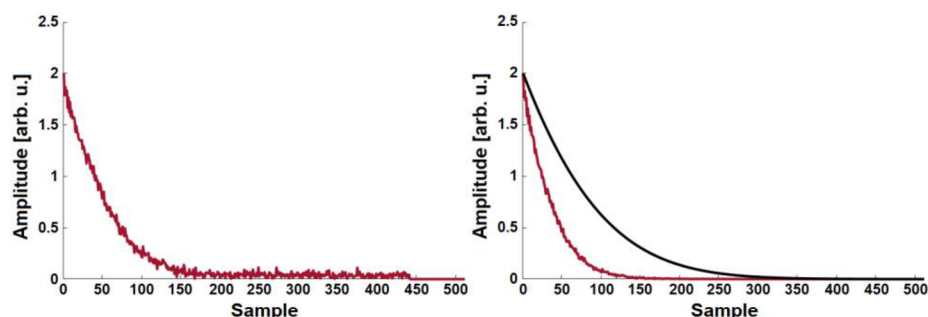


Obr. 16 Offset zobrazení 1D nelokalizovaných MRS dat [autor]

Na Obr. 16 se nachází tzv. offset zobrazení, zde čtyři  $^{19}\text{F}$  nelokalizovaná širokopásmová spektra s jednoznačným výskytem jednoho spektrálního vrcholu pro každý. Z náhledu lze vypožorovat, že druhé a čtvrté spektrum (shora) mají odlišný chemický posun od zbylých.

- FID

Náhled na jednotlivé signály FID (Obr. 17) v časové doméně je především orientační. Zároveň umožňuje zobrazit aplikovanou apodizační funkci s nastavenými parametry.



Obr. 17 FID zobrazení nelokalizované MRS látky PHEAM-co-PFSAM; neapodizovaný FID signál (vlevo); apodizovaný FID signál včetně apodizační funkce (vpravo) [autor]

### 3.5.4 Export 1D spektroskopických dat

Při zpracovávání spektroskopických dat, je nutné nabídnout uživatelům mj. export zpracovaných dat pro další použití. K tomu, abychom mohli data vhodně exportovat je příhodné, aby bylo možné přistupovat individuálně k jednotlivým parametrům jim náležejících signálů. Tohoto jsme docílili využitím datového typu `struct` (strukturní pole), do kterého jsou parametry načtených signálů uloženy, uložené parametry jsou např. datum a čas akvizice, délka měření, základní pulzní parametry (Obr. 18A). V průběhu kvantifikace, tedy při výpočtu SNR a určitého integrálu, jsou výsledky taktéž ukládány do strukturního pole náležícího signálu (Obr. 18B). Není-li provedena kvantifikace jsou odpovídající hodnoty po exportu nulové.

|            |   |            |   |
|------------|---|------------|---|
| <b>(A)</b> | <pre> signal: [512x1 double] BW: 8.1699e+03 f0: 188.6384 Scan_Time: '0h5m0s0ms' Nucleus: '19F' Protocol: '19F_Singlepulse_40ppm' Acquisition_Date: '14:41:32 25 Feb 2023' EchoTime: '[]' Repetition_Time: '500' NAverages: '600' </pre> | <b>(B)</b> | <pre> Signal_Amplitude: '9.8664e+07' Amplitude_In_SNR_Range: '9.8664e+07' SNR_NoiseAsSTD: 161.1209 SNR_NoiseAsPeak: 34.8831 Integral: '7.486e+08' Integral_Whole_Spectrum: '2.0270e+09' FWHM: '1.268848' </pre> |
|------------|---|------------|---|

Obr. 18 Ukázka strukturního pole načteného signálu; (A) základní pulzní parametry; (B) kvantifikované parametry [autor]

Je-li načteno více signálů najednou, poté je kvantifikace provedena pro každý načtený signál automaticky na základě uživatelského nastavení, není tedy nutné provádět kvantifikaci pro každé jednotlivé spektrum. Námi určené parametry ze strukturního pole je možné exportovat do tabulkového formátu externího souboru pro další zpracování (Obr. 19).

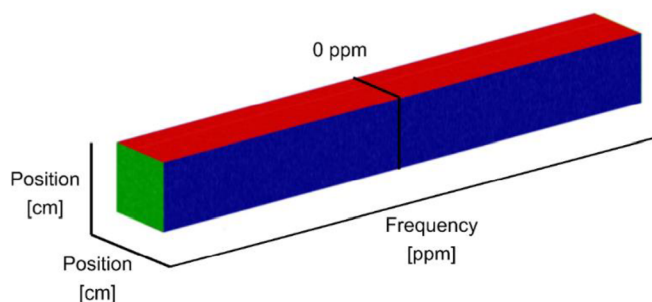
|   | A  | B              | C                     | D                    | E          | F          | G         | H              | I            | J        | K        | L        |
|---|----|----------------|-----------------------|----------------------|------------|------------|-----------|----------------|--------------|----------|----------|----------|
| 1 | Id | File Location  | Protocol              | Acquisition_Date     | Scan_Time  | Repetition | NAverages | Signal_Amplitu | Amplitude_In | SNR_Nois | SNR_Nois | Integral |
| 2 | 1  | C:\Users\havl\ | 19F_Singlepulse_40ppm | 14:36:58 25 Feb 2023 | 0h0m1s0ms  | 500        | 2         | 4,99E+05       | 4,99E+05     | 5,05     | 21,42    | 2,93E+06 |
| 3 | 2  | C:\Users\havl\ | 19F_Singlepulse_40ppm | 14:37:04 25 Feb 2023 | 0h0m5s0ms  | 500        | 10        | 1,74E+06       | 1,74E+06     | 6,73     | 27,04    | 1,04E+07 |
| 4 | 3  | C:\Users\havl\ | 19F_Singlepulse_40ppm | 14:37:12 25 Feb 2023 | 0h0m10s0ms | 500        | 20        | 3,35E+06       | 3,35E+06     | 9,93     | 37,69    | 2,08E+07 |
| 5 | 4  | C:\Users\havl\ | 19F_Singlepulse_40ppm | 14:37:25 25 Feb 2023 | 0h0m30s0ms | 500        | 60        | 9,86E+06       | 9,86E+06     | 14,79    | 65,70    | 6,15E+07 |
| 6 | 5  | C:\Users\havl\ | 19F_Singlepulse_40ppm | 14:38:02 25 Feb 2023 | 0h1m0s0ms  | 500        | 120       | 1,97E+07       | 1,97E+07     | 20,58    | 89,10    | 1,21E+08 |
| 7 | 6  | C:\Users\havl\ | 19F_Singlepulse_40ppm | 14:39:17 25 Feb 2023 | 0h2m0s0ms  | 500        | 240       | 4,02E+07       | 4,02E+07     | 38,59    | 142,15   | 2,45E+08 |
| 8 | 7  | C:\Users\havl\ | 19F_Singlepulse_40ppm | 14:41:32 25 Feb 2023 | 0h5m0s0ms  | 500        | 600       | 9,87E+07       | 9,87E+07     | 33,94    | 161,57   | 6,10E+08 |

Obr. 19 Ukázka exportovaných parametrů [autor]

### 3.6 Program pro zpracování CSI dat

Doposud byl v laboratoři experimentální MR v IKEM pro základní práci s CSI daty využíván volně dostupný program *ImageJ* (<https://imagej.nih.gov/ij/>, verze 1.53e, Národní institut zdraví, Bethesda, USA), který je určen především pro zpracování a analýzu obrazu. Problémem je, že rozhraní programu není koncipováno pro CSI data a práce s ním je tak relativně časově náročná, neintuitivní a zároveň neposkytuje možnost náhledu na spektra, stejně tak jako jejich případný post-processing. Z této výchozí situace vznikl podnět, zdali by nebylo možné vytvořit dedikovaný nástroj, který by uživatelům nabízel funkce ke zpracování dat naměřené metodou spektroskopického zobrazování. Celkový náhled na vytvořený nástroj se nachází v Příloze C.

Před začátkem vývoje programu si je vhodné uvědomit, že výsledkem CSI sekvence je kvádr, který je tvořen mnoha voxely, díky čemuž lze tímto kvádrem provádět rovinné řezy. Pro názornost jsou na kvádru (Obr. 20) barevně rozlišené plochy; voxely podél červené a modré plochy náleží příslušné frekvenci, respektive hodnotě chemického posunu. Umístění na zelené ploše udává prostorovou informaci odkud daný signál ze vzorku pochází. Procházíme-li zelenou plochou „zleva doprava“ můžeme pozorovat, zdali se na určité frekvenci nachází signál z pozorovaného objektu.



Obr. 20 3D ilustrativní náhled na CSI sekvenci [autor]

#### 3.6.1 Představení CSI experimentu

Nejdříve si představíme jednoduchý experiment, na kterém budou funkce nástroje postupně prezentovány. Cílem experimentu je pokrýt základní možnosti metody CSI. Využito bude

metody fluorové  $^{19}\text{F}$  MR. Pro toto ukázkové měření bylo připraveno pět fantomů se shodným objemem  $V = 500 \mu\text{L}$ . Číselné označení a obsah zkumavek je vypsan níže, včetně referenčního  $^1\text{H}$  snímku ukazující rozložení zkumavek (Obr. 21).

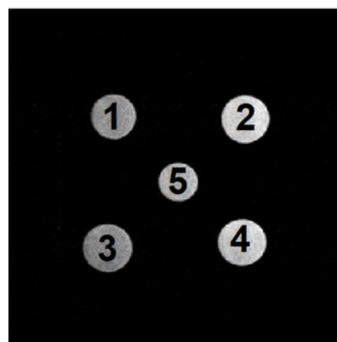
1) PCBAM-co-PTFEAM

2) PHEAM-co-PTFEAM

3) PHEAM-co-PDFEAM

4) PHEAM-co-PFSAM

5) Destilovaná voda



Obr. 21 Použité fantomy; seznam použitých sloučenin (vlevo);  $^1\text{H}$  MRI znázorňující rozložení zkumavek (vpravo) [autor]

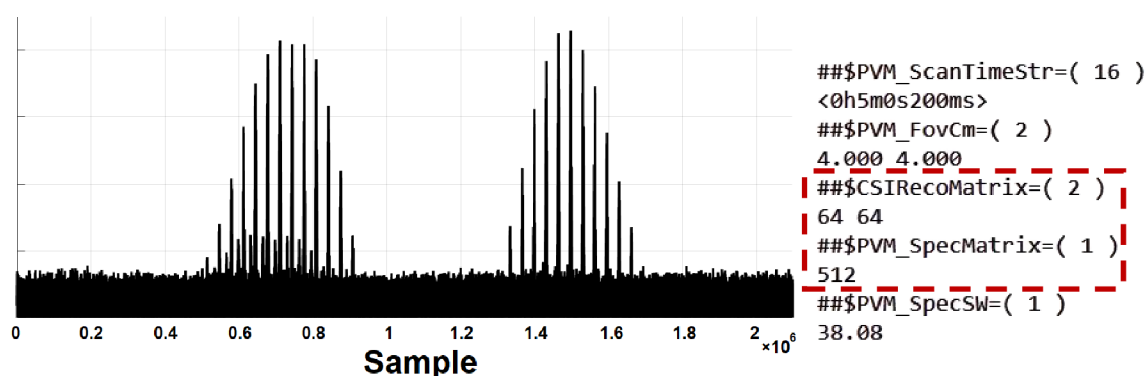
Voda je zde využita pouze pro referenční účely, jelikož se jedná o  $^{19}\text{F}$  MR a voda neobsahuje jádra fluoru, nebude produkovat signál. Z již provedených a vyhodnocených single-pulse sekvencí víme, že vzorky (1) PCBAM-co-PTFEAM a (2) PHEAM-co-PTFEAM mají shodnou hodnotu chemického posunu, bude tedy docházet k jevu rezonance na shodné frekvenci, zatímco vzorek (3) PHEAM-co-PDFEAM a (4) PHEAM-co-PFSAM mají chemický posun, od prvních dvou vzorků, roven  $\Delta\delta \sim 53 \text{ ppm}$ , resp.  $\Delta\delta \sim 10 \text{ ppm}$ .

Základní parametry použité CSI sekvence jsou následující:  $\text{TR} = 200 \text{ ms}$ , šířka excitovaného pásma =  $38 \text{ ppm}$ , zorné pole =  $4 \times 4 \text{ cm}^2$ , prostorové rozlišení =  $2,5 \times 2,5 \times 18 \text{ mm}^3$ , doba skenu =  $5 \text{ min}$ . I přesto, že třetí vzorek PHEAM-co-PDFEAM obsahuje fluor, nebude produkovat jakýkoli signál, což je způsobeno tím, že jeho rezonanční frekvence je mimo excitovaný rozsah.

