

Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Neurovědy



MUDr. Alberto Malucelli

Aplikace MR spektroskopie v neurochirurgii

The use of MR spectroscopy in neurosurgery

Disertační práce

Školitel: Ing. Milan Hájek, DrSc.

Konzultant: prof. MUDr. Martin Sameš, CSc.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 25.05.2021

Alberto Malucelli

Poděkování:

Můj obrovský a upřímný vděk patří mému školiteli panu Ing. Milanovi Hájkovi, DrSc., za trpělivost, pevné nervy a vždy pozitivní přístup. Hodně toho také dlužím svému konzultantovi a neurochirurgickému učiteli prof. MUDr. Martinovi Samešovi, CSc., který od začátku věří v můj potenciál a dává mi denně možnost se profesně dál rozvíjet. Nemalé poděkování patří Mgr. Ditě Pajuelo, Ph.D., MUDr. Antonínovi Škochovi, Ph.D. a MUDr. Robertovi Bartošovi, Ph.D., bez jejichž cenné vědecké pomoci a inspirace bych tuto práci nedotáhl do konce. A největší vděk patří mé rodině, manželce Veronice a dětem Eduardovi a Magdaleně, za to, jak s láskou barví můj život a plní ho nejhlubším smyslem: od vás čerpám, a to víte, tu sílu překonat překážky a jít dál za naším společným cílem.

Grantová podpora:

Podporováno Ministerstvem zdravotnictví České republiky - koncepční rozvoj výzkumné organizace („Institut klinické a experimentální medicíny - IKEM, IN 00023001“)

Podporováno grantovým projektem Interní Grantové Agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky č. NS/9654-4

Podporováno projektem FNUSA-ICRC CZ.1.05/1.1.00/02.0123 financovaným z Evropského fondu pro regionální rozvoj (ERDF)

Aplikace MR spektroskopie v neurochirurgii

Abstrakt

Protonová MR spektroskopie je neinvazivní metoda měření *in vivo* koncentrací několika metabolitů. Cílem této práce bylo otestovat její použitelnost a spolehlivost v neurochirurgické praxi. V první části studie bylo ve skupině pacientů po operaci a onkologické léčbě pro vysokostupňový gliom testováno více metod MR spektroskopické analýzy, aby se zjistilo, která z nich nejlépe rozlišuje recidivu tumoru od radionekrózy při nově kontrastně se sytící lézi. Nejlépe fungovala metoda založená na srovnání cholinu, kreatinu a laktátu mezi lézí a kontralaterální stranou (senzitivita 93,3% a specifita 78,6%). Statisticky významné snížení kreatinu bylo zjištěno u všech pacientů ve srovnání s kontrolami. Bylo zjištěno, že inhibiční účinek probíhající radio- a chemoterapie na mozkový a nádorový metabolismus činí diferenciatní diagnostiku obtížnější. Proto by měla být diagnóza radionekrózy během probíhající onkologické léčby potvrzena pozdějším vyšetřením po jejím ukončení. Dále v druhé části studie byla MR spektroskopická data ve skupině pacientů s jednostrannou okluzí vnitřní krkavice porovnána s MR hipokampální volumetrií a transkraniálním dopplerovským vyšetřením s nálezem statisticky signifikantního nižšího poměru N-acetylaspartát/cholin v bílé hmotě obou hemisfér a oboustranné atrofie hipokampu. MR spektroskopie se ukázala jako spolehlivý nástroj pro vyšetření pacientů s cerebrovaskulárním onemocněním a potenciální identifikaci rizikových faktorů pro budoucí mozkovou příhodu.

Klíčová slova

cholin, kreatin, laktát, MR spektroskopie, MR volumetrie hipokampu, N-acetylaspartát, radionekróza, recidiva gliomu, vnitřní krkavice

The use of MR spectroscopy in neurosurgery

Abstract

Proton MR spectroscopy is a non-invasive tool for measuring *in vivo* concentrations of several metabolites. The aim of this thesis was to test its applicability and reliability in neurosurgical praxis. In the first part of the study multiple MR spectroscopy methods were applied in a group of patients after surgery and oncologic treatment for high-grade glioma to test which method performed best in discriminating recurrent tumor from radionecrosis in the presence of a new enhancing lesion. The best diagnostic yield was achieved by comparison of choline, creatine and lactate between lesion and contralateral side (sensitivity 93.3%, specificity 78.6%). Creatine was significantly decreased in patients compared to controls. The inhibiting effect of ongoing oncologic treatment on cerebral and tumoral metabolism makes differential diagnosis trickier. Therefore, a diagnosis of radionecrosis assessed during ongoing radio- and chemotherapy should be confirmed after its completion. In the second part of the study MR spectroscopy data was compared with MR hippocampal volumetry and transcranial doppler examination in a cohort of patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery. The N-acetylaspartate/choline ratio and hippocampal volume were significantly lower in both hemispheres of patients compared to controls. MR spectroscopy proved to be a useful tool to examine subjects with cerebrovascular disease and potentially identify risk factors for future stroke.

Keywords

choline, creatine, internal carotid artery, lactate, MR spectroscopy, MR hippocampal volumetry, N-acetylaspartate, radionecrosis, recurrent glioma

Seznam použitých zkratek

¹H MRS, protonová MR spektroskopie

2-HG, 2-hydroxyglutarát

AA III, anaplastický astrocytom III. stupně

ABS, absces

ACA, přední mozkové tepny

ACI, arteria carotis interna, vnitřní krkavice

ACM, střední mozková tepna

AK, aminokyseliny (valin, leucin)

Ala, alanin

BHI, průměrný index zadržetí dechu

BMI, index tělesné hmotnosti

CBF, Cerebral Blood Flow, mozkový průtok krve

CC, corpus callosum

CMP, cévní mozková příhoda

CNS, centrální nervový systém

Cr, celkový kreatin

CSF, mozkomíšní mok

CT, počítačová tomografie

DD, diferenciální diagnostika

DFA II, difúzní fibrilární astrocytom II. stupně

DM, diabetes mellitus

FOV, Field Of View

GABA, kyselina γ -aminomáselná

GBM IV, glioblastoma multiformis IV. stupně

Glc, glukóza

Gln, glutamin

Glu, glutamát

GPC, glycerofosfocholin

Gua, guanidinoacetát

HGG, vysokostupňový gliom

HCHT, hypercholesterolémie

HT, hypertenze

Cho, cholinové sloučeniny

IDH, isocitrát dehydrogenáza

ICHS, ischemická choroba srdeční

Ins, mI, mIns, myo-inositol

Lac, laktát

LGG, nízkostupňový gliom

Lip, lipidy

LYM, lymfom

MEN, meningiom

MET, metastáza

MM, makromolekuly

MR, magnetická rezonance

MRI, MR zobrazování

mRS, modifikovaná Rankinova škála

MRS, MR spektroskopie

MRSI, MR spektroskopické zobrazování

NA, počet akvizic

NAA, N-acetylaspartát (s příspěvkem N-acetylaspartylglutamátu)

NAAG, N-acetylaspartylglutamát

ODG III, oligodendrogliom III. stupně

PCr, fosfokreatin

PCho, fosfocholin

ppm, části na milion

PRESS, Point Resolved Spectroscopy Sequence, sekvence spinového echa

RAD, radionekróza, postradiační nekrotické poškození mozku

REC, recidiva tumoru

rf, radiofrekvenční

RChT, radio- a chemoterapie

ROC, receiver operating characteristic

rREC, regresivní recidiva tumoru

SNR, poměr signál/šum

STEAM, Stimulated Echo Acquisition Mode, sekvence stimulovaného echa

SVS, spektroskopie technikou „single-voxel“

T1W, T1 vážené obrazy

T2W, T2 vážené obrazy

Tau, taurin

TCD, transkraniální dopplerovská sonografie

TE, Echo Time, echo čas

TIA, tranzitorní ischemická ataka

TR, Repetition Time, čas opakování

VOI, Volume Of Interest, oblast zájmu

WB-MRS, celomozková MR spektroskopie

WMn, normální bílá hmota

ZAN, zánět

α -KG, α -ketoglutarát

Obsah

1. Úvod.....	12
1.1 MRS.....	13
1.1.1 Fyzikální principy MRS a techniky měření.....	13
1.1.2 Zpracování dat MRS.....	17
1.1.3 Hlavní metabolity zdravého lidského mozku	20
1.2 Aplikace MRS v neuroonkologii.....	23
1.3 Aplikace MRS v neurovaskulární oblasti.....	33
2. Cíle práce.....	36
3. Metodika.....	38
3.1 Metodika neuroonkologické studie.....	38
3.1.1 Soubor pacientů.....	38
3.1.2 Zdravé kontroly.....	39
3.1.3 Klasifikace lézí.....	39
3.1.4 MR protokol.....	41
3.1.5 Korelace MRI-MRS-histologie.....	41
3.1.6 Zpracování MRSI dat.....	42
3.1.7 Analýza dat.....	42
3.1.8 Statistická analýza.....	44
3.2 Metodika cerebrovaskulární studie.....	46
3.2.1 Soubor pacientů.....	46
3.2.2 Ultrazvukové vyšetření TCD.....	49
3.2.3 MR poloautomatická hipokampální volumetrie.....	49
3.2.4 1H MRS protokol.....	51

3.2.5 Statistická analýza.....	53
4. Výsledky.....	54
4.1. Výsledky neuroonkologické studie.....	54
4.2 Výsledky cerebrovaskulární studie.....	62
5. Diskuze.....	67
5.1 Diskuze k neuroonkologickým výsledkům.....	67
5.2 Diskuze k cerebrovaskulárním výsledkům.....	72
6. Závěry.....	77
7. Souhrn.....	79
8. Summary.....	81
9. Literatura.....	83
10. Přehled publikací autora.....	98

Příloha 1: Publikace autora, které jsou podkladem disertační práce

1. Úvod

V posledních několika desetiletích je role radiodiagnostiky v rámci klinické lékařské praxe stále zásadnější. Nové diagnostické metody s vyšší přesností, menší invazivitou a detailnější rozlišovací schopností se stávají součástí rutinního algoritmu péče o nemocné napříč spektrem medicínských oborů. Tento vývoj je poháněn pokrokem v oblasti výpočetní techniky a její integrace do každodenního klinického použití. Královskou roli hraje v současném spektru radiodiagnostiky magnetická rezonance (MR), která se z původních výzkumných oblastí v chemii a fyzice stala hlavním nástrojem pro neinvazivní vyšetření lidských měkkých tkání. Zobrazení centrálního nervového systému (CNS) pomocí konvenčního zobrazování magnetickou rezonancí (MRI) poskytuje jedinečné výhody v porovnání s počítačovou tomografií (CT): detail zobrazení převážně vodnatých struktur mozku a míchy je u MRI nesrovnatelně větší, vyšetření nevystavuje pacienta riziku radiační zátěže a při použití technicky vyspělejších přístrojů, které jsou nyní běžně dostupné ve všech středně velkých zdravotnických zařízeních, je časová náročnost srovnatelná s CT. Všeobecně umožňuje MRI popis struktury a integrity tkáně *in vivo* pomocí přirozené přítomnosti molekul vody v lidském těle. Odlišná reakce různých tělesných struktur na vnější magnetické pole poskytuje jedinečný podklad pro diskriminaci zdravé a patologické tkáně bez radiačního rizika. Použití gadoliniové kontrastní látky zpřesní vyšetření odhalením míst, kde je hematoencefalická bariéra porušena, a pomůže v diferenciální diagnostice patologie CNS. Vyšetření MRI poskytuje zkrátka velmi cenné anatomicko-patologické informace o vyšetřované tkáni, ale neodhaluje její biochemické a funkční rysy.

Ve snaze překonat tento nedostatek byly zdokonaleny další techniky *in vivo* MR, jako je MR spektroskopie (MRS), difúzní a perfúzní zobrazování, MR relaxometrie nebo funkční MR (Stroman P.W. et al., 2012). MRS, založená na stejných fyzikálních principech jako MRI, poskytuje informace o metabolickém profilu tkání *in vivo*. V případě patologicky změněného metabolismu dochází k akumulaci aberantních produktů či poklesu fyziologických sloučenin, což může vést ve vyšetřované tkáni ke změnám koncentrací metabolitů viditelných v MR spektru *in vivo*. Pro MRS vyšetření mozku se nejčastěji používají, stejně jako u MRI, jádra vodíku a mluvíme o protonové MR spektroskopii (¹H MRS). Metoda MRS je sice často časově a technicky náročnější než MRI a její citlivost je všeobecně nízká při relativně malých

koncentracích detekovatelných metabolitů v tkáních, ale díky jedinečné schopnosti neinvazivně poskytnout metabolické informace hraje MRS důležitou roli v poznatcích o CNS. Tyto neinvazivně získané informace o vyšetřované mozkové tkáni mají potenciálně velmi cennou hodnotu v klinickém kontextu a můžou významně ovlivnit rozhodovací úvahy o neurologických a neurochirurgických pacientech s neuroonkologickými a neurovaskulárními diagnózami.

Cílem této disertační práce je prezentovat zkušenosti autora s aplikacemi 1H MRS v oboru neurochirurgie. Práce vznikla v rámci spolupráce mateřského neurochirurgického pracoviště autora s radiologickým pracovištěm hlavního školitele a prezentuje výsledky aplikovaného výzkumu ve dvou podoborech neurochirurgie: neuroonkologické oblasti a cerebrovaskulární oblasti. Po úvodu, kde jsou uvedeny teoretické základy 1H MRS a čtenář je seznámen s neurovaskulární a neuroonkologickou problematikou v oblasti výzkumu, následuje vyjádření specifických cílů práce, popis používané metodiky, prezentace vlastních výsledků a jejich diskuze s ohledem na příslušnou odbornou literaturu. V závěru jsou shrnuté odpovědi na otázky stanovené v cílech práce a je poukazováno na přínos použití MRS postupů v klinické neurochirurgické praxi.

1.1 MRS

1.1.1 Fyzikální principy MRS a techniky měření

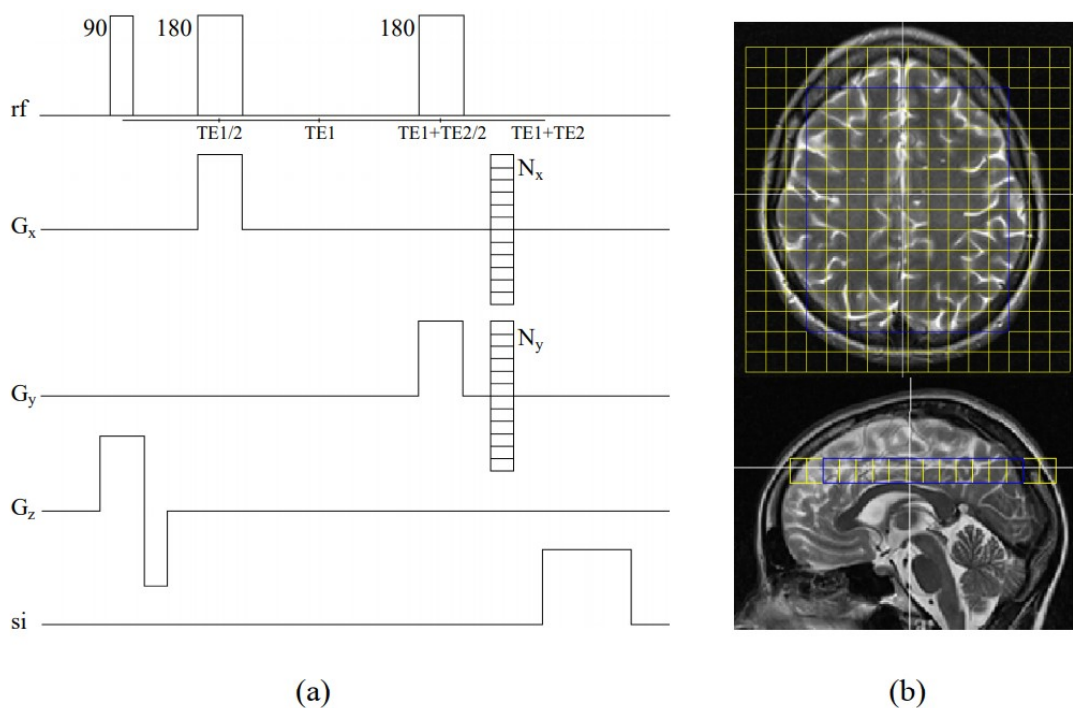
Tato sekce disertační práce popisuje základní fyzikální principy MRS a hlavní techniky měření MRS dat. 1H MRS je metoda využívající jevu, kdy signál získaný z jader vodíku závisí na jejich chemickém okolí ve sloučenině. Jádra vodíku se po vložení do vnějšího magnetického pole nacházejí každý ve svém lokálním magnetickém poli, které je ovlivněno distribucí vazebných elektronů kolem detekovaných jader. Proto při excitaci elektromagnetickým pulzem vydávají jádra vodíku v různých chemických vazbách elektromagnetické odpovědi na různých frekvencích. Frekvence vztažená vůči určitému standardu se nazývá chemický posun, nezávisí na síle magnetického pole a je vyjádřena v bezrozměrných jednotkách nazývaných části na milion (ppm). V případě 1H MRS je standardem tetrametylsilan (0 ppm). V *in vivo* 1H MRS pak CH₃ skupině N-acetylaspartátu odpovídá 2,01 ppm. Chemický posun tak umožňuje porovnávat signály mezi různými přístroji a různou

sílu magnetického pole. Spektrum je možné definovat jako reprezentaci jaderného magnetického rezonančního signálu v závislosti na frekvenci, ve kterém různé chemické skupiny sloučeniny dávají signály na přesných specifických pozicích ppm (Wagnerová D., 2012).