### 3.6.2 Načtení a základní náhled na CSI data

Po proběhlém měření je nutné naměřená data exportovat z měřicí stanice. Pro zpracování CSI dat potřebujeme tři soubory, první dva jsou soubory *method* a *acqp*, z kterých je možné

vyčíst konkrétní parametry měřené sekvence. Třetím souborem je *2dseq*, který obsahuje vektor hodnot, z kterých vznikne výsledný obraz. Po načtení a zobrazení raw *2dseq* dat lze vidět, že data jsou uložena jako vektor (Obr. 22), který bude nutné převést na matici. Vektor je tvořen po sobě jdoucími spektry, které odpovídají výslednému obrazu, přičemž čím větší intenzita signálu spektra, tím jasnější bude korespondující voxel. K tomu abychom se mj. dozvěděli, jaké jsou rozměry nově vzniklé matice, je nutné přečíst hodnoty parametrů ze souboru *method* (Obr. 22). Parametr `##$CSIRecoMatrix` udává velikost výsledné matice a `##$PVM_SpecMatrix` představuje délku jednotlivých signálů. K transformaci vektoru na matici o potřebných rozměrech můžeme využít vestavěnou funkci `reshape`.



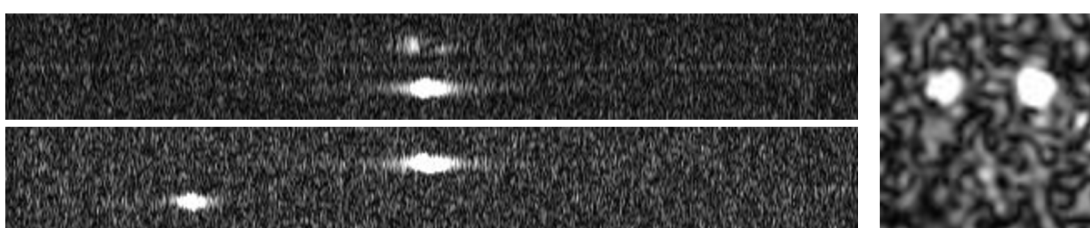
Obr. 22 Informace o surových CSI datech; vektor CSI dat (vlevo), výběr parametrů ze souboru *method* (vpravo) [autor]

Podíváme-li se na prezentovaná data, tak vektor hodnot je nutné převést na matici o velikosti  $64 \times 64 \times 512$ . Pozn. vzájemným vynásobením těchto hodnot vychází 2 097 152, což se rovná délce vektoru z Obr. 22 a tedy i celkovému počtu voxelů. Pro každý provedený sken se proměnné mohou lišit, je tedy nezbytné při načítání dat zautomatizovat čtení datového souboru.

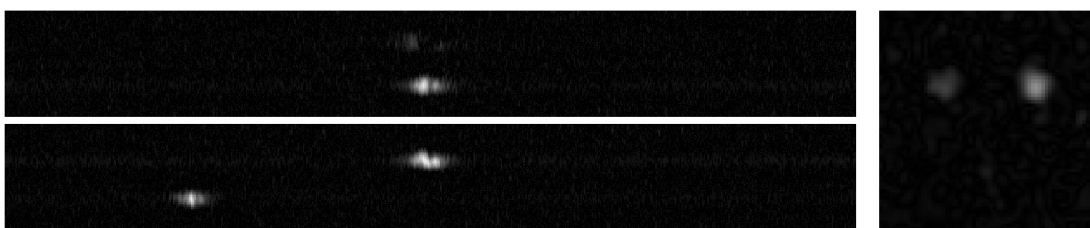
Po převedení do podoby matice a provedení normalizace hodnot, tedy převedení do rozsahu  $(0,1)$ , lze již vybraný řez v jedné ze tří rovin, zobrazit jako 2D matici, tedy obrázek v odstínech šedi, pomocí funkce `imshow`, která pro svoji funkčnost vyžaduje *Image Processing Toolbox*.

V úvodu této kapitoly bylo řečeno, že dosud byl využíván pro zpracování CSI dat freeware *ImageJ*. Z tohoto důvodu byl tento software využíván i v raných fázích vývoje, jako možnost porovnání s tím, zdali data prezentována námi vytvářeným programem odpovídají již osvědčené reprezentaci.

Podíváme-li se na následující snímky zpracovaných pomocí *ImageJ* (Obr. 23) a naším programem (Obr. 24), tak na první pohled to vypadá, že se data značně liší, to je ale způsobeno tím, že program *ImageJ* provádí automatickou úpravu kontrastu.



Obr. 23  $^{19}\text{F}$  CSI řezy zobrazené pomocí programu *ImageJ*; náhled na frekvenční rovinu (vlevo); náhled na prostorovou rovinu (vpravo) [autor]

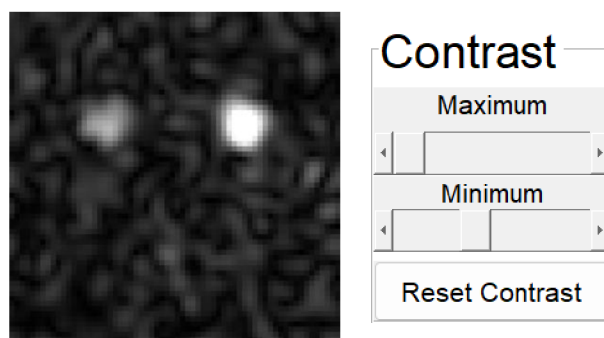


Obr. 24  $^{19}\text{F}$  CSI řezy zobrazené pomocí vytvořeného programu; náhled na frekvenční rovinu (vlevo); náhled na prostorovou rovinu (vpravo) [autor]

Data z Obr. 23 a Obr. 24 představují náhodně vybrané řezy z frekvenční nebo prostorové roviny naměřené CSI sekvencí (viz Obr. 20). Snímky vlevo znázorňují data z frekvenční roviny, zatímco snímek vpravo udává prostorovou informaci. Již ze snímku vpravo je možné pozorovat, že fantomy s označením (1) a (2), viz Obr. 21, rezonují na shodné frekvenci.

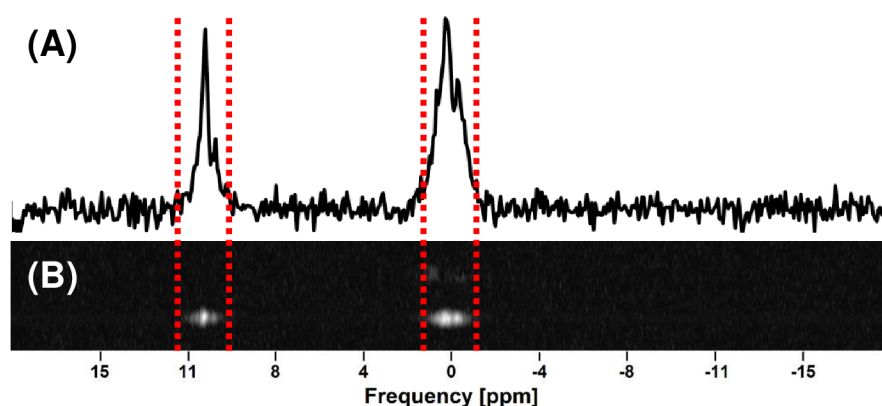
Z tohoto porovnání je patrné, že nastavení kontrastu je jednou ze základních technik při zpracování obrazu, proto byla tato možnost implementována i v našem nástroji. Pomocí dvou posuvníků lze ovlivnit parametry vestavěné funkce `imadjust`, čímž dochází ke změně výsledného kontrastu obrazu dle potřeb uživatele (Obr. 25).





Obr. 25 Obraz s upraveným kontrastem a odpovídající rozhraní s nastavením [autor]

Data naměřená pomocí metody spektroskopického zobrazování vytváří 3D matici, což nám umožňuje procházet třemi na sobě kolnými rovinami a přesně lokalizovat oblast našeho zájmu (viz Obr. 20). Ve vytvořeném programu jsou tyto roviny pojmenovány jako *Front* (zepředu), *Top* (shora), *Side* (ze strany). Data, na která se díváme z boku (označováno jako *side*) odpovídají prostorové informaci na dané frekvenci, z tohoto důvodu bývá boční náhled nejpraktičtější a nejčastěji využívaný. Pohledy zepředu a shora lze např. využít pro celkový náhled, na jakých frekvencích se vyskytuje signál, což si můžeme znázornit na Obr. 26 níže. Po sumaci všech naměřených spekter získáme výsledné spektrum, které když porovnáme s pohledem shora uvidíme jednoznačný překryv frekvencí. Z tohoto pohledu je patrné, že signál bude viditelný, alespoň na dvou frekvenčních rozmezech a to  $\delta \sim 0$  ppm a  $\delta \sim 10$  ppm.



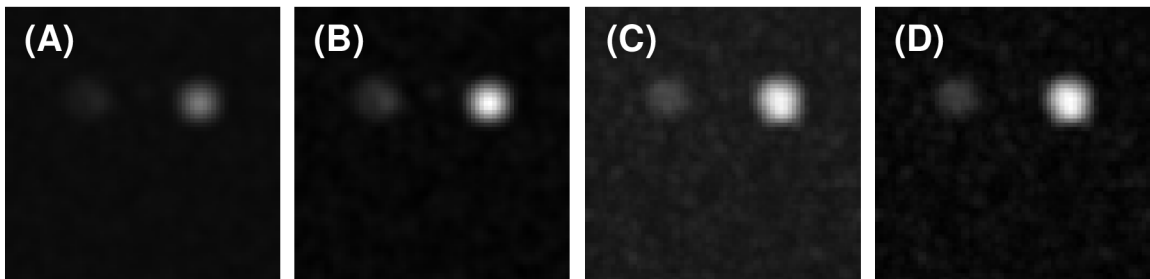
Obr. 26 Frekvenční prolnutí  $^{19}\text{F}$  MRS/CSI; (A) součet všech naměřených spekter; (B) vybraný řez z frekvenční roviny [autor]



### 3.6.3 Průměrování a projekce maximální intenzity

Různých vizualizačních technik CSI dat můžeme využít i díky tomu, že jedna z mnohých vlastností MR spekter je, že mají spektrální šířku, což naznačuje, že signál s různou intenzitou je rozprostřen napříč určitým rozsahem frekvencí. Tato vlastnost nám umožňuje implementovat vizualizační techniku, ve které si uživatel může libovolně vybrat rozsah řezů odpovídající různým frekvencím a provést výpočetní operaci, která z 3D matice vytvoří 2D obrázek, přičemž tento obrázek je zpravidla vhodnější jak pro vizualizaci, tak i interpretaci.

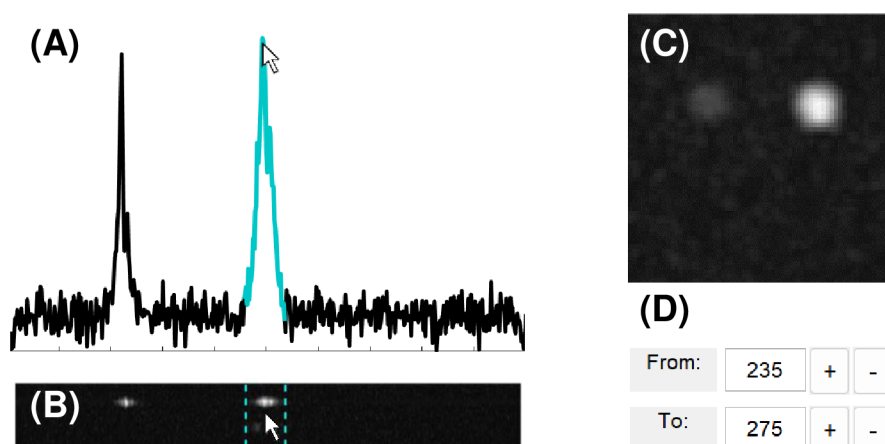
Dvě z nejčastěji používaných metod je průměrování dat a tzv. projekce maximální intenzity (MIP), z angl. Maximum Intensity Projection. Průměrování zahrnuje sumaci hodnot jednotlivých pixelů, resp. voxelů z vybraného rozsahu řezů, a tento součet je vydělen počtem vybraných řezů. Na druhou stranu, MIP je 3D technika objemového vykreslování dat, která na výsledném snímku zobrazí nejvyšší hodnotu voxelu podél rozsahu vybraných řezů z dané roviny, díky tomu může poskytovat lepší náhled na užitečný signál. Bez ohledu na vybranou metodu, můžeme výslednou 2D matici přeškálovat na hodnoty pixelů do rozsahu 0 až 1.