Existuje několik druhů sekvencí MRS. „Single-voxel“ MR spektroskopie (SVS) umožňuje izolovat spektrální informace, které vycházejí z jednoho objemu (VOI), který lze volně umístit pomocí konvenčních MR obrazů jako referencí. Oblast měření spektra se vymezuje použitím selektivních vysokofrekvenčních pulzů synchronních s přepínáním gradientů magnetického pole. Nejčastěji používanými SVS sekvencemi pro prostorovou lokalizaci signálu jsou PRESS (Point Resolved Spectroscopy Sequence) a STEAM (Stimulated Echo Acquisition Mode). Tyto sekvence se liší podle použitého sledu pulzů ($90^\circ - 180^\circ - 180^\circ$ pro PRESS; $90^\circ - 90^\circ - 90^\circ$ pro STEAM). SVS najde uplatnění například při vyšetření stranových rozdílů u cerebrovaskulárních onemocnění (okluze či stenóza přívodních mozkových tepen), kde se předpokládá alterace bílé hmoty celé hemisféry bez významných fokálních rozdílů. Na druhé straně SVS neposkytuje informace o eventuální heterogenitě v distribuci metabolitů v rámci VOI a není schopna poskytnout informace k vymezení prostorového rozsahu případné patologie. Metody SVS jsou široce používanými technikami ^1H MRS, protože doba měření je krátká a následné zpracování je relativně jednodušší než v případě multi-voxel (2D) a multi-slice (3D) technik spektroskopického zobrazování (MRSI).

V případě MRSI měřeného sekvencí PRESS se pro excitaci obdélníkové oblasti zájmu používají tři selektivní radiofrekvenční (rf) pulzy aplikované současně s gradienty magnetického pole ve třech ortogonálních směrech. Po excitaci prvním 90° pulzem se vytvoří příčná magnetizace v řezu kolmém k ose z (Klose U., 2008). Poté dojde vlivem relaxací spinového systému k rozfázování jednotlivých vektorů magnetizace, k jejichž refokusaci dojde opět prvním 180° pulzem v čase $TE_{1/2}$ ($TE = \text{Echo Time}$). Echo vyskytující se v čase TE_1 se nevyhodnocuje a opět dojde k rozfázování vektoru magnetizace. Druhým 180° pulzem v době $TE_1 + TE_{2/2}$ se vektor magnetizace refokusuje a v době $TE_1 + TE_2$ vzniká spinové echo a současně začíná sběr dat. V návaznosti na excitační pulz se po dobu τ zapne fázový kódovací gradient G podél osy x (Klose U., Jiru F., 2005). Celá sekvence se opakuje N -krát ($NA = \text{Number of Acquisitions}$) s opakovací dobou TR ($TR = \text{Repetition Time}$), zatímco intenzita gradientu G se ekvidistantně mění při každém opakování. V případě 2D PRESS,

respektive 3D PRESS, jsou aplikovány dva, respektive tři ortogonální gradienty během každé repetice (viz linie gradientu G_x a G_y ve 2D případě zobrazeném na Obrázku 1). Počet gradientů G a jejich hodnota ΔG odpovídají počtu a velikosti každého voxelu matice (získané po prostorové rekonstrukci), a proto ovlivňují prostorové rozlišení. Velikost matice (spektroskopická mřížka) odpovídá objemu zájmu měření MRSI. V praxi jsou ještě před sekvencí PRESS aplikovány další pulzy pro potlačení vnějšího objemu, který není předmětem zájmu (Posse S. et al., 1993, Duyn J.H. et al., 1993), a pro potlačení signálu vody (de Graaf R.A., 1998). Obrázek 1 ukazuje hlavní schéma 2D PRESS-MRSI sekvence.



Obr. 1 a) Schéma sekvence 2D PRESS-MRSI. b) velikost a poloha předem vybraného objemu (zvýrazněného modrou barvou) v rámci spektroskopické sítě (žluté) zobrazené v příčné a sagitální rovině.

90: radiofrekvenční pulz 90° ; 180: radiofrekvenční pulz 180° stupňů;
 rf: radiofrekvenční kanál; G_x , G_y , G_z : kanály gradientů magnetického pole, které se zapínají ve směru x, y, z; si: měřený signál.

Převzato se souhlasem: Wagnerová D., Doctoral Thesis, Praha 2012.

Sekvence PRESS se volí častěji než STEAM, protože při stejném TE obvykle nabízí vyšší poměr signál/šum (Signal to Noise Ratio, SNR). Avšak z technických důvodů neumožňuje měření velmi krátkých TE. V současné době nabízí komerční softwarové vybavení MR tomografů sekvenci PRESS obvykle s minimálním TE = 30 ms, u sekvence STEAM TE = 10-20 ms. Detekce rezonančního signálu většiny důležitých metabolitů, jako jsou například lipidy, myo-inositol, glutamát, glutamin atd., je někdy vhodná pouze při použití krátkých TE, protože jejich T2 relaxační časy jsou příliš krátké na to, aby byly detekovány při delších TE. Pokud je informace o těchto metabolitech žádoucí, například když je klinicky relevantní pro identifikaci signálů typických pro meningeom a lymfomy, může být pro lepší identifikaci těchto metabolitů preferována sekvence STEAM (Castillo M. a Kwok L., 1998, Lukas et al., 2004).

Techniky MRSI i SVS umožňují neinvazivně poskytovat informace o biochemickém stavu tkáně měřením signálů metabolitů *in vivo* v definované oblasti. Pouze MRSI však může kódovat prostorovou distribuci metabolitů ve vyšetřované tkáni a lokalizovat případné metabolické změny v 2D či 3D prostoru. Při MRSI lze během jedné sekvence měřit spektra z několika prostorových jednotek (voxelů) na různých místech v dané rovině nebo prostoru, namísto jednoho lokalizovaného spektra v případě SVS. Potřebná doba na získání dostatečně kvalitního spektra se pohybuje od 3 do 6 minut v případě SVS spekter, kolem 7 minut pro 2D MRSI a přibližně 17 minut pro 3D MRSI. Během jednoho vyšetření s přijatelnou časovou náročností, kdy se celková doba vyšetření pacienta pohybuje mezi 40 a 60 minutami (Jiru F., Doctoral Thesis, Praha 2006) tak lze naměřit kromě základních MR obrazů kolem 2 až 4 MRS sekvencí. Protože informace o chemických posunech jednotlivých metabolitů přítomných v každém voxelu musí být zachovány, nelze použít kódování frekvence známé z konvenčního MRI. Místo toho se v sekvencích MRSI používá fázové kódování k získání informací o prostorovém rozložení signálů. Naměřená MR data představují časovou změnu velikosti průmětu vektoru magnetizace do příčné roviny. Pomocí Fourierovy transformace lze signál z časové domény převést do frekvenční domény a získat tak klasické spektrum, což je pro klinické účely graficky přívětivá forma zobrazení různých MR signálů. V případě MRSI jsou všechny prostorové informace kódovány v signální fázi, takže vícenásobnou Fourierovou transformací lze získat spektrum pro každý jednotlivý voxel ve spektroskopické síti. To umožňuje

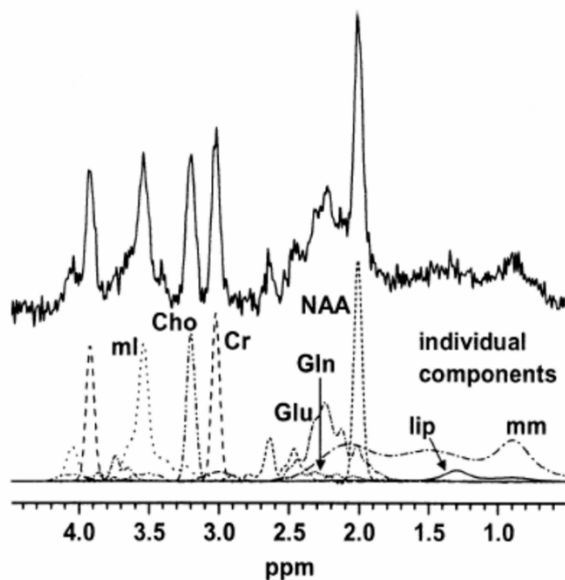
mapování prostorového rozsahu metabolických změn u patologie CNS a korelaci se změnami signálu MRI (Kumar A. et al., 2003). Pomocí MRSI lze tedy lépe definovat prostorový rozsah mozkové patologie zkoumáním metabolického profilu i jejího okolí, které se může na konvenčním MRI jevit jako normální, a poskytovat informace o její heterogenitě. Tato metoda MRS nachází právě v neuroonkologické praxi největší uplatnění a je užitečná při plánování fokálních ošetření, jako je ozáření, biopsie či chirurgická resekce mozkových nádorů. Nevýhodami MRSI oproti SVS jsou bezprostředně delší čas měření s následným snižováním komfortu pacienta a obtížnější zpracování velkého množství získaných dat.

1.1.2 Zpracování dat MRS

Kvalita surových dat získaných při *in vivo* MRS měření často není zpočátku vysoká kvůli řadě omezení, jako jsou nízké koncentrace detekovaných metabolitů, nedostatečná homogenita magnetického pole a omezená doba vyšetření kvůli komfortu pacienta vedoucí k nízkému SNR. Existuje však řada technik aplikovaných během a po měření, které umožňují zlepšení měřeného signálu. Předzpracování dat zahrnuje zejména doplnění nulami (zero filling), spektroskopické posunutí mřížky a filtrování *k*-prostoru. Detaily o těchto procesech jsou k nalezení v literatuře (Jiru F., 2008, Skoch A. et al., 2008).

Pro kvantifikaci spekter v každém voxelu musí být spektra analyzována pomocí specifického uživatelského programu. Jedním z nich je software LCModel často používaný pro zpracování ¹H MRS dat *in vivo* (Provencher S.W., 1993). Tento program pracuje tak, že rozloží spektrum naměřené *in vivo* na spektra jednotlivých metabolitů změřených dříve *in vitro* nebo namodelovaných pomocí kvantově-mechanických simulací. Tato sada metabolitů tvoří takzvanou „základní sadu“ pro přizpůsobení signálu. Za předpokladu přímé úměrnosti mezi koncentrací metabolitu a jeho detekovaným signálem lze vypočítat skutečnou koncentraci metabolitů v tkáni pomocí kalibrovaných standardních *in vitro* MRS měření. Během tohoto procesu se musí aplikovat různé korekční faktory na podkladě například relaxačního času, zatížení cívky atd. Koncentrace metabolitů jsou v LCModelu vypočítány spolu s chybami odhadu, které jsou odvozeny z hranic Cramer-Rao (Jiru F. et al., 2006).

Protože LCModel neposkytuje žádnou grafickou platformu potřebnou pro komplexní zpracování dat MRSI, používají se k tomu další specializované programy, jako je například jSIPRO (www.sites.google.com/site/jsiprotool). jSIPRO je grafická platforma, která využívá LCModel pro výpočet jednotlivých spekter v MRSI síti a umožňuje jejich analýzu v uživatelsky přívětivém virtuálním prostředí. Obrázek 2 ukazuje v prostředí jSIPRO rozložení *in vivo* měřeného spektra na jednotlivé signály metabolitů v základní sadě LCModelu, zároveň je uvedena tabulka vypočtených koncentrací metabolitů s relativními chybami. Výsledek MRSI lze zobrazit pomocí programu jSIPRO dvěma způsoby: jedním je spektrum metabolitů v každém voxelu spektroskopické mřížky samostatně (Obrázek 3), alternativně formou mapy vybraného metabolitu v rámci měřeného VOI (Obrázek 4). Metabolické mapy jsou vyobrazením vypočítaných koncentrací daného metabolitu v závislosti na jejich poloze. Voxely s nízkou kvalitou spektra mohou být vyřazeny z analýzy na základě vypočítaných hranic Cramer-Rao.



(a)

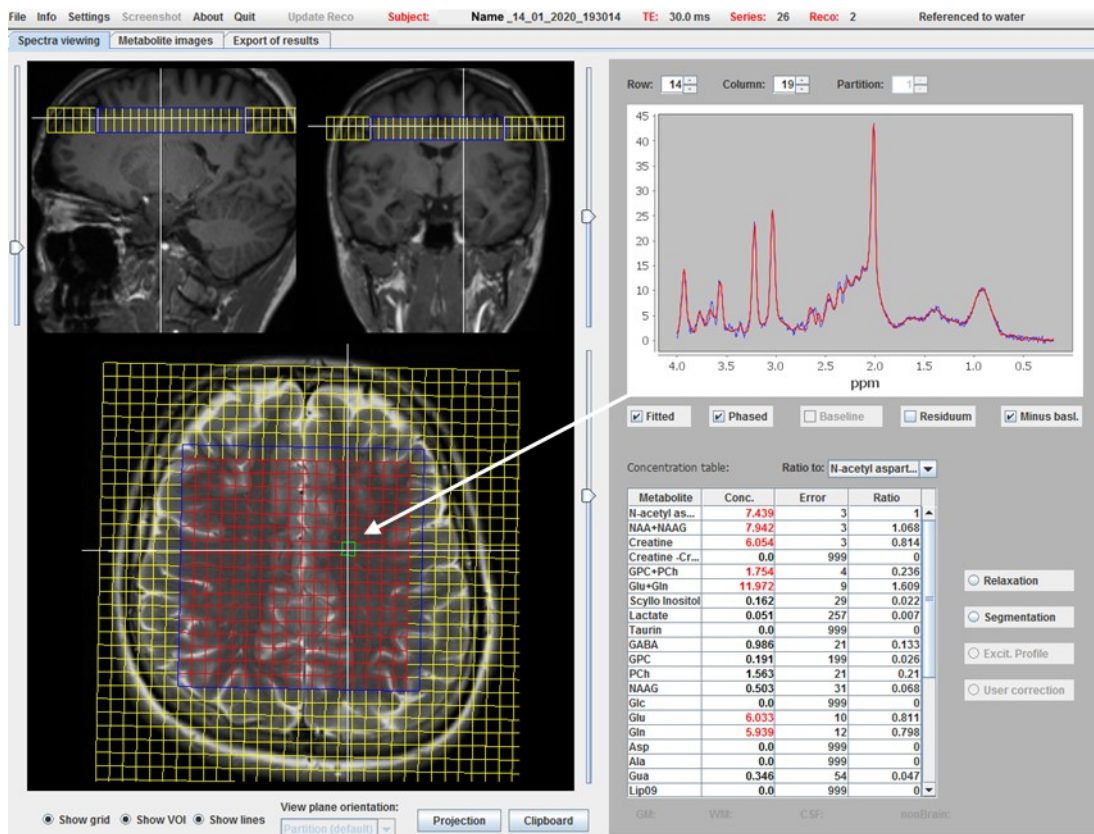
Concentration table: Ratio to: N-acetyl aspart...

Metabolite	Conc.	Error	Ratio
N-acetyl as...	7.439	3	1
NAA+NAAG	7.942	3	1.068
Creatine	6.054	3	0.814
Creatine -Cr...	0.0	999	0
GPC+PCh	1.754	4	0.236
Glu+Gln	11.972	9	1.609
Scyllo Inositol	0.162	29	0.022
Lactate	0.051	257	0.007
Taurin	0.0	999	0
GABA	0.986	21	0.133
GPC	0.191	199	0.026
PCh	1.563	21	0.21
NAAG	0.503	31	0.068
Glc	0.0	999	0
Glu	6.033	10	0.811
Gln	5.939	12	0.798
Asp	0.0	999	0
Ala	0.0	999	0
Gua	0.346	54	0.047
Lip09	0.0	999	0

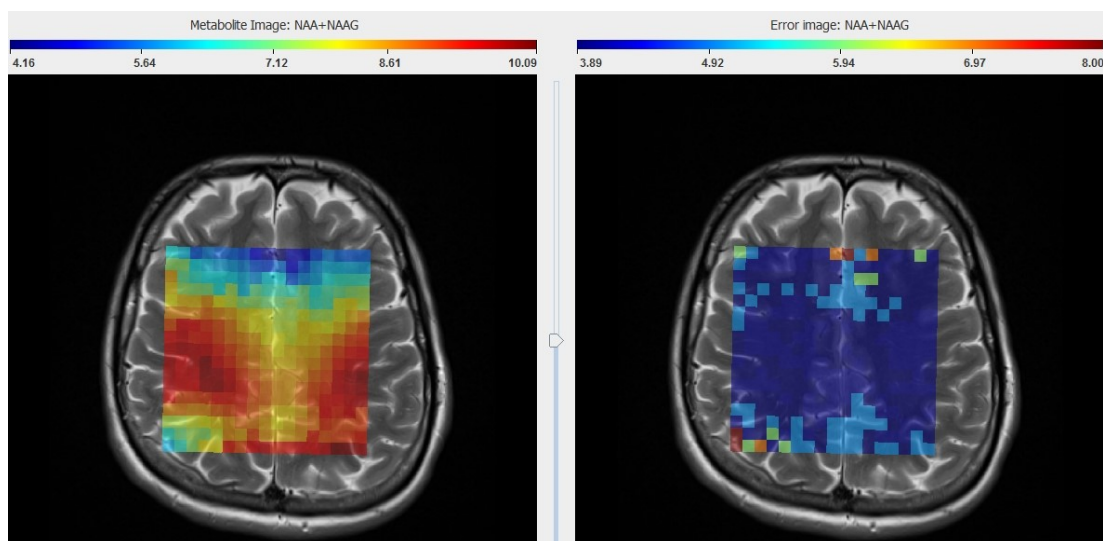
(b)

Obr. 2 a) Rozložení *in vivo* měřeného spektra (nahore) na jednotlivé signály metabolitů základní sady (dole). Obrázek převzatý z Provencher S.W. et al., 1993. b) Tabulka vypočtených koncentrací metabolitů, jejich chyb a poměrů metabolitů k celkovému N-acetylaspartátu. Tabulka je vytvořena programem jSIPRO.

mI, myo-inositol; Cho, cholinové sloučeniny; Cr, celkový kreatin; Glu, glutamát; Gln, glutamin; NAA, celkový N-acetylaspartát; lip, lipidy; mm, makromolekuly.