Obr. 27 Transformační zobrazovací techniky průměrování a MIP; (A) průměr; (B) průměr s přeškálováním; (C) MIP; (D) MIP s přeškálováním [autor]

Na příkladu z Obr. 27 můžeme ukázat základní efekt použitých transformačních technik, např. na Obr. 27A vidíme, že pozadí je výrazně potlačeno, ale s tím i hledaný signál, na druhou stranu z Obr. 27C je patrné, že nedochází ke ztrátě užitečné informace, ale pozadí může dosahovat relativně vysokých hodnot. Vhodným řešením se tedy jeví normalizovat výsledná data pomocí přeškálování. Nicméně, optimální zobrazovací technika závisí na analyzovaných datech a nelze ji tak předem určit.

Abychom mohli jednoduše a efektivně lokalizovat vhodný rozsah řezů, jsou implementovány dva různé náhledy: sumace všech spekter (Obr. 28A) nebo MIP náhled všech řezů podél frekvenční osy (Obr. 28B). V okamžiku, kdy si uživatel klikne na oblast zájmu, rozsah se automaticky vybere a označí právě kolem vybrané oblasti. Na základě zvolené transformační techniky (MIP nebo průměr), se výsledný obrázek interaktivně zobrazí (Obr. 28C). Kromě toho, je zde také možnost ručně přepisovat rozsah řezů (Obr. 28D).



Obr. 28 Interaktivní možnosti výběru rozsahu řezů; (A) sumace všech spekter s výběrem rozsahu; (B) náhled na frekvenční rovinu s možností výběru; (C) výsledný snímek z daného rozsahu; (D) manuální možnost výběru rozsahu [autor]

### 3.6.4 Hot-Spot zobrazování

Tzv. hot-spot zobrazování je častou doménou při měření X-nuclei, tedy nevodíkových jader, která nemají takové zastoupení v biologickém systému. Při náhledu na výsledek nevodíkového skenu nejsme často schopni přesně určit lokalizaci naměřených dat. Z tohoto důvodu je taktéž naměřen referenční  $^1\text{H}$  sken se shodnou geometrií. Tyto dva obrazy se následně přes sebe přeloží, čímž získáme představu o anatomickém původu měřeného X-nuclei signálu.

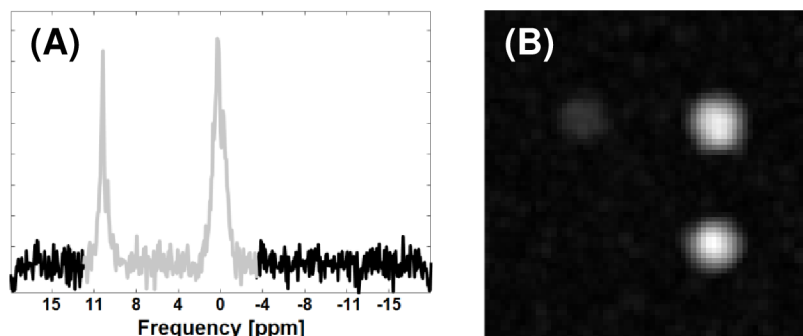
K tomu abychom mohli tuto zobrazovací techniku použít, je nezbytné přidat možnost načtení referenčního snímku. Bylo potřeba napsání funkcí, pomocí kterých můžeme tato MRI data načíst, zobrazit a dle potřeby změnit aktuálně zobrazený tomografický řez. Pro nahrání

referenčního  $^1\text{H}$  MR snímku vycházíme z dat, která se nacházejí v *2dseq* souboru referenčního měření. V praxi se ukázalo, že je vhodné přidat i nabídku načtení již exportovaných MRI dat, jež jsou uložena v běžném obrazovém formátu, především pokud uživatel nemá dostupný příslušný *2dseq* soubor. Při vybírání referenčního snímku má na výběr možnost buď načtení referenčního *2dseq* souboru, či obrazového souboru libovolného formátu.

Při překládání dvou obrazů využíváme různých matematických operací. Často se využívá metody odečtení, kdy každý prvek z referenčního obrazu je odečten od obrazu, který je tvořen CSI daty, vzhledem k povaze odčítání, tak výsledný přeložený obraz je tvořen komplementárními barvami. Oblíbenou alternativou je i prosté proložení dvou vrstev s možností nastavení průhlednosti a potlačení hypointenzního signálu u X-nuclei dat.

Důležité je taktéž zmínit, že se zpravidla liší velikost měřené matice u  $^1\text{H}$  a X-nuclei dat s tím, že u X-nuclei je z důvodu nižší sensitivity nižší. Z tohoto důvodu je nutné provést převzorkování dat na odpovídající velikost, aby se oba obrázky překládaly správně. K tomuto můžeme využít metod interpolace, např. nejjednodušší možná implementace je metoda nejbližšího souseda, která přiřazuje hodnotu nového pixelu na hodnotu nejbližšího existujícího. Druhou, pokročilejší metodou je bilineární interpolace, kdy pro každý nový pixel se spočítá vážený průměr hodnot čtyř nejbližších existujících pixelů, čímž vzniká obrázek s vyšším rozlišením a zároveň s lepším vyhlazením hran než v případě metody nejbližšího souseda.

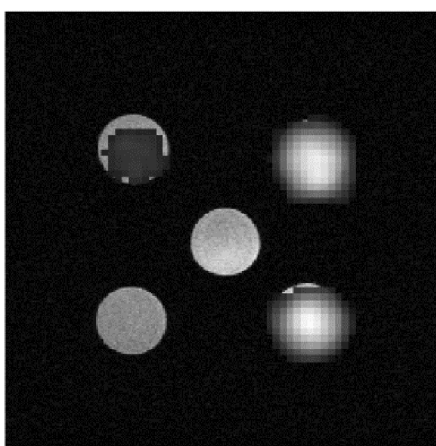
Na následující sadě snímků Obr. 29 až Obr. 31 je k vidění možnost postupného nastavení hot-spot zobrazování pomocí metody přeložení dvou snímků. Nejprve je nutné identifikovat vhodný rozsah, zde je ideálním způsobem nahlédnutí na sumaci spekter a vybrat oblast ohraničenou oběma vrcholy (Obr. 29A). Zobrazovací metoda MIP s přeškálováním byla využita k zobrazení transformovaného 2D snímku (Obr. 29B).



Obr. 29 Měření fantomů  $^{19}\text{F}$  CSI; (A) vybraný frekvenční rozsah zájmu (šedý podkres); (B) MIP snímek odpovídající rozsahu [autor]

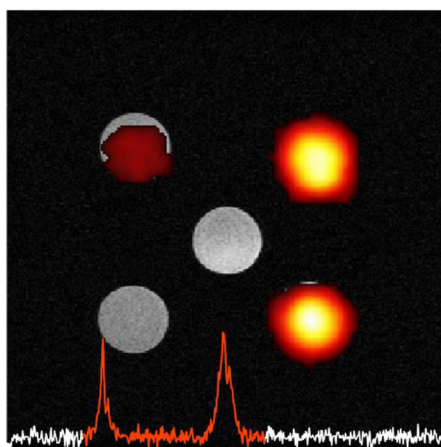
Z předchozí kapitoly zároveň víme, že peak nacházející se na  $\delta \sim 0$  ppm odpovídá dvěma chemickým sloučeninám, a to konkrétně PCBAM-*co*-PTFEAM a PHEAM-*co*-PTFEAM. Signál posunutý o 10 ppm náleží kopolymeru PHEAM-*co*-PFSAM.

Abychom ověřili, že překryv těchto tří  $^{19}\text{F}$  signálů opravdu koresponduje s jejich vodíkovým  $^1\text{H}$  zobrazením, je nutné provést potlačení pozadí. Nastavíme-li, že bude viditelných pouze 90 % nejjasnějších pixelů a zbytek se nebude zobrazovat, tak dosáhneme toho, že uvidíme i vodíkové pozadí a zároveň potvrdíme výskyt X-nuclei signálu na správné anatomické pozici (Obr. 30).



Obr. 30 Vybraný rozsah s potlačením hypointenzních oblastí [autor]

Pro větší přehlednost a názornost výsledku se v praxi mění barevná paleta z výchozí šedotónové na jiné barvy, např. paleta gradientu jednotlivých primárních barev (červená, zelená, modrá), nebo barvy doplňkové k barvám primárním. Nadefinovány byly i vícebarevné mapy, zároveň můžeme využít i zmíněné bilineární interpolace pro zjemnění hran (Obr. 31).



Obr. 31  $^{19}\text{F}$  snímek s potlačeným pozadím, změněnou barevnou mapou a bilineární interpolací, červená část spektra znázorňuje vybraný frekvenční rozsahu [autor]

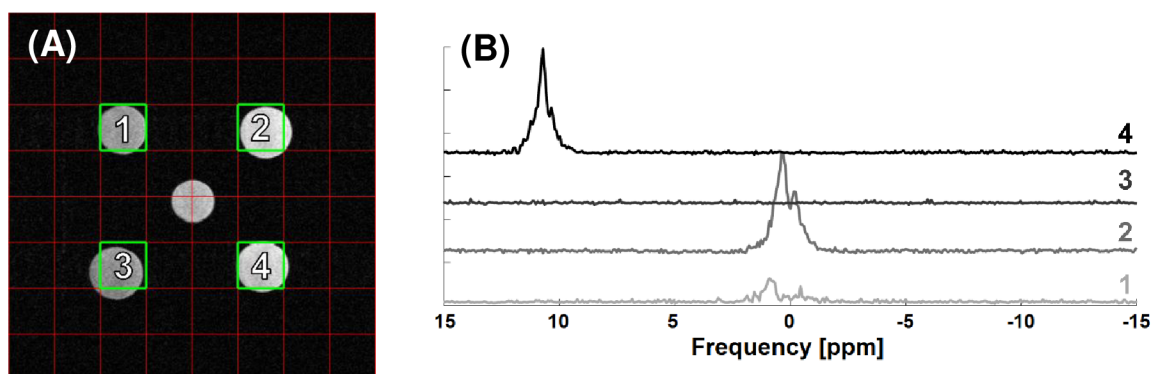
Dle předpokladů dva fantomy z Obr. 31 neprodukují fluorový signál, jedním z nich je destilovaná voda, ve které se nenacházejí jádra fluoru. Přestože druhý fantom obsahuje fluorová jádra, tak ty ale nebyla vybudena k jevu MR, protože mají relativně odlišnou hodnotu chemického posunu oproti třem zbylým fantomům.

### 3.6.5 Spektroskopická mřížka

Základní vlastností a předností CSI sekvencí je naměření vysokého počtu lokalizovaných spekter při jednom měření. V praxi se využívá toho, že uživatel si je schopen zobrazit referenční  $^1\text{H}$  snímek, který je rozdělen do čtvercové, tzv. spektroskopické mřížky a buďto si vybrat lokalitu, z které se mu externě zobrazí naměřené CSI spektrum nebo tato spektra jsou přímo zobrazena na referenčním snímku.

Vzhledem k tomu, že možnost načtení referenčního snímku jsme již provedli pro funkci hot-spot zobrazování, tak nám nic nebrání ani v implementaci zobrazení spekter na podkladě reference. Je možné si nastavit velikost mřížky v mocninách dvou, maximální velikost je samozřejmě limitována velikostí samotné matice naměřené sekvence. Pokud je např. velikost základní matice  $64 \times 64$ , tak nejsme schopni vytvořit matici o velikosti  $128 \times 128$  a větší, naopak můžeme velikost této matice snižovat. Snižíme-li výchozí matici  $64 \times 64$  na  $32 \times 32$ , tak se obsah „nového voxelu“ zvětší  $4 \times$ , a proto výsledné spektrum bude tvořeno průměrem čtyř spekter ( $2 \times 2$ ), která odpovídala matici předchozí velikosti.

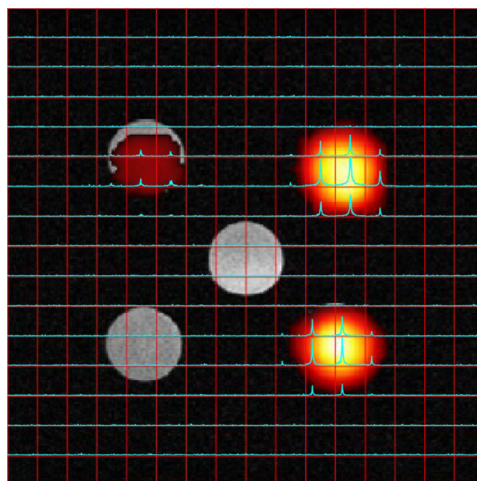
Po kliknutí na prostorovou lokalitu se tato vybraná oblast mřížky podbarví zelenou barvou a ve vedlejší části grafického rozhraní se zobrazí spektrum z vybrané oblasti. Na Obr. 32A je k vidění námi nastavená matice  $16 \times 16$ , kde oblasti označené čísly představují připravené vzorky a Obr. 32B spektra z námi vybraných oblastí. *Pozn. Obr. 32B vznikl až po exportu spekter a zobrazen v programu pro zpracování 1D MRS dat. V programu pro zpracování multi-voxel dat lze aktivně zobrazit pouze jedno spektrum.*



Obr. 32 MR fluorových fantomů; (A) vybrané voxely na podkladě spektroskopické mřížky; (B) spektra odpovídající vybraným voxelům [autor]

Druhou variantou, jak reprezentovat naměřená spektra je zobrazení spekter přímo na zpracovaném CSI snímku nebo referenčním vodíkovém snímku. Zde je nutné vhodně nastavit velikost mřížky, pokud by byla mřížka nastavena moc hustě nemusel by být výsledek čitelný. Pokud je provedeno vhodné nastavení, poté nám tato možnost zobrazení nabízí

rychlý a komplexní náhled na naměřená data, viz ukázka na Obr. 33. Mezi limitace, se kterými je nutné počítat, je situace, kdy voxel CSI sekvence je na pomezí dvou rozdílných prostředí. Dochází poté k rušení z pozadí, toto můžeme částečně potlačit zjemněním vyhodnocované matice.



Obr. 33 Spektroskopická mřížka s přeloženými spektry odpovídající daným voxelům [autor]

### 3.6.6 Export CSI dat

Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.6.5 *Spektroskopická mřížka* u Obr. 32, tak jsme schopni naměřená spektra zobrazit i v prohlížeči 1D MRS dat, čímž je zajištěna vzájemná kompatibilita obou programů. Nabídku exportu využijeme především pokud budeme chtít zobrazit více spekter v jednom grafu v různých zobrazovacích módech, které již byly osvětleny v kapitole 3.5.3 *Možnosti zobrazení*, nebo pokud budeme chtít tato spektra vzájemně kvantifikovat, ať už se jedná o výpočet plochy pod křivkou, či určení SNR.

Uživatelům je poskytnuta možnost, zdali exportuje pouze jeden vybraný signál, či všechny signály na základě nastavené matice. *Např. bude-li nastavena matice velikosti 8x8 výsledný počet vzniklých souborů bude 64.* Pro přehlednost jsou názvy vytvořených souborů uloženy ve formátu *ExportedData\_RowX\_ColumnY*, kde *X* udává řádek a *Y* sloupec mřížky.







Protože výzkum probíhá na preklinickém pracovišti, tak při *in vivo* pokusech se využívá zvířecích modelů, zpravidla myši a potkanů. Zvíře je v průběhu měření ve stavu celkové anestezie, ve kterém, ze zřejmých důvodů, nemůže přetrvávat delší dobu, je tedy nutná časová optimalizace, např. použitím relativně krátkých měřících sekvencí.

K provádění anestezie je v laboratoři využíván anesteziologický přístroj v podobě odpařovače, jako anestetikum se používá isofluran o koncentraci 0,5-5 %. Při anestezii je hlodavec umístěn do uzavřeného průhledného boxu s přívodem pro anesteziologický plyn a v řádu minut je dosaženo stavu celkové anestezie.

Injekce obsahující *F5H2* s objemem  $V = 200 \mu\text{L}$  byla subkutánně podána zdravé myši kmene BALB/c do pravé zadní nohy (Obr. 35). Vzhledem k tomu, že toto měření je bráno jako tzv. *proof of concept*, tak místo vpichu bylo vybráno především ze dvou důvodů: 1) relativně jednoduchá aplikace a 2) možnost názorného porovnání signálů z pravé a levé nohy, s tím, že levá noha slouží jako kontrola.



Obr. 35 Subkutánní podání kontrastní látky [autor]

Před přemístěním zvířete „do cívky“ je nezbytné použít oční gel, abychom zabránili vysušení očí v průběhu experimentu, což by mohlo zapříčinit oslepnutí. Přívod anesteziologického plynu je následně zaveden na držák cívky, do kterého pomůžeme hlodavci se zakousnout, díky čemuž dochází k přímé inhalaci anesteziologického plynu. Ke sledování životních funkcí je použit senzor dýchání umístěný pod tělem.

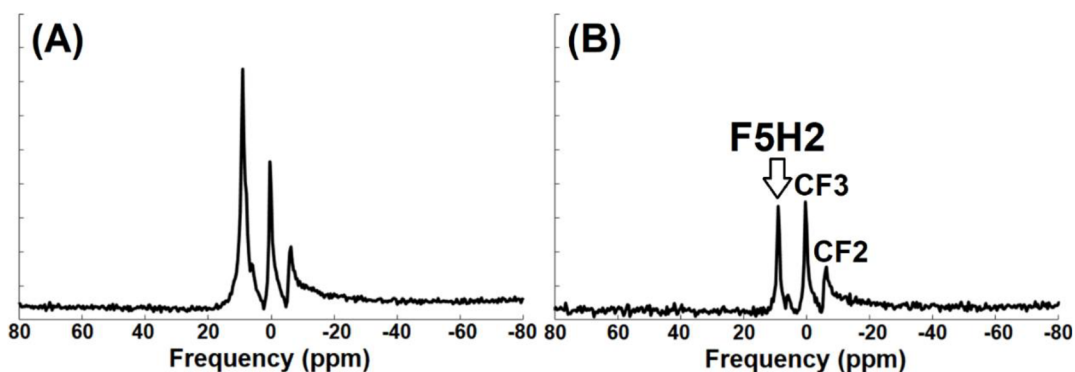
Pro měření jsme využili duální  $^1\text{H}/^{19}\text{F}$  přeladitelnou povrchovou radiofrekvenční cívku, která byla zkonstruována v laboratoři experimentální MR v IKEM. Takto přeladitelné cívky se

využívají k tomu, abychom mohli provést jak  $^1\text{H}$ , tak  $^{19}\text{F}$  MR měření, aniž bychom museli zvíře vytahovat z diagnostického přístroje a měnit cívku. Díky tomu si zachováme jednoznačnou a neměnnou lokalizaci objektu. Po straně této RF cívky jsme taktéž přiložili *F5H2* ve zkumavce o objemu  $V = 200 \mu\text{L}$  pro referenční účely.

Přesto, že nás především zajímá výskyt injektovaného fluoropolymeru, tak je nutné provést i referenční vodíkové MRI na jehož podkladě bude  $^{19}\text{F}$  MR měření vyhodnoceno. Pro  $^1\text{H}$  zobrazování byla provedena standardní zobrazovací sekvence typu spin echo se základními parametry:  $\text{TR} = 3000 \text{ ms}$ ,  $\text{TE} = 12 \text{ ms}$ , doba akvizice = 1 min 12 s, prostorové rozlišení =  $0,137 \times 0,137 \times 0,85 \text{ mm}^3$ .

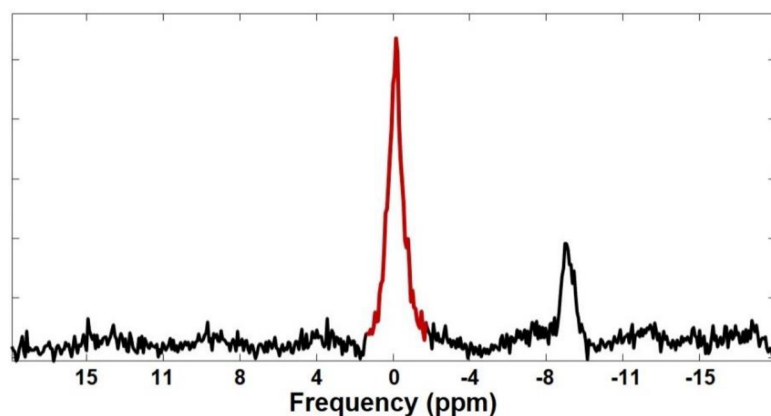
Pro detekci fluorového signálu byla nejdříve použita základní nelokalizovaná MRS sekvence typu single-pulse s parametry:  $\text{TR} = 2000 \text{ ms}$ , doba akvizice = 5 min, šířka pásma = 200 ppm. Naměřené spektrum ukázalo tři jasně rozlišitelné vrcholy, přičemž jeden reprezentuje sumaci námi injektovaného polymeru *in vivo* a referenčního fantomu na straně cívky, zbylé dva jsou vrcholy isofluranu. *Pozn. důvodem dvou peaků isofluranu jsou jeho dvě funkční skupiny obsahující fluor ( $\text{CF}_3$  a  $\text{CF}_2$ )* (Obr. 36A).

V této situaci nejsme schopni s jistotou přiřadit jednotlivé peaky k odpovídajícím sloučeninám. Právě z tohoto důvodu je na boku cívky umístěna referenční zkumavka s *F5H2*, kterou můžeme vyjmout, aniž bychom změnili pozici cívky, resp. myši uvnitř magnetu. Po odejmutí jsme provedli shodnou spektroskopickou sekvenci, která ukázala, že u peaku nejvíce vlevo nastal značný pokles intenzity, jedná se tedy o námi sledovaný polymer. Zbylé dva vrcholy náleží isofluranu (Obr. 36B). Intenzita isofluranových peaků se mezi měřeními lehce liší, což je způsobeno neustále měnící se koncentrací vdechovaného anesteziologického plynu uvnitř systému.



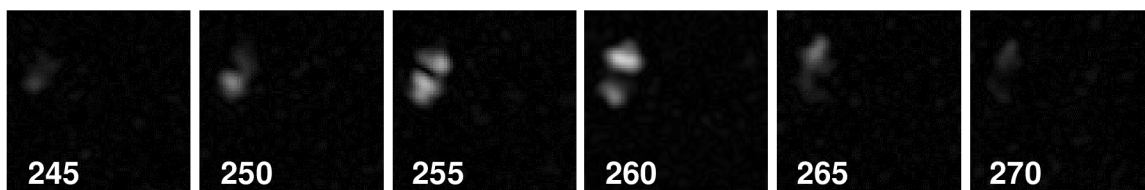
Obr. 36  $^{19}\text{F}$  *in vivo* MRS se třemi jasně rozlišitelnými vrcholy; (A) před vyjmutím referenční zkumavky; (B) po vyjmutí reference (shodné měřítko) [autor]

Díky jednoznačnému potvrzení výskytu fluorového signálu pomocí single-pulse sekvence, můžeme přejít na CSI spektroskopické zobrazování. Použité parametry sekvence jsou následující: TR = 200 ms, šířka pásma = 38 ppm, prostorové rozlišení =  $2,8 \times 2,8 \times 10 \text{ mm}^3$ , doba akvizice = 13 min 40 s.



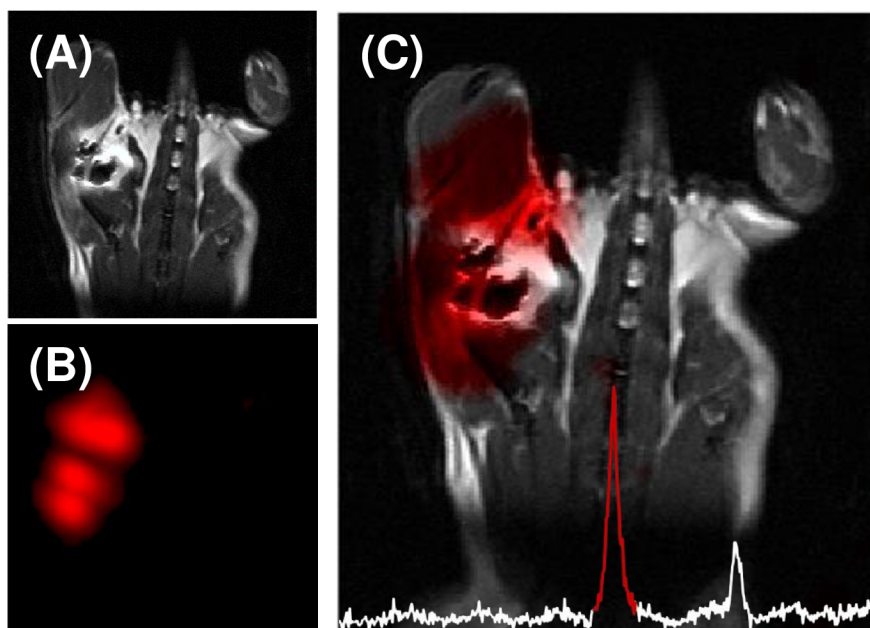
Obr. 37  $^{19}\text{F}$  *in vivo* CSI součet naměřených spekter s barevně označeným frekvenčním rozsahem [autor]

Podíváme-li se výše na sumu všech spekter, naměřených CSI sekvencí (Obr. 37), tak můžeme jednoznačně pozorovat signál *F5H2* i funkční skupinu *CF<sub>3</sub>* isofluranu. Námí sledovaný signál se nachází přibližně na frekvenčním rozsahu  $\sim 2,5 \text{ ppm}$ , vybraný rozsah je barevně znázorněn. Pro názornost je na následující sadě snímků (Obr. 38) zobrazen každý pátý řez z vybrané frekvenční oblasti.