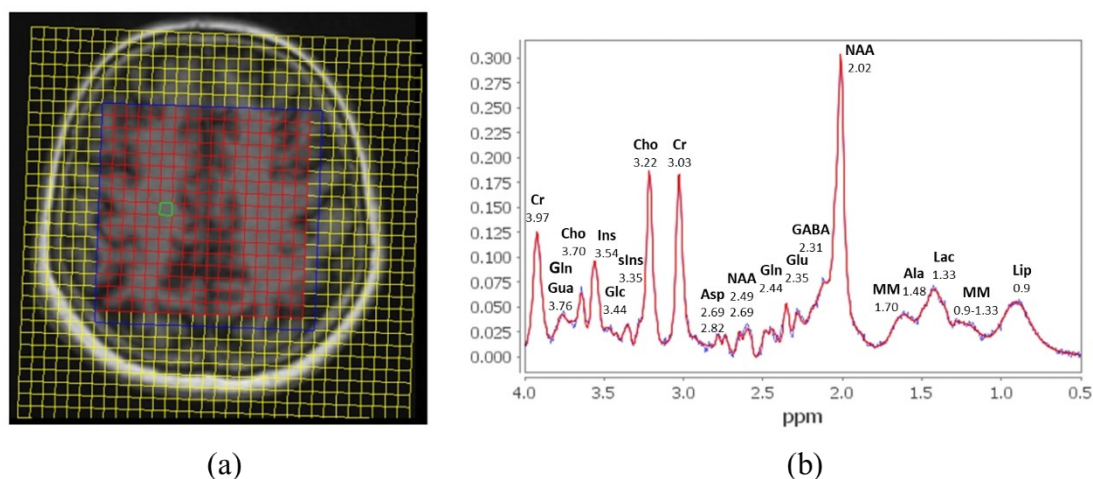
Obr. 3 Zobrazení výsledku MRSI pomocí programu jSIPRO. Lze zobrazit spektrum metabolitů v každém voxelu spektroskopické mřížky samostatně. Program nabízí pro každý voxel přehlednou tabulku koncentrací metabolitů, jejich chyb a poměrů.



Obr. 4 Metabolický a chybový obraz NAA zobrazený pomocí programu jSIPRO.

1.1.3 Hlavní metabolity zdravého lidského mozku

U *in vivo* MRS můžeme v současné době pozorovat s přijatelnou úrovní přesnosti přibližně 20 metabolitů v lidském mozku. Jedná se pochopitelně o pouze malou část všech metabolitů, které se vyskytují v CNS. Nicméně, i přes relativně nízký počet pozorovatelných metabolitů, poskytuje MRS *in vivo* cenné informace o metabolismu mozkové tkáně bez invazivního zásahu. Normální metabolický profil lidského mozku je odvozen z dat vědecké literatury (Obrázek 5).



Obr. 5 ^1H MR spektrum zdravého mozku měřené při 3T u kontrolního subjektu bez neurologické patologie. a) Pozice spektroskopické sítě (žlutá) na MR snímku se zvýrazněným VOI (modrá) a vypočítanou oblastí zájmu (červená). b) Spektrum odpovídající zvýrazněnému zelenému voxelu ve spektroskopické síti. Modrá čára představuje fázované spektrum, červená spektrum po fitování. Sekvence PRESS-MRSI, TE = 30 ms, TR = 1510 ms, NA = 4. Spektra byla vypočtena programem LCModel. Chemický posun každého metabolitu je uveden v ppm pod nápisem u odpovídajícího signálu.

Ala, alanin; Asp, aspartát, Cr, kreatin a fosfokreatin; GABA, kyselina γ -aminomáselná; Glc, glukóza; Gln, glutamin; Cho, cholinové sloučeniny; Glu, glutamát; Gua, guanidinoacetát; Ins, myo-inositol; Lac, laktát; Lip, lipidy; MM, makromolekuly; NAA, N-acetylaspartát; sIns, scyllo-inositol.

Signály tří hlavních sloučenin, které jsou též viditelné při použití dlouhého TE, charakterizují typické mozkové 1H MR spektrum: N-acetylaspartát společně s N-acetylaspartylglutamátem (NAA = NAA + NAAG), kreatin/fosfokreatin (Cr/PCr) a cholinové sloučeniny (Cho). Strukturální chemické vzorce vybraných metabolitů stejně jako multiplicitu a polohy signálů lze nalézt například v publikaci od autorů Hájek a Dezortová z roku 2008 (Hájek M., Dezortová M., 2008).

Sloučeniny N-acetylaspartátu

Nejvyšší signál ve spektru zdravého mozku dospělého člověka odpovídá methylové skupině NAA (skupina CH₃ rezonující na 2,0 ppm, malý příspěvek do signálu tvoří N-acetylaspartylglutamát rezonující na 2,03 ppm), který je považován za neuronální marker, protože je nalezen téměř výhradně v neuronech. Je koncentrovanější v šedé hmotě než v bílé hmotě a jeho koncentrace dobře koreluje s myelinizací během zrání mozku. Syntéza NAA je lokalizována v neuronální mitochondrii a potřebuje l-aspartát-acetyltransferázu, což je enzym vázaný na membránu, detekovatelný pouze v nervovém systému a je vysoce specifický pro aspartát. Aspartát tedy může reagovat s acetyl-CoA, což vede k produkci NAA. Po transportu z mitochondrií a z neuronů do oligodendrocytů pomocí specifických transportérů je NAA degradován na aspartát a volný acetát pomocí enzymu aspartoacylázy. Role NAA v rámci neuronálních buněk není doposud jasná. Dle Baslowa et al. může mít NAA osmoregulační roli, což je primární mechanismus pro odstranění metabolické intracelulární vody z neuronů (Baslow M.H., 2003). Pokles NAA v rámci mozkové patologie je výsledkem dys- nebo demyelinizace a následné neuronální dysfunkce. Řada studií ukazuje, že hladiny NAA jsou u mozkových nádorů sníženy v důsledku neuronální deplece a dysfunkce při proliferaci nádorových buněk (Gonen O. et al., 1998, Howe F.A. et al., 2003, Negendank W.G. et al., 1996, Kinoshita Y. et al., 1994). Přítomnost signálu NAA v rámci mozkového nádoru ukazuje přítomnost viabilních neuronálních buněk v nádorem infiltrované tkáni.

Kreatin / fosfokreatin

Cr spolu s PCr jsou všeobecně známé jako metabolity nezbytné pro energetickou zásobu biochemických procesů. V *in vivo* MRS jsou jejich signály jasně pozorovatelné jako singlety při 3,0 (CH₃) a 3,9 (CH₂) ppm a jsou často považovány za marker energetického metabolismu. Celková koncentrace Cr (Cr + PCr) klesá podle stupně

malignity u neuroektodermálních nádorů, zatímco hladiny jsou velmi nízké nebo téměř nulové u meningeomů, neurinomů a metastáz.

Cholinové sloučeniny

Výrazný signál v mozkovém ^1H MR spektru rezonující při 3,2 ppm patří betainové skupině $\text{N}-(\text{CH}_3)_3$ cholinových sloučenin. Hlavní příspěvek k tomuto signálu přichází z fosfocholinu (PCho) a glycerofosfocholinu (GPC). Protože viditelný MRS signál odráží pouze ve vodě rozpustné cholinové metabolity, sfingomyelin a fosfatidylcholin, které tvoří relativně imobilní složku membrány, nepřispívají k celkové intenzitě signálu. V MRS lze celkový Cho (PCho + GPC + další) považovat za marker membránového obratu, protože zahrnuje prekurzory nebo degradační produkty membránových fosfolipidů (Wagnerova D. et al., 2009). Jeho rostoucí intenzita dobře odráží narušení membrány, buněčnou proliferaci (např. v mozkových nádorech) nebo makrofágovou aktivitu při zánětu. Koncentrace Cho je v astrocytech dvakrát vyšší než v neuronech, proto lze větší cholinový signál nalézt v bílé hmotě než v šedé hmotě (Alger J.R. et al., 2009).

Mezi ostatními metabolity, které jsou detekovatelné v lidském mozku pomocí MRS, je vhodné zmínit:

1. myo-inositol (Ins): jako osmolytický aktivní prvek hraje důležitou roli v regulaci iontů vápníku, a proto může být zvýšen v důsledku zánětlivých procesů. Ins je také prekurzorem metabolismu lipidů, takže může být zvýšen u gliomů v důsledku zvýšené buněčné proliferace.
2. laktát (Lac): je produktem anaerobní glykolýzy a zvyšuje se v nekrotické tkáni či při akutním ischemickém infarktu. Pro jeho identifikaci ve spektru je výhodné použití dlouhého echo času ($\text{TE}=135$ nebo 144 ms), kdy jeho signál v podobě dubletu dává negativní hodnoty.
3. glutamin / glutamát / kyselina γ -aminomáselná (Gln / Glu / GABA): jsou zástupci neurotransmiterů. V ^1H MR spektru tvoří navzájem se překrývající multiplety v oblasti 2,1 – 2,5 ppm a 3,7 – 3,8 ppm, které je velmi obtížné odlišit. Proto je často udáván jen jejich součet jako jedna hodnota, tzv. Glx.

Koncentrace sledovaných metabolitů v lidském mozku se pohybuje mezi 1 a 15 mM, zatímco voda je přítomna v množství asi 40 M, proto je k jejich detekci nutné potlačení signálu vody (Frahm J. et al., 1989). Podrobnější informace jsou k nalezení v literatuře (Hájek M. a Dezortová M, 2008, Wagnerová D. et al., 2011).

Příklad spektra zdravého mozku u kontrolního dospělého člověka bez patologie centrálního nervového systému je uveden na Obrázku 5. Kromě výše uvedených hlavních metabolitů lze v ¹H MR spektru měřeném s krátkým echo časem sledovat například: alanin, aspartát, glukózu, guanidinoacetát, lipidy a makromolekuly, scyllo-inositol. Některé metabolity lze samozřejmě detekovat jen za patologických podmínek.