Obr. 38  $^{19}\text{F}$  *in vivo* CSI řezy z rozsahu 245-270 [autor]

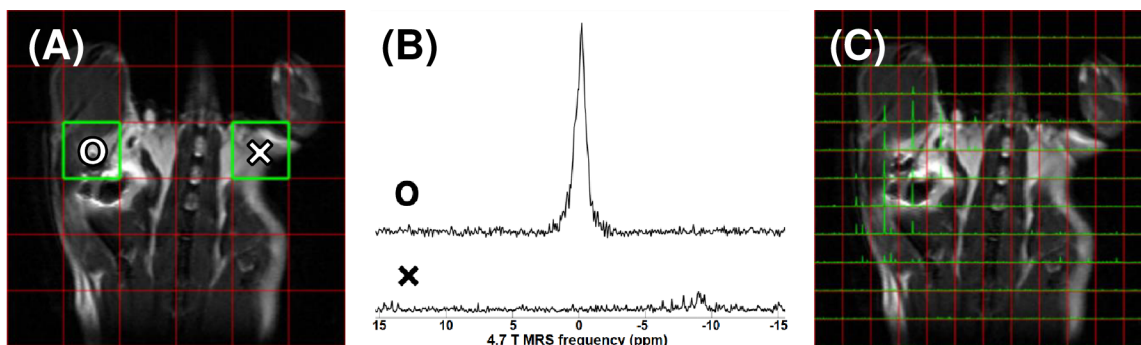
Po vybrání vhodného rozsahu řezů můžeme přejít na lokalizaci naměřeného signálu na podkladě vodíkové reference. Toho můžeme docílit např. odečtením referenčního snímku (Obr. 39A) od MIP snímku (Obr. 39B). Po přeložení můžeme pozorovat, že signál se opravdu nachází pouze v pravé noze, tak jak jsme předpokládali (Obr. 39C).



Obr. 39  $^1\text{H}$  MRI a  $^{19}\text{F}$  CSI *in vivo*; (A) referenční  $^1\text{H}$  měření; (B)  $^{19}\text{F}$  CSI data; (C) přeložená referenční a CSI data potvrzující výskyt fluoropolymeru včetně barevného znázornění spektroskopického rozsahu [autor]

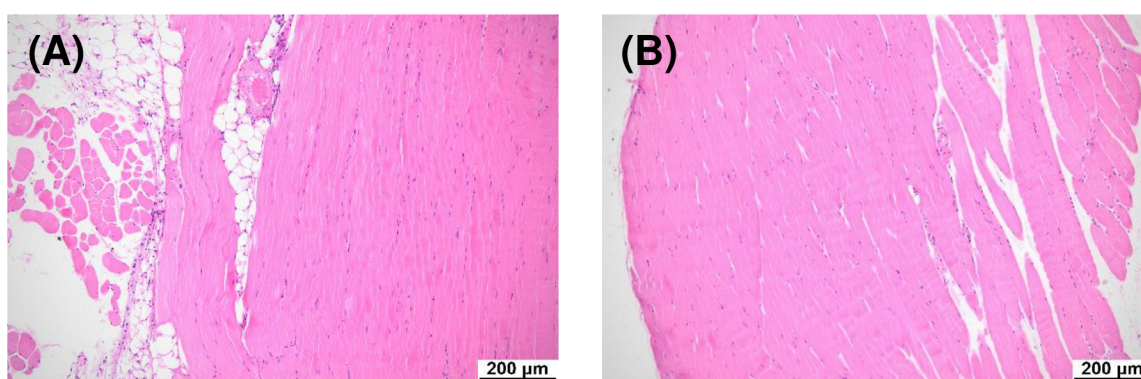
Na následující straně se nachází Obr. 40, který nabízí shodné informace jako Obr. 39C, ale předkládá tato data jinou formou. Na Obr. 40A je vidět spektroskopická mřížka se dvěma vybranými voxely, kterým odpovídají spektra na Obr. 40B, pod znakem 'o' se skrývá signál z pravé nohy, u kterého vidíme jednoznačný výskyt polymeru *F5H2*. Zatímco symbol

'x' reprezentuje kontralaterální voxel z levé nohy, ve kterém se signál nenachází. Spektroskopická mřížka s přeloženými spektry je zobrazena na Obr. 40C.



Obr. 40  $^{19}\text{F}$  CSI *in vivo*; (A) spektroskopická mřížka s vybranými voxely; (B) spektroskopická data odpovídající danému voxelu; (C) spektroskopická mřížka s přeloženými spektry [autor]

Po pěti měsících od subkutánní aplikace fluoropolymerní látky byla myš humánně usmrcena předávkováním anesteziologického plynu, tak aby mohlo být provedeno histologické vyšetření. Byla provedena excize podkoží a svalové tkáně v okolí místa vpichu a také kontralaterální tkáně jakožto kontrola. Vyšetření bylo provedeno pracovištěm klinické a transplantační patologie, IKEM a neodhalilo jakýkoli patologický nález, čímž dále potvrdilo netoxicitu kontrastní látky (Obr. 41).



Obr. 41 Normální histomorfologie kosterního svalstva a tukové tkáně s periferními nervy a cévami; (A) tkáň v okolí místa vpichu; (B) kontralaterální tkáň (kontrola) [autor]

## 4 Diskuze

Vývoj nástrojů pro zpracování MR spektroskopických dat, je kritickou oblastí výzkumu, protože tyto nástroje jsou nezbytné pro přesnou analýzu a interpretaci naměřených dat, což z nich dělá nezbytnou součást pracovního procesu. Výsledky naší práce ukazují potenciál dvou námi vyvinutých nástrojů pro zpracování spektroskopických dat. Tyto nástroje byly důkladně otestovány a bylo prokázáno, že jsou vyhovující jak při měřeních *in vivo*, tak při měřeních na fantomech, což dokazuje jejich univerzálnost a využitelnost v široké škále aplikací MR spektroskopie. Mezi základní přednosti nástrojů zařadíme jejich jednoduchost použití, robustnost a dostatečnou univerzálnost.

Značný počet výzkumných skupin dává přednost vývoji vlastních nástrojů (např. [65-67]), před spoléháním se na komerčně dostupné možnosti. Toto je způsobeno tím, že komerční nástroje často postrádají specifickou a přizpůsobení potřebné pro jejich konkrétní výzkumné cíle. Vzhledem k tomu, že každá laboratoř se také zaměřuje na určitý směr výzkumu, tak ne každý vytvořený nekomerční nástroj je univerzální a vyhovující všem. Často se tak stává, že si daný tým vytvoří speciální nástroj pro určitou aplikaci, která pro jiné instituce není relevantní. Na tomto nic nemění, že je zde potenciální možnost spolupráce mezi laboratořemi, kdy výzkumní pracovníci se mohou od sebe navzájem inspirovat pro další rozvoj nástrojů.

Navzdory slibným výsledkům námi vytvořených nástrojů je důležité si uvědomit, že tyto nástroje nebudou nikdy plně kompletní, a že k plnému využití jejich potenciálu je nutný neustálý vývoj a zdokonalování. K průběžnému vývoji na základě zpětné vazby bude i nadále docházet, tak abychom zajistili, že nástroje budou splňovat potřeby experimentální MR laboratoře v IKEM, pro jejíž potřebu tyto nástroje vznikly. Nástroje jsou plně optimalizované na práci s MR daty, které jsou měřeny v rámci laboratoře na stroji *Bruker Biospec 4.7T* a příslušném software *Paravision 4.0*. I přes tuto skutečnost je zde možno provést ne tak rozsáhlé úpravy zdrojového kódu tak, aby vytvořené nástroje mohli být kompatibilní napříč různými laboratořemi a vybavením.

## 5 Návrh doporučení pro praxi

Vytvořené nástroje, které vznikaly v rámci této diplomové práce, se již v osvědčily v každodenní praxi, což dokazuje především to, že se jedná o základní nástroje, které jsou využívány při zpracování a analýze MR spektroskopických dat, které jsou měřeny členy výzkumného týmu laboratoře. Jak již bylo zmíněno, je nezbytný neustálý vývoj, díky kterému se bude neustále rozšiřovat nabídka funkcí, čímž zpřístupníme nové možnosti zpracování dat.

V rámci této práce byla také provedena sada *in vivo* měření, při kterém byla testována nová polymerní kontrastní látka na bázi jader fluoru  $^{19}\text{F}$ . Publikované výsledky [64] naznačují, že takto připravené částice by mohlo jít potenciálně použít jako nosiče pro podávání hydrofobních léčiv. Díky teoretické možnosti sledovat distribuci léčiva v těle pomocí magnetické rezonance otevírá tato oblast výzkumu a vývoje nové vyhlídky v kombinaci diagnostiky a terapie v jednom systému, tzv. teranostika.



## 6 Závěr

V diplomové práci, jež se primárně zabývala metodami zpracování MRS dat, jsme si stanovili čtyři cíle. V teoretické části práce jsme se zabývali třemi základními celky, první oblastí zájmu byl samotný popis fyzikálních principů jevu magnetické rezonance, následovány možnostmi digitálního zpracování MR dat. V závěru teoretické části jsme představili principy MR spektroskopie a nabídku využití této modality, jak v klinické, tak preklinické praxi.

Hlavním cílem bylo vytvoření dvou programů, v podobě uživatelských grafických rozhraní, ve vývojovém prostředí MATLAB. První program, sloužící ke zpracování tzv. lokalizovaných i nelokalizovaných 1D MRS dat, vychází z již obhájené bakalářské práce *Načítání a zpracování spektroskopických dat z magnetické rezonanční spektroskopie* [63], ve které byl vytvořen funkční prototyp programu. V této závěrečné práci jsme onen prototyp zdokonalili, tak aby ho mohli členové výzkumného týmu experimentální MR laboratoře v IKEM bez potíží využít pro rutinní zpracování a analýzu naměřených jednorozměrných spektroskopických dat. Vylepšení můžeme mj. pozorovat v možnostech vícenásobného načtení i exportu dat nebo přidání různých zobrazovacích módů.

Rovněž jsme vytvořili program, jenž lze využít ke zpracování dat pořízenými metodou CSI neboli metodou spektroskopického zobrazování. Uživateli je nabídnuta široká paleta nástrojů, jakými je například matematické zpracování více řezů do jednoho obrazu pomocí metody průměrování nebo projekce maximální intenzity, další možností je zpracování naměřených CSI dat na podkladě referenčního snímku. Uživateli si může taktéž interaktivně zobrazit jednotlivá lokalizovaná spektra na referenčním snímku. Nedílnou součástí je i export spekter, které následně lze zobrazit ve vytvořeném programu, sloužící pro zpracování 1D MRS dat.

V závěru výzkumné části práce byla provedena sada experimentálních *in vivo* měření nové kontrastní látky pro  $^{19}\text{F}$  MR zobrazování. Látka byla připravena ve spolupráci s Přírodovědeckou fakultou, Univerzity Karlovy. Naměřená, a námi vytvořenými programy i vyhodnocená, *in vivo* data naznačují významný klinický potenciál takto syntetizovaných fluorovaných nanočástic pro lékařské účely, což může zahrnovat intramuskulární nebo



subkutánní aplikace léčiva nebo využití jako markery pro zobrazování buněk, jakými jsou například transplantované pankreatické ostrůvky značené kontrastní látkou *in vitro*.

I díky použité metodice, kdy každý člen výzkumného týmu měl možnost zasahovat do vývoje programů, tak se staly tyto programy výlučným nástrojem, využívaným ke zpracování a analýze MR spektroskopických dat, které jsou měřeny v rámci projektů prováděných experimentální MR laboratoří v IKEM.

Výsledky této práce mají také výstup v podobě článku (úvodní strana viz Příloha D) v impaktovaném vědeckém časopise *Biomacromolecules* (IF = 6.988, Q1), přičemž se tento článek stal námětem obálky daného vydání (Příloha E).

Panakkal V., **Havlicek D.**, Pavlova E., Filipova M., Bener S., Jirak D. Sedlacek O. Synthesis of <sup>19</sup>F MRI Nanotracers by Dispersion Polymerization-Induced Self-Assembly of N-(2,2,2-Trifluoroethyl)acrylamide in Water. DOI 10.1021/acs.biomac.2c00981.

## Seznam použité literatury

- 1 CASCHERA, Luca et al. Contrast agents in diagnostic imaging: Present and future. *Pharmacological Research*. 2016, 110, 65-75. DOI 10.1016/j.phrs.2016.04.023.
- 2 WAHSNER, Jessica et al. Chemistry of MRI Contrast Agents: Current Challenges and New Frontiers. *Chemical Reviews*. 2019, **119**(2), 957-1057. DOI 10.1021/acs.chemrev.8b00363.
- 3 PETERSON, K., K. SRIVASTAVA a V. PIERRE. Fluorinated Paramagnetic Complexes: Sensitive and Responsive Probes for Magnetic Resonance Spectroscopy and Imaging. *Frontiers in Chemistry*. 2018, **6**(160), 1-21. DOI 10.3389/fchem.2018.00160.
- 4 ZIÓLKOWSKA, Natalia et al. Iron-doped calcium phytate nanoparticles as a bio-responsive contrast agent in <sup>1</sup>H/<sup>31</sup>P magnetic resonance imaging. *Scientific Reports*. 2022, **12**(1), 1-9. DOI 10.1038/s41598-022-06125-7.
- 5 *Beyond the Molecular Frontier: Challenges for Chemistry and Chemical Engineering*. Washington, D.C.: National Academies Press, 2003. ISBN 978-0309084772.
- 6 EDELMAN, R. Robert. The History of MR imaging as seen through the pages of radiology. *Radiology*. 2014, **273**(2), 181–200. DOI 10.1148/radiol.14140706.
- 7 JIRÁK, Daniel. MR buněčné zobrazování. *Česká radiologie*. 2017, **71**(4), 323-330. ISSN 1210-7883.
- 8 HAHN, Erwin. Free nuclear induction. *Physics Today*. 1953, **6**(11), 4-9. DOI 10.1063/1.3061075.
- 9 BROWN, Robert et al. *MAGNETIC RESONANCE IMAGING: Physical Principles and Sequence Design*. 2nd ed. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell, 2014. ISBN 978-0471720850.
- 10 PATCHING, Simon. NMR-Active Nuclei for Biological and Biomedical Applications. *Journal of Diagnostic Imaging in Therapy*. 2016, **3**(1), 7-48. DOI 10.17229/jdit.2016-0618-021.
- 11 REMAUD, Gerald et al. Isotope Ratio Monitoring by NMR. In: Graham WEBB. *Modern Magnetic Resonance*. 2nd ed. Springer. 2018, 1353-1378. ISBN 978-3-319-28387-6.
- 12 IRIGUCHI, Norio. The power sensitivity of magnetic resonance experiments. *Journal of Applied Physics*. 1993, **73**(2956). DOI 10.1063/1.353027.
- 13 ŠEDIVÝ, Petr et al. <sup>31</sup>P a <sup>19</sup>F MR spektroskopie a zobrazování v IKEM. *Česká radiologie*. 2017, **71**(4), 312–322. ISSN 1210-7883.
- 14 KONSTANDIN, Simon a Lothar R. SCHAD. 30 years of sodium/<sup>X</sup>-nuclei magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*. 2014, **27**, 1-4. DOI 10.1007/s10334-013-0426-z.
- 15 HARRIS, Robin et al. NMR Nomenclature: Nuclear Spin Properties and Conventions for Chemical Shifts. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*. 2002, **22**(4), 458–483. DOI 10.1006/snmr.2002.0063.
- 16 GRAAF, A. Robin. 2019. *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques*. 3rd ed. New Jersey: Wiley. DOI 10.1002/9781119382461.
- 17 HANSON, Lars. Is quantum mechanics necessary for understanding magnetic resonance? *Concepts in Magnetic Resonance Part A*. 2008, **32**(5), 329–340. DOI 10.1002/cmr.a.20123.

- 18 ARORA, Harneet. Review of basic Concepts involved in Magnetic Resonance Imaging. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2018, **8**(5). DOI 10.26717/BJSTR.2018.08.001726.
- 19 IBRAHIM, Elsayed. *Heart Mechanics: Magnetic Resonance Imaging. Mathematical Modeling, Pulse Sequences and Image Analysis*. 2017. ISBN 978-1-4822-6368-8.
- 20 BENEŠ, J., D. JIRAK a F. VÍTEK. *Základy lékařské fyziky*. 4. vyd. Praha: Karolinum. 2015. ISBN 978-80-246-2645-1.
- 21 MORRIS, Gareth. NMR Data Processing. In: *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. 2017. s. 125–133. DOI 10.1016/B978-0-12-409547-2.05103-9.
- 22 BLOCH, Felix. Nuclear Induction. *Physical Review*. 1946, **70**(7-8), 460-474. DOI 10.1103/PhysRev.70.460.
- 23 BITAR, Richard et al. MR Pulse Sequences: What Every Radiologist Wants to Know but Is Afraid to Ask. *RadioGraphics*. 2006, **26**(2), 513–537. DOI 10.1148/rg.262055063.
- 24 JUNG, Bernd André a Matthias WEIGEL. Spin echo magnetic resonance imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2013, **37**(4), 805–817. DOI 10.1002/jmri.24068.
- 25 GRAAF, Robin et al. High magnetic field water and metabolite proton T1 and T2 relaxation in rat brain in vivo. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2006, **56**(2), 386–394. DOI 10.1002/mrm.20946.
- 26 CURRIE, Stuart et al. Understanding MRI: basic MR physics for physicians. *Postgraduate Medical Journal*. 2013, **89**(1050), 209–223. DOI 10.1136/postgradmedj-2012-131342.
- 27 CHAVHAN, B et al. Principles, Techniques, and Applications of T2\*-based MR Imaging and Its Special Applications. *RadioGraphics*. 2009, **29**(5), 1433–1449. DOI 10.1148/rg.295095034.
- 28 LOENING, Nikolaus et al. Single-scan longitudinal relaxation measurements in high-resolution NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance*. 2003, **164**(2), 321–328. DOI 10.1016/S1090-7807(03)00186-1.
- 29 NITZ, W. R. a P. REIMER. Contrast mechanisms in MR imaging. *European Radiology*. 1999, **9**(6), 1032–1046. DOI 10.1007/s003300050789.
- 30 ELSTER, Allen. T1 and T2 effects. ELSTER, Allen. Questions and Answers in MRI [online]. ELSTER LLC. [cit. 2022-08-01]. Dostupné z: <https://mriquestions.com/opposite-effects-uarrt1-uarrt2.html>.
- 31 XIAO, Yu-Dong et al. MRI contrast agents: Classification and application (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2016, **38**(5). DOI 10.3892/ijmm.2016.2744.
- 32 VAN ZIJL, Peter C. M. a Nirbhay N. YADAV. Chemical exchange saturation transfer (CEST): What is in a name and what isn't? *Magnetic Resonance in Medicine*. 2011, **65**(4), 927–948. DOI 10.1002/mrm.22761
- 33 JIRAK, Daniel et al. Fluorine polymer probes for magnetic resonance imaging: quo vadis? *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 2019, **32**, 173-185. DOI 10.1007/s10334-018-0724-6.
- 34 AMBIGA, N. Analysis of Elements and Foods for the Human Body and Avoiding the Unnecessary Diseases using Big Data and Artificial Intelligence (Food Advisor). *IOSR Journal of Computer Engineering*. 2017, **19**(3), 57–67. DOI 10.9790/0661-1903025767.

- 35 BASHIR, Saima et al. Analog-to-digital converters: A comparative study and performance analysis. In: *2016 International Conference on Computing, Communication and Automation*. India: IEEE, 2016, 999–1001 DOI 10.1109/CCAA.2016.7813861.
- 36 SHANNON, CLAUDE E. Communication in the Presence of Noise. *Proceedings of the Institute of Radio Engineers*. 1949, **37**(1), 10-21. DOI 10.1109/jrproc.1949.232969.
- 37 MÜLLER, Meinard. *Fundamentals of Music Processing: Audio, Analysis, Algorithms, Applications*. Erlangen: Springer. 2015 ISBN 978-3-319-21944-8.
- 38 LINDON, C. a A. FERRIGE. Digitisation and data processing in Fourier transform NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. 1980, **14**(1), 27–66. DOI 10.1016/0079-6565(80)80002-1.
- 39 JIRU, Filip. Introduction to post-processing techniques. *European Journal of Radiology*. 2008, **67**(2), 202–217. DOI 10.1016/j.ejrad.2008.03.005.
- 40 ATWOOD, T., M. ROBBINS a J. ZHU. Quantitative in vivo proton MR spectroscopic evaluation of the irradiated rat brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2007, **26**(6), 1590–1595. DOI 10.1002/jmri.21095
- 41 ROSS, Brian a Stefan BLUML. Magnetic resonance spectroscopy of the human brain. *The Anatomical Record*. 2001, **265**(2), 54–84. DOI 10.1002/ar.1058.
- 42 BLOEMBERGEN, N., E. M. PURCELL a R. V. POUND. Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. *Physical Review*. 1948, **73**(7), 679–712. DOI 10.1103/PhysRev.73.679.
- 43 PROCTOR, W. G. a F. C. YU. The Dependence of a Nuclear Magnetic Resonance Frequency upon Chemical Compound. *Physical Review*. 1950, **77**(717). DOI 10.1103/PhysRev.77.717.
- 44 JANSEN, Jacobus et al. <sup>1</sup>H MR Spectroscopy of the Brain: Absolute Quantification of Metabolites. *Radiology*. 2006, **240**(2), 318–332. DOI 10.1148/radiol.2402050314.
- 45 ÖZ, Gülin et al. Clinical Proton MR Spectroscopy in Central Nervous System Disorders. *Radiology*. 2014, **270**(3), 658–679. DOI 10.1148/radiol.13130531.
- 46 HAJEK, Milan a Monika DEZORTOVA. Introduction to clinical in vivo MR spectroscopy. *European Journal of Radiology*. 2008, **67**(2), 185–193. DOI 10.1016/j.ejrad.2008.03.002.
- 47 LI, B., H. WANG a O. GONEN. Metabolite ratios to assumed stable creatine level may confound the quantification of proton brain MR spectroscopy. *Magnetic Resonance Imaging*. 2003, **21**(8), 923–928. DOI 10.1016/S0730-725X(03)00181-4.
- 48 STANWELL, Peter a Carolyn MOUNTFORD. In Vivo Proton MR Spectroscopy of the Breast. *RadioGraphics*. 2007, **27**, 253–266. DOI 10.1148/rg.27si075519.
- 49 KURHANEWICZ, John a Daniel B. VIGNERON. Advances in MR Spectroscopy of the Prostate. *Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America*. 2008, **16**(4), 697–710. DOI 10.1016/j.mric.2008.07.005.
- 50 VOERT, EGW et al. *In vivo* magnetic resonance spectroscopy of liver tumors and metastases. *World Journal of Gastroenterology*. 2011, **17**(47), 5133-5149. DOI 10.3748/wjg.v17.i47.5133.
- 51 MEYERSPEER, Martin et al. <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy in skeletal muscle: Experts' consensus recommendations. *NMR in Biomedicine*. 2020, **34**(5). DOI 10.1002/nbm.4246.