1.2 Aplikace MRS v neuroonkologii

Mozkové nádory reprezentují nadále v třetím tisíciletí jednu z největších výzev moderní medicíny. Gliomy vysokého stupně (III. a IV. stupeň podle klasifikace Světové Zdravotnické Organizace) jsou nejčastějšími primárními maligními nádory mozku, které se vyskytují u dospělých (Wen P.Y. et al., 2010). Navzdory rozšíření spektra terapeutických možností (radikálnější, přitom bezpečnější neurochirurgické zákroky, šetrnější a efektivnější techniky radioterapie, alternativní režimy chemoterapie, nové léčebné postupy pomocí elektromagnetických polí – Tumor Treating Fields) mají tyto nádory stále špatnou prognózu se střední dobou přežití u nově diagnostikovaného multifornního glioblastomu IV. stupně (GBM IV) v rozmezí od 12 do 18 měsíců (Stupp R. et al., 2009), u anaplastického astrocytomu (AA III) nebo oligodendrogliomu III. stupně (ODG III) přibližně 3 roky (Grimm S.A. a Chamberlain M.C., 2016). V prospektivní kohortě neuroonkologických pacientů odoperovaných na mateřském pracovišti autora byla střední doba přežití u vysokostupňových gliomů 22,6 měsíců v případě dokončení radio- a chemoterapie podle Stuppova režimu (Bartoš R. et al., 2019).

Časná a přesná diagnostika mozkových gliomů umožňuje rychlejší zahájení cílené terapie a má jistý potenciál zlepšovat prognózu neuroonkologických pacientů. I přes vynikající kontrast měkké tkáně poskytovaný konvenčním MRI je přesnost, s jakou tato diagnostická modalita definuje stupeň, typ a rozsah mozkového nádoru, omezená. MRS je v tomto ohledu užitečným doplňkovým nástrojem, který integrací

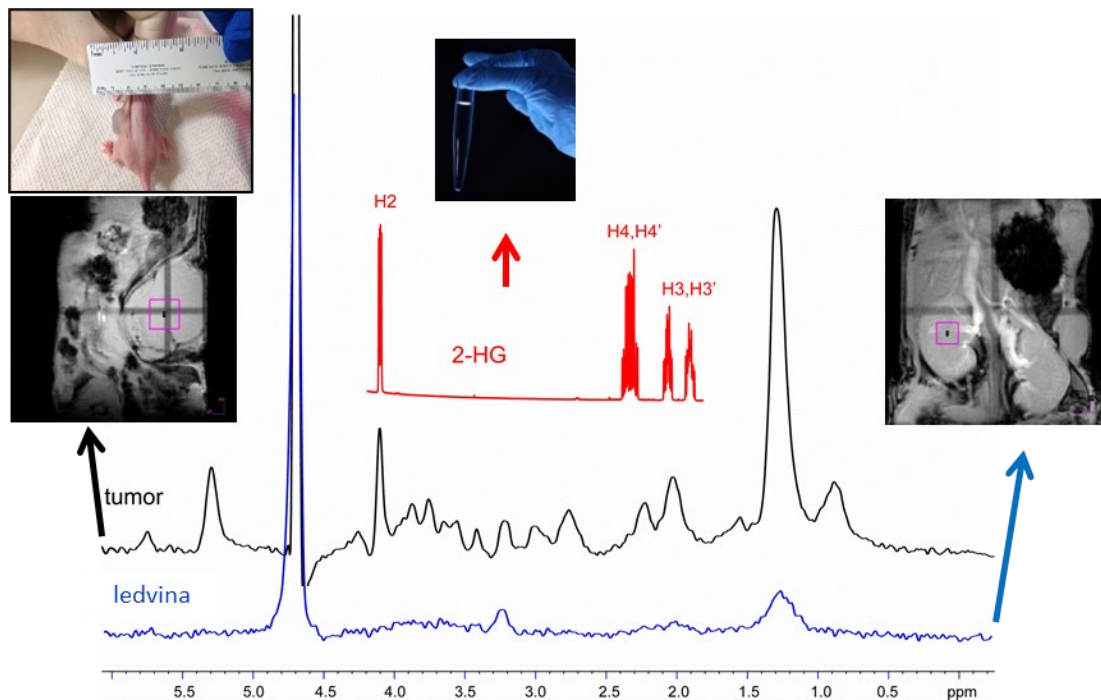
metabolických informací může upřesnit typizaci mozkových nádorových lézí a odhalit jejich skutečný rozsah v rámci jinak anatomicky neporušené tkáně. Existují některé společné metabolické charakteristiky, které lze všeobecně nalézt ve spektrech nádorových lézí: snížený signál NAA, snížený signál celkového Cr, zvýšený signál Cho. Gliomová spektra jsou všeobecně charakterizována snížením poměrů NAA/Cho a NAA/Cr a zvýšením poměrů Cho/Cr. Protože NAA lze považovat za index hustoty neuronálních buněk, dá se očekávat jeho snížení při zvýšení hustoty nádorových buněk na úkor neuronů. Tato vyšší buněčná hustota zároveň koreluje se zvýšením množství cholinových sloučenin. Spektra získaná z hraniční zóny mezi nádorem a okolním mozkiem vykazují snížené signály NAA a Cr odpovídající ztrátě neuronů a axonů (Wagnerová D. et al., 2012). Peritumorální edém je charakterizován nižší koncentrací všech metabolitů bez změny NAA/Cho ve srovnání se zdravou tkání (Di Costanzo A. et al., 2008, Sijens P.E. a Oudkerk M., 2002, Fan G. et al., 2004). MRS může najít významné uplatnění v následujících specifických neuroonkologických otázkách:

Typizace gliálních nádorů. Gliomy nízkého a vysokého stupně vykazují významné rozdíly ve všech třech výše uvedených hlavních mozkových metabolitech. Jak již bylo zmíněno, NAA je snížený u všech gliomů, ale u vysokostupňových nádorů je toto snížení významně markantnější. U gliomů nízkého stupně mohou být normální buňky nahrazeny expanzivním růstem nádorových buněk s následným poklesem NAA, ale u gliomů vysokého stupně se může na poklesu NAA podílet i nekróza, která může být zahrnuta ve VOI; proto NAA vykazuje větší pokles u vysokostupňových gliomů než u nízkostupňových. Nízkostupňové gliomy také vykazují zvýšenou koncentraci Ins (Di Costanzo A. et al., 2008). Snížení NAA, Cr a Ins a zvýšená koncentrace Lac a Lip jsou známky nekrózy patrné častěji ve vysokostupňových nádorech (Sibtain N.A. et al., 2007, Stadlbauer A. et al., 2006, Majos C. et al., 2003, Howe F.A. et al., 2003, Isobe T. et al., 2002). Tyto profily MRS byly opakovaně potvrzeny histopatologickými údaji z cílených biopsií (Chernov M.F. et al., 2009, Guillevin R. et al., 2008, McKnight T.R. et al., 2007).

Prognóza mozkových nádorů. 1H MRS je v literatuře používána k predikci přežití pacientů s mozkovými nádory. Ve skupině pacientů s mozkovým gliomem Kuznetsov et al. používají Cho, Lac a NAA jako neinvazivní prediktory přežití a uvádějí prediktivní hodnotu srovnatelnou s anatomopatologickou typizací (Kuznetsov Y.E. et al., 2003). Ve studii provedené u pacientů po radiochirurgickém zákroku gama

nožem Graves et al. prokázali, že zvýšení Cho a/nebo snížení NAA mimo ozářenou oblast je spojeno s kratší dobou přežití (Graves E.E. et al., 2000).

Neinvazivní diagnostika IDH mutace. Mutace v genech kódujících isocitrát dehydrogenázu (IDH) byly objeveny u různých druhů tumoru, jako je gliom, akutní myeloidní leukémie, chondrosarkom, karcinom tlustého střeva, prostaty a plic (Parsons D.W. et al., 2008). Isocitrát dehydrogenáza je intracelulární enzym, který katalyzuje reverzibilní produkci alfa-ketoglutarátu (α -KG) z isocitrátu v cytosolu (IDH1) a mitochondriích (IDH2). Mutace IDH, která je přítomna asi u 80 % nízkostupňových gliomů a sekundárních glioblastomů, hraje důležitou roli v tumorigenezi (Krell D. et al., 2013) a vede ke ztrátě funkce enzymu a produkci 2-hydroxyglutarátu (2-HG) jako aberantního produktu. Novější studie ukazují, že je možné predikovat IDH status u gliomových nádorů pomocí 1H MRS s vysokou specificitou a senzitivitou (Zhou M. et al., 2018, Natsumeda M. et al., 2018, Tietze A. et al., 2018). Tato zcela neinvazivně získaná informace o molekulárním (a zároveň genetickém) profilu nádoru je jistě přínosná v klinické praxi vzhledem k její prognostické hodnotě: nádory s IDH mutací mají totiž lepší prognózu a ukazují delší přežití než nádory bez mutace, a v těchto případech je agresivní terapeutický postup vhodnější (Choi C. et al., 2016). Kvantifikace 2-HG pomocí 1H MRS je popravdě zatížena technickými úskalími, danými především malou koncentrací metabolitu a heterogenitou nádorové tkáně. Aplikace 1H MRS v této specifické diagnostické otázce není proto prozatím součástí rutinní klinické praxe. Obrázek 6 ukazuje příklad měření 2-HG v experimentálním zvířecím modelu IDH mutovaného gliomu.