- 52 BUONOCORE, Michael H. a Richard J. MADDOCK. Magnetic resonance spectroscopy of the brain: a review of physical principles and technical methods. *Reviews in the Neurosciences*. 2015, **26**(6), 609–632. DOI 10.1515/revneuro-2015-0010.
- 53 POSSE, Stefan et al. MR spectroscopic imaging: principles and recent advances. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2013, **37**(6), 1301-1325. DOI 10.1002/jmri.23945.
- 54 ELSTER, Single vs Multi-Voxel. ELSTER, Allen. Questions and Answers in MRI [online]. ELSTER LLC. [cit. 2022-08-01]. Dostupné z: <https://mrquestions.com/single-v-multi-voxel.html>.
- 55 WILSON, Martin et al. Methodological consensus on clinical proton MRS of the brain: Review and recommendations. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2019, **82**(2), 527-550. DOI 10.1002/mrm.27742.
- 56 KLOSE, Uwe. Measurement sequences for single voxel proton MR spectroscopy. *European Journal of Radiology*. 2008, **67**(2), 194–201. DOI 10.1016/j.ejrad.2008.03.023.
- 57 MEYERSPEER, Martin et al. Comparing localized and nonlocalized dynamic <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy in exercising muscle at 7T. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2012, **68**(6), 1713–1723. DOI 10.1002/mrm.24205.
- 58 LANDHEER, K., M. GAJDOŠÍK a C. JUCHEM. A semi-LASER, single-voxel spectroscopic sequence with a minimal echo time of 20.1 ms in the human brain at 3 T. *NMR in Biomedicine*. 2020, **33**(9). DOI 10.1002/nbm.4324.
- 59 SHANKER, Rohini et al. Fast data acquisition techniques in magnetic resonance spectroscopic imaging. *NMR in Biomedicine*. 2018, **32**(3). DOI 10.1002/nbm.4046.
- 60 KRETSCHMER, Jan et al. Paramagnetic encoding of molecules. *Nature Communications*. 2022, **13**(3179). DOI 10.1038/s41467-022-30811-9.
- 61 SKOCH, A., F. JIRU a J. BUNKE. Spectroscopic imaging: Basic principles. *European Journal of Radiology*. 2008, **67**(2), 230-239. DOI 10.1016/j.ejrad.2008.03.003.
- 62 BERTHOLDO, D., A. WATCHARAKORN a M. CASTILLO. Brain Proton Magnetic Resonance Spectroscopy: Introduction and Overview. *Neuroimaging Clinics of North America*. 2013, **23**(3), 359-380. DOI 10.1016/j.nic.2012.10.002.
- 63 HAVLÍČEK, Dominik. Načítání a zpracování spektroskopických dat z magnetické rezonanční spektroskopie. Liberec, 2021. Bakalářská práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií.
- 64 PANAKKAL, Vyshakh et al. Synthesis of <sup>19</sup>F MRI Nanotracers by Dispersion Polymerization-Induced Self-Assembly of N-(2, 2, 2-Trifluoroethyl) acrylamide in Water. *Biomacromolecules*. **23**(11), 4814-4824. DOI 10.1021/acs.biomac.2c00981.
- 65 CASTAÑAR, Laura et al. The GNAT: A new tool for processing NMR data. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2018, **56**(6), 546-558. DOI 10.1002/mrc.4717.
- 66 BHADURI, Sourav et al. SCSA based MATLAB pre-processing toolbox for 1H MR spectroscopic water suppression and denoising. *Informatics in Medicine Unlocked*. 2020, **18**. DOI 10.1016/j.imu.2020.100294.
- 67 GAJDOŠÍK, Martin et al. INSPECTOR: free software for magnetic resonance spectroscopy data inspection, processing, simulation and analysis. *Scientific Reports*. 2021, **11**(2094). DOI 10.1038/s41598-021-81193-9.

## Seznam obrázků

|   |    |
|---|----|
| Obr. 1 Chování magnetických momentů; (A) nahodilé rozložení magnetických momentů v nepřítomnosti vnějšího magnetického pole; (B) zarovnání magnetických momentů v přítomnosti vnějšího magnetického pole (převzato a upraveno [19]) ..... | 15 |
| Obr. 2 Proces návratu vektoru magnetizace do tepelné rovnováhy (převzato a upraveno [19]) .....   | 16 |
| Obr. 3 Relaxační křivky $T_1$ (A) a $T_2$ (B) (převzato a upraveno [30]) .....  | 18 |
| Obr. 4 Signály v časové a frekvenční doméně; signál FID s obálkou, reprezentující křivku $T_2$ * (vlevo); spektrum ve frekvenční doméně (vpravo) [autor] .....  | 20 |
| Obr. 5 Apodizace [autor] .....  | 22 |
| Obr. 6 Lokalizovaná MR spektroskopie mozku; (A) lokalizovaná SVS; (B) spektroskopické zobrazování (převzato a upraveno [54]) .....  | 24 |
| Obr. 7 Princip SVS lokalizace voxelu; průsečík tří barevných rovin vymezuje voxel, z kterého bude proveden náběr dat [autor] .....  | 25 |
| Obr. 8 Diagram struktury exportovaných dat [autor] .....  | 30 |
| Obr. 9 PCBAM-co-PTFEAM [autor] .....  | 31 |
| Obr. 10 PHEAM-co-PTFEAM [autor] .....   | 31 |
| Obr. 11 PHEAM-co-PDFEAM [autor].....  | 32 |
| Obr. 12 PHEAM-co-PFSAM [autor].....   | 32 |
| Obr. 13 Nabídka vícenásobného výběru [autor] .....  | 34 |
| Obr. 14 Výchozí zobrazení 1D nelokalizovaných MRS dat [autor].....  | 35 |
| Obr. 15 3D zobrazení 1D nelokalizovaných MRS dat [autor] .....  | 35 |
| Obr. 16 Offset zobrazení 1D nelokalizovaných MRS dat [autor] .....  | 36 |
| Obr. 17 FID zobrazení nelokalizované MRS látky PHEAM-co-PFSAM; neapodizovaný FID signál (vlevo); apodizovaný FID signál včetně apodizační funkce (vpravo) [autor].....  | 36 |
| Obr. 18 Ukázka strukturního pole načteného signálu; (A) základní pulzní parametry; (B) kvantifikované parametry [autor] .....   | 37 |
| Obr. 19 Ukázka exportovaných parametrů [autor] .....  | 37 |
| Obr. 20 3D ilustrativní náhled na CSI sekvenci [autor] .....  | 38 |

|   |    |
|---|----|
| Obr. 21 Použité fantomy; seznam použitých sloučenin (vlevo); $^1\text{H}$ MRI znázorňující rozložení zkumavek (vpravo) [autor] .....  | 39 |
| Obr. 22 Informace o surových CSI datech; vektor CSI dat (vlevo), výběr parametrů ze souboru metod (vpravo) [autor].....   | 40 |
| Obr. 23 $^{19}\text{F}$ CSI řezy zobrazené pomocí programu ImageJ; náhled na frekvenční rovinu (vlevo); náhled na prostorovou rovinu (vpravo) [autor].....  | 41 |
| Obr. 24 $^{19}\text{F}$ CSI řezy zobrazené pomocí vytvořeného programu; náhled na frekvenční rovinu (vlevo); náhled na prostorovou rovinu (vpravo) [autor].....   | 41 |
| Obr. 25 Obraz s upraveným kontrastem a odpovídající rozhraní s nastavením [autor] .....   | 42 |
| Obr. 26 Frekvenční prolnutí $^{19}\text{F}$ MRS/CSI; (A) součet všech naměřených spekter; (B) vybraný řez z frekvenční roviny [autor] .....   | 42 |
| Obr. 27 Transformační zobrazovací techniky průměrování a MIP; (A) průměr; (B) průměr s přeškálováním; (C) MIP; (D) MIP s přeškálováním [autor] .....  | 43 |
| Obr. 28 Interaktivní možnosti výběru rozsahu řezů; (A) sumace všech spekter s výběrem rozsahu; (B) náhled na frekvenční rovinu s možností výběru; (C) výsledný snímek z daného rozsahu; (D) manuální možnost výběru rozsahu [autor] ..... | 44 |
| Obr. 29 Měření fantomů $^{19}\text{F}$ CSI; (A) vybraný frekvenční rozsah zájmu (šedý podkres); (B) MIP snímek odpovídající rozsahu [autor] .....   | 46 |
| Obr. 30 Vybraný rozsah s potlačením hypointenzních oblastí [autor] .....  | 46 |
| Obr. 31 $^{19}\text{F}$ snímek s potlačeným pozadím, změněnou barevnou mapou a bilineární interpolací, červená část spektra znázorňuje vybraný frekvenční rozsah [autor] .....  | 47 |
| Obr. 32 MR fluorových fantomů; (A) vybrané voxely na podkladě spektroskopické mřížky; (B) spektra odpovídající vybraným voxelům [autor] .....   | 48 |
| Obr. 33 Spektroskopická mřížka s přeloženými spektry odpovídající daným voxelům [autor] .....   | 49 |
| Obr. 34 Chemická sloučenina $\text{F}_5\text{H}_2$ [64] .....   | 50 |
| Obr. 35 Subkutánní podání kontrastní látky [autor] .....  | 51 |
| Obr. 36 $^{19}\text{F}$ in vivo MRS se třemi jasně rozlišitelnými vrcholy; (A) před vyjmutím referenční zkumavky; (B) po vyjmutí reference (shodné měřítko) [autor].....  | 53 |
| Obr. 37 $^{19}\text{F}$ in vivo CSI součet naměřených spekter s barevně označeným frekvenčním rozsahem [autor] .....  | 53 |

|   |    |
|---|----|
| Obr. 38 $^{19}\text{F}$ in vivo CSI řezy z rozsahu 245-270 [autor].....   | 54 |
| Obr. 39 $^1\text{H}$ MRI a $^{19}\text{F}$ CSI in vivo; (A) referenční $^1\text{H}$ měření; (B) $^{19}\text{F}$ CSI data; (C) přeložená referenční a CSI data potvrzující výskyt fluoropolymeru včetně barevného znázornění spektroskopického rozsahu [autor] ..... | 54 |
| Obr. 40 $^{19}\text{F}$ CSI in vivo; (A) spektroskopická mřížka s vybranými voxely; (B) spektroskopická data odpovídající danému voxelu; (C) spektroskopická mřížka s přeloženými spektry [autor] .....   | 55 |
| Obr. 41 Normální histomorfologie kosterního svalstva a tukové tkáně s periferními nervy a cévami; (A) tkáň v okolí místa vpichu; (B) kontralaterální tkáň (kontrola) [autor] .....  | 55 |



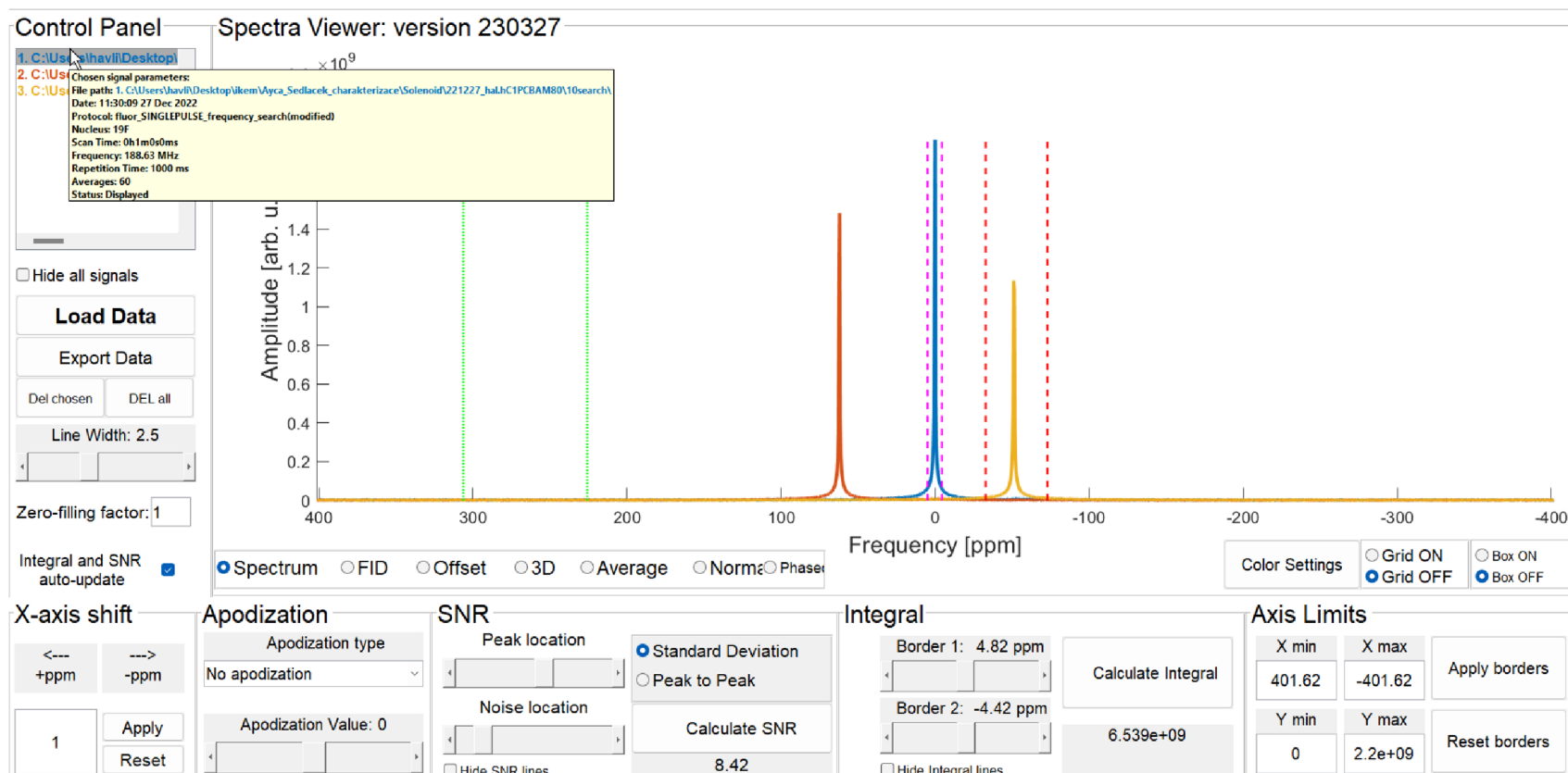
## **Seznam příloh**

- Příloha A** MR tomograf Bruker Biospec 4.7T (Ettlingen, Německo)
- Příloha B** Náhled grafického rozhraní nástroje pro zpracování 1D MRS dat
- Příloha C** Náhled grafického rozhraní nástroje pro zpracování CSI dat
- Příloha D** Úvodní strana publikovaného článku
- Příloha E** Obálka vědeckého časopisu inspirovaná publikovaným článkem

**Příloha A MR tomograf Bruker Biospec 4.7T (Ettlingen, Německo)**



## Příloha B Náhled grafického rozhraní nástroje pro zpracování 1D MRS dat



**Příloha C** Náhled grafického rozhraní nástroje pro zpracování CSI dat

### Control Panel

#### CSI scan

CSI 2dseq DEL

#### Reference scan

Ref. 2dseq DEL

#### Apodization

Apodization type  
Lorentz-Gauss

Apodization Value: 0

No. of cut FID points  
1 Cut FIDs

Save photo

### Contrast Ref.

ion: 230309

Maximum  
Minimum

Reset Contrast

### Contrast CSI

Maximum  
Minimum

Reset Contrast

### Slices range

From: 219 + -

To: 259 + -

Interpolation: bilinear

CSI color map: Inferno

Image calculator: Overlay

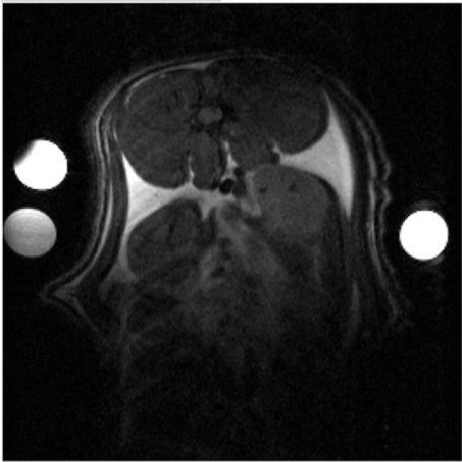
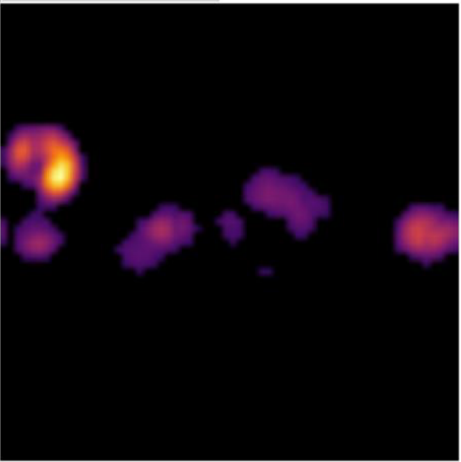
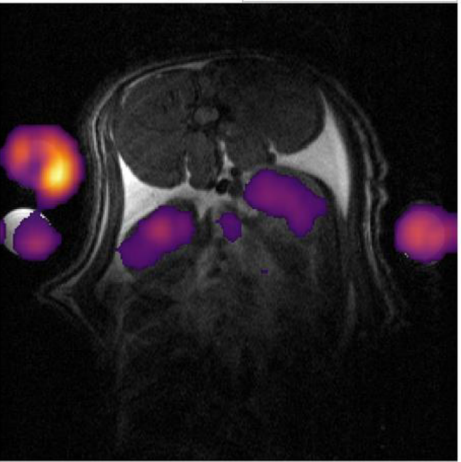




Image ref.

Spectrum ref.

Intensity Visible: 82.47%

Transparency: 0.95

Colorbar

Front

Top

Side

Overlap

Spectroscopy grid

Relative

Absolute

'MIP'

Average



pubs.acs.org/Biomac

Article

## Synthesis of $^{19}\text{F}$ MRI Nanotracers by Dispersion Polymerization-Induced Self-Assembly of *N*-(2,2,2-Trifluoroethyl)acrylamide in Water

Vyshakh M. Panakkal, Dominik Havlicek, Ewa Pavlova, Marcela Filipová, Semira Bener, Daniel Jirak, and Ondrej Sedlacek\*

Cite This: *Biomacromolecules* 2022, 23, 4814–4824

Read Online

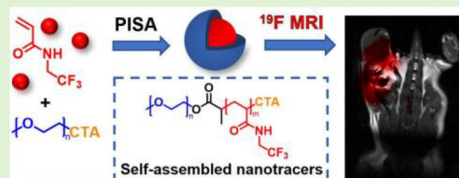
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

**ABSTRACT:**  $^{19}\text{F}$  magnetic resonance imaging (MRI) using fluoropolymer tracers has recently emerged as a promising, non-invasive diagnostic tool in modern medicine. However, despite its potential,  $^{19}\text{F}$  MRI remains overlooked and underused due to the limited availability or unfavorable properties of fluorinated tracers. Herein, we report a straightforward synthetic route to highly fluorinated  $^{19}\text{F}$  MRI nanotracers *via* aqueous dispersion polymerization-induced self-assembly of a water-soluble fluorinated monomer. A polyethylene glycol-based macromolecular chain-transfer agent was extended by RAFT-mediated *N*-(2,2,2-trifluoroethyl)acrylamide (TFEAM) polymerization in water, providing fluorine-rich self-assembled nanoparticles in a single step. The resulting nanoparticles had different morphologies and sizes ranging from 60 to 220 nm. After optimizing their structure to maximize the magnetic relaxation of the fluorinated core, we obtained a strong  $^{19}\text{F}$  NMR/MRI signal in an aqueous environment. Their non-toxicity was confirmed on primary human dermal fibroblasts. Moreover, we visualized the nanoparticles by  $^{19}\text{F}$  MRI, both *in vitro* (in aqueous phantoms) and *in vivo* (after subcutaneous injection in mice), thus confirming their biomedical potential.



### 1. INTRODUCTION

Fluoropolymers stand out as an important class of high-performance materials with numerous commercial applications, ranging from construction materials through antiadhesive coatings and electronics to biomaterials.<sup>1,2</sup> Fluorinated polymers have recently shown significant potential in medicine as metal-free diagnostic tracers for  $^{19}\text{F}$  magnetic resonance (MR) imaging (MRI).<sup>3,4</sup> Although currently used clinical MRI techniques highlight the biodistribution of hydrogen nuclei (mainly from water and lipids), they suffer from a high background of omnipresent water. Conversely,  $^{19}\text{F}$  MRI accurately visualizes magnetically active natural fluorine atoms because there is virtually no fluorine background in the body, which enables a straightforward “hotspot” visualization of fluorinated tracers in an organism for diagnostic purposes. Furthermore, given the resonance frequency of  $^{19}\text{F}$ , which is very close to that of hydrogen, fluorinated tracers can be visualized on commercial MRI scanners with only minor radiofrequency coil adjustments.<sup>5</sup> Accordingly, spectrally resolved MR can simultaneously provide both spatial and spectroscopic data and thus more complex information and be used with various systems for its advantages over conventional imaging, including higher sensitivity.<sup>6,7</sup>

Notwithstanding its potential,  $^{19}\text{F}$  MRI is still only relatively sparsely used, mostly due to the limited availability or unfavorable properties of fluorinated tracers. On the one

hand, perfluorocarbons (PFCs) and perfluoro-crown ethers (PFCEs) benefit from their high fluorine content but exhibit an extremely hydrophobic character,<sup>8,9</sup> thus requiring stabilization in nanoemulsions with surfactants. As a result, they display relative instability, limited biocompatibility, and suboptimal magnetic relaxations of fluorine atoms. On the other hand, fluorinated polymer materials open up countless possibilities regarding their macromolecular architecture and fluorine modifications.<sup>3,5</sup> In particular, water-soluble semifluorinated polymers, such as poly(*N*-(2,2,2-trifluoroethyl)sulfinylethyl)acrylamide),<sup>10</sup> poly(*N*-(2-fluoroethyl)acrylamide),<sup>11</sup> poly(*N*-(2,2-difluoroethyl)acrylamide),<sup>12</sup> or various statistical copolymers of fluorinated monomers with hydrophilic monomers,<sup>13–16</sup> show promising diagnostic potential for their excellent  $^{19}\text{F}$  relaxation properties and biocompatibility. However, their fluorine content is rather limited because increasing fluorine functionalization hampers polymer solubility in water and its magnetic relaxation properties.<sup>13</sup>

Received: August 8, 2022

Revised: October 5, 2022

Published: October 17, 2022



ACS Publications

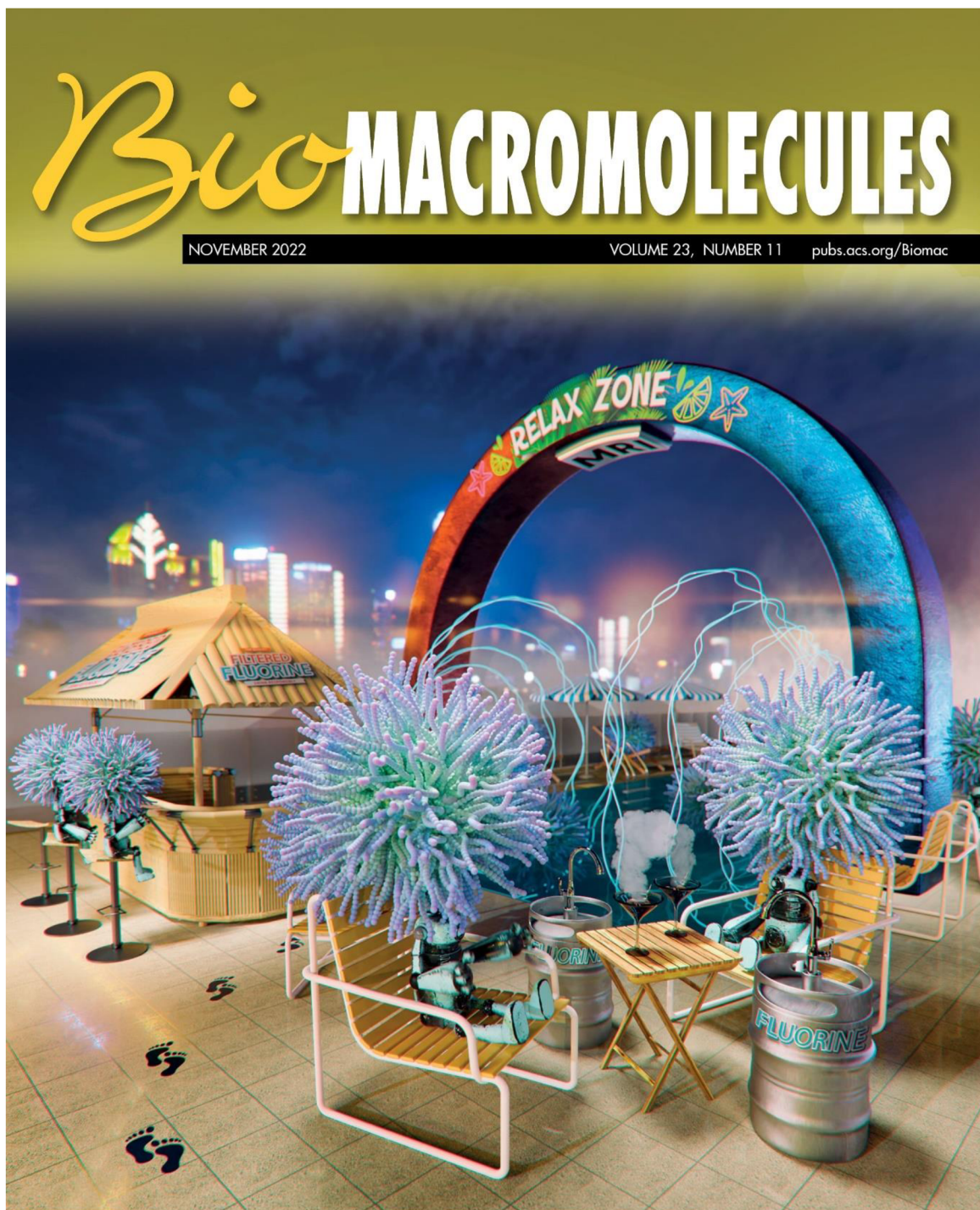
© 2022 American Chemical Society

4814

https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c00981  
Biomacromolecules 2022, 23, 4814–4824



Příloha E Obálka vědeckého časopisu inspirovaná publikovaným článkem



 ACS Publications  
Most Trusted. Most Cited. Most Read.

[www.acs.org](http://www.acs.org)