Obr. 6 Experimentální zvířecí model IDH-mutovaného gliomu implantovaného do boku myši („flank tumor“). Spektra ze 7T zvířecího MR přístroje. Černě: spektrum z tumoru, modře: spektrum z ledviny, červeně: spektrum fantomu s koncentrátem 2-HG. V obrazech nad spektry poloha voxelu v oblasti tumoru a ledviny u stejné myši, nahoře vlevo myš s implantovaným nádorem na levém boku. Ve spektru měřeném v tumoru jsou poznat signály kolem 4,1 ppm a 2,3 ppm odpovídající spektru z fantomu. Tyto signály nejsou v oblasti ledviny detekovatelné. Obraz z vlastní zkušenosti autora při výzkumném pobytu na Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA.

Diferenciální diagnostika mezi lymfomy a nádory gliálního původu. Diferenciální diagnostika mezi lymfomy centrálního nervového systému a gliomy na podkladě radiologického obrazu je obtížná, protože difuzně infiltrativní růst lymfomů může napodobovat na MRI chování gliomové expanze (Alderson L. et al., 1996). MRS může napomocť při rozlousknutí této problematiky. Kromě markantního zvýšení signálu Cho vůči Cr a NAA je typickou MRS charakteristikou lymfomů výrazné zvýšení signálu lipidů (Lip) na frekvenci 0,8 - 0,9 a 1,2 - 1,3 ppm. Výrazný nárůst Lip ve spektrech lymfomů je výsledkem zvýšeného rozpadu buněčných membrán

proliferujících lymfoidních buněk s následně vyšší složkou volných lipidů a přítomností infiltrujících makrofágů, o nichž je známo, že obsahují vysokou koncentraci mobilních lipidů (Bizzi A. et al., 1995, Kuhlmann T. et al., 2001, Harting I. et al., 2003). Výrazný signál Lip není u vysokostupňových gliomů běžný, i když jej lze pozorovat v patologických spektrech získaných z převážně nekrotických oblastí tumorů gliálního původu (Gajewicz W. et al., 2003, Fan G. et al., 2004).

Diagnostika postradiační nekrózy. Standardní léčba vysokostupňových gliomů zahrnuje chirurgickou resekci následovanou radioterapií a chemoterapií podle protokolu vytvořeného v roce 2005 Stuppem a kol. (Stupp R. et al., 2005). U pacientů léčených kombinovanou radio- a chemoterapií dochází ve frekvenci až 30 % ke vzniku postradiačního nekrotického poškození (radionekróza), které radiologicky napodobuje recidivu nebo progresi tumoru při konvenčním MRI (Alexiou G.A. et al., 2009). V přítomnosti nové kontrastně se sytící léze je odlišení recidivy nádoru od radionekrózy zásadní pro přizpůsobení specifické terapeutické odpovědi těmto histopatologicky a prognosticky odlišným entitám. Pacienti se skutečnou recidivou mohou mít prospěch z časného chirurgického zákroku navzdory inherentnímu riziku operace, zatímco k radionekróze je třeba přistupovat konzervativně, aniž by byl pacient vystaven zbytečné chirurgické zátěži (Hoover J.M. et al., 2013). Chybná diagnóza progresivního onemocnění může mít za následek nevhodnou změnu terapie, když ve skutečnosti došlo k pozitivní odpovědi na léčbu. Naopak nesprávná klasifikace skutečně progredujícího onemocnění může oddálit potřebné léčebné kroky (reoperace, druhá linie chemoterapie, atd.). Vývoj neinvazivní, vysoce specifické diagnostické techniky je jistě žádoucí. Četné studie naznačují, že 1H MRS dokáže rozlišit s přijatelnou specificitou změny související s léčbou od rekurentního novotvaru u pacientů léčených pro primární mozkový nádor, kteří mají nové nespecifické kontrastně se sytící léze na MRI (Weybright P. et al., 2004, Weybright P. et al., 2005, Bulakbasi N. et al., 2003, Yang D. et al., 2002, Wald L.L. et al., 1997, Prat R. et al., 2010). Některé studie prokázaly dobrou korelaci MRS s patologickými vzorky získanými při biopsii nebo resekci (Rock J.P. et al., 2002, Croteau D. et al., 2001, Dowling C. et al., 2001). Podle výše uvedených publikací je snížení Cho s možným zvýšením Lac a/nebo Lip typickou změnou, ke které dochází u nádoru reagujícího na terapii, což ukazuje na transformaci viabilních nádorových buněk směrem k nekróze. V nekrotické tkáni jsou poměry Cho/Cr a NAA/Cho nižší a hladiny Lip a

Lac naopak vyšší. Poměr Cho/Cr je větší a poměr NAA/Cr je nižší v proliferujícím tumoru ve srovnání s radionekrózou. Cho a Cr ukazují dle literatury nejlepší výsledky v rozlišení mezi radiačními změnami a recidivou neoplazie, kde pokles obou metabolitů je spojený s radionekrózou a střední až vysoký Cho spolu s nízkým Cr jsou známkou recidivy. Zvýšený Cho a snížený NAA jsou často spojeny s nádorem, zatímco, když jsou oba metabolity sníženy, jsou histologické nálezy variabilní od nekrózy, astrogliózy a reaktivní infiltrace makrofágů až po smíšenou tkáň obsahující nádor (Rock J.P. et al., 2004, Kamada K. et al., 1997). Výše citované studie se často liší metodikou, kritérii zařazení pacientů, technickými specifikacemi MR přístroje a analýzou metabolitů. Heterogenita MRS metodik použitých v literatuře v rámci specifické otázky diferenciální diagnostiky mezi recidivou tumoru a radionekrózou brání doposud širšímu použití MRS v tomto konkrétním diagnostickém kontextu.

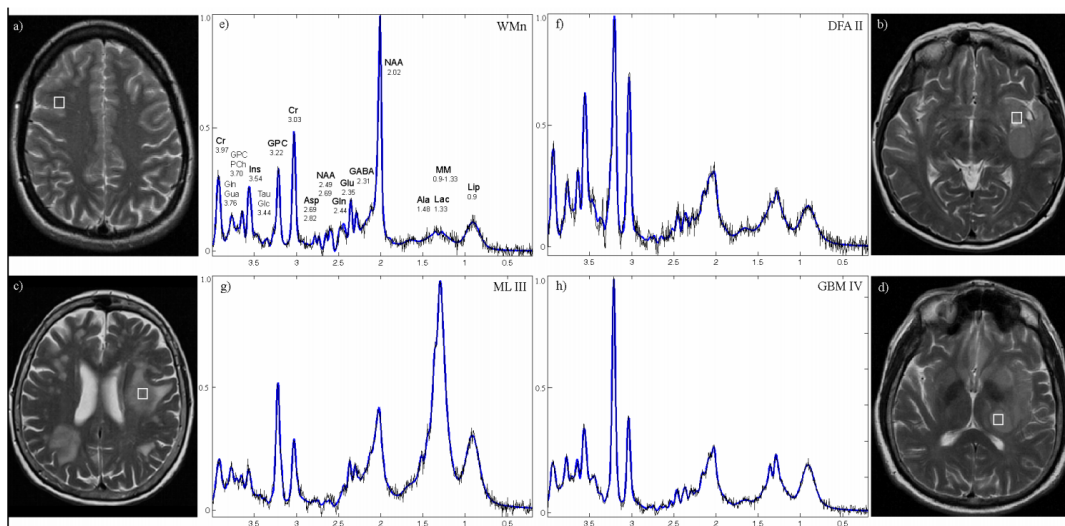
Podrobné informace o vlastnostech MRS vybraných typů nádorů a mozkových lézí lze najít v literatuře (například Wagnerová D. et al., 2011), grafické shrnutí je uvedeno v Tabulce 1. Příklady spektrálních rozdílů mezi různými mozkovými lézemi jsou uvedeny na Obrázku 7. Spektra z různých oblastí mozku a prostorové metabolické profily (metabolické mapy) vybraných metabolitů a poměrů u pacientky s ODG jsou znázorněny na Obrázku 8. Příklad použití MRS v neuroonkologické praxi u pacienta s recidivou GBM je uveden na Obrázku 9.

Tab 1 Metabolické změny u různých typů mozkových lézí.

LGG, nízkostupňový gliom; HGG, vysokostupňový gliom; LYM, lymfom; MET, metastáza; MEN, meningeom; ZAN, zánět; ABS, absces; RAD, postradiační změny; NAA, N-acetylaspartát a N-acetylaspartylglutamát; Cho, sloučeniny obsahující cholin; Cr, kreatin a fosfokreatin; Ins + Gly, myo-inositol a glycin; Lac, laktát; Glu + Gln, glutamát a glutamin; AK, aminokyseliny (valin, leucin); Ala, alanin; MM, makromolekuly; Lip, lipidy; ↑↑↑, výrazné zvýšení; ↑↑, středně velké zvýšení; ↑, mírné zvýšení; ↔, beze změny; ↓, mírný pokles; ↓↓, středně velký pokles; ↓↓↓, výrazný pokles, téměř vymizení; (n) v měřené oblasti je zahrnuta nekrotická tkáň.

Modifikováno se souhlasem: Wagnerová D., Doctoral Thesis, Praha 2012.

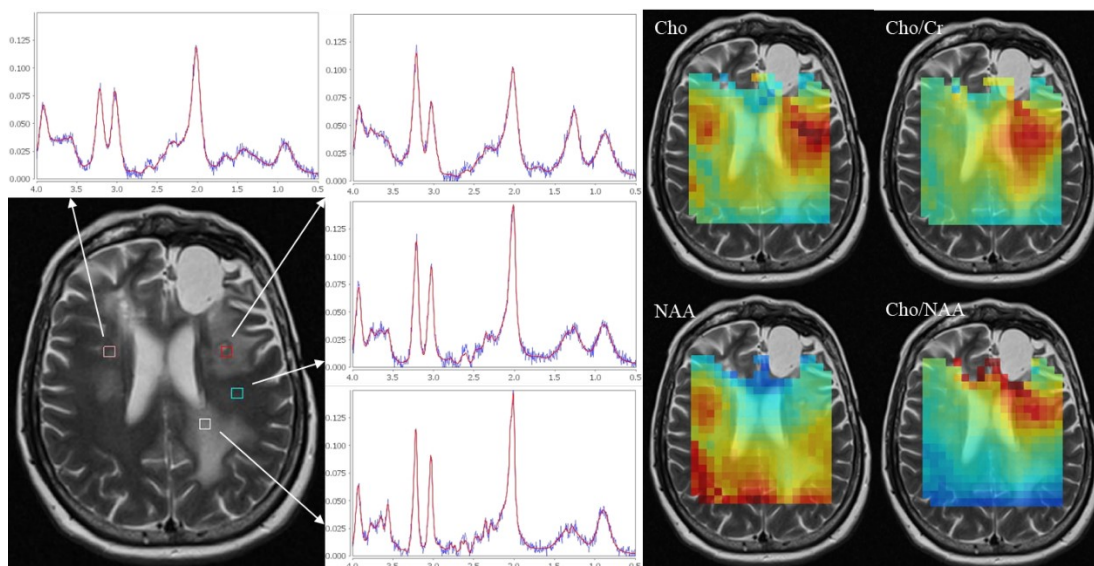
	NAA	Cho	Cr	Ins+Gly	Lac	Glu+Gln	AK	Ala	MM	Lip
LGG	↓	↑↑	↔	↑↑	↑	↔	↔	↔	↑	↔
HGG	↓↓↓	↑↑, ↓↓(n)	↓↓↓	↔↑	↑, ↑(n)	↔	↔	↔	↑	↑↑(n)
LYM	↓↓	↑	↓↓	↔	↔↑	↔	↔	↔	↑	↑↑↑
MET	↓↓	↑	↓	↔	↑	↔	↔	↔	↔	↑
MEN	↓↓	↑↑	↓↓↓	↔	↑	↑↑	↔	↑	↔	↓
ZAN	↓↓	↑	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔
ABS	↓↓	↑	↓	↔	↑	↔	↑↑	↔	↔	↔
RAD	↓↓	↓	↓	↔	↑	↔	↔	↔	↑	↑



Obr. 7 1H MR spektra z bílé hmoty centra semiovale zdravé kontroly (e) a různých typů nádorů (f-h) a odpovídající transverzální MR obrazy (a-d) se zvýrazněnými spektroskopickými voxely při 3T. Sekvence PRESS-MRSI, TE = 30 ms, TR = 1510 ms, počet akvizic NA = 4. Spektroskopické voxely v lézích odpovídají stereotaktické lokalizaci následně provedené biopsie, která potvrdila diagnózu. Spektra byla vypočítaná programem LCModel. Polohy některých významnějších metabolitů jsou uvedeny ve spektru zdravého dobrovolníka (e).

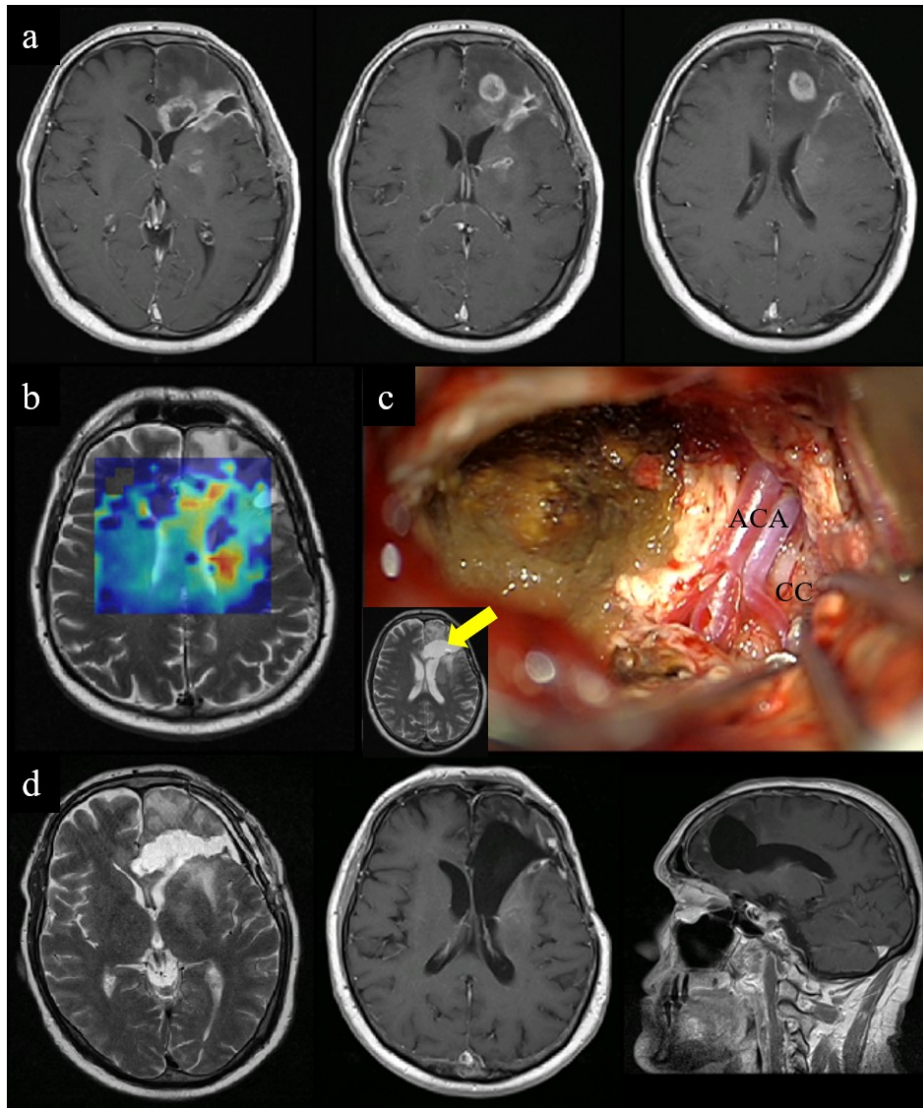
WMn, normální bílá hmota; DFA II, difúzní fibrilární astrocytom II. stupně; ML III, maligní lymfom III. stupně; GBM IV, multifonní glioblastom IV. stupně; Ala, alanin; Asp, aspartát, Cr, celkový kreatin; GABA, kyselina γ -aminomáselná; Glc, glukóza; Gln, glutamin; GPC, glycerofosfocholin; Glu, glutamát; Gua, guanidinoacetát; Ins, myo-inositol; Lak, laktát; Lip, lipidy; MM, makromolekuly; NAA, celkový N-acetylaspartát; PCho, fosfocholin; Tau, taurin.

Převzato se souhlasem: Wagnerová D., Doctoral Thesis, Praha 2012.



Obr. 8 ^1H MR spektra a metabolické mapy u pacientky s recidivou oligodendrogliomu III. stupně na 3T MR přístroji.

Sekvence PRESS-MRSI, TE = 30 ms, TR = 1510 ms, počet akvizic NA = 4. Spektra jsou z infiltrované mozkové tkáně v levé hemisféře a z bílé hmoty kontralaterálně. V pravé části obrázku jsou vyobrazené metabolické mapy cholinových sloučenin (Cho), sloučenin N-acetylaspartátu (NAA), poměr Cho/Cr a Cho/NAA.



Obr. 9 a) MRI mozku 50-letého pacienta po resekcii GBM frontálně vlevo a onkologické léčbě s nově kontrastně se sytící lézí jak ventrálně, tak dorzálně od pooperační dutiny; T1 vážený obraz po podání k.l., axiální řezy. b) Metabolická mapa cholinových sloučenin, kde je patrné jejich zvýšení v obou lézích. c) Intraoperační snímek během resekce ventrálního ložiska; ACA, přední mozkové tepny; CC, corpus callosum; šipka ukazuje pohled operátora. d) Pooperační MRI snímek; vlevo T2 vážený obraz, axiální řez; uprostřed a vpravo T1 vážený obraz po podání Gadolinia v axiální a sagitální rovině; je patrná radikální resekce ventrálního ložiska a stabilizace až parciální regrese dorzálního ložiska, pacient pokračuje v chemoterapii s výjimečně dlouhodobým přežitím 118 měsíců. Snímek z vlastního pracoviště autora, již publikováno v rámci spoluautorství knihy „Gliomy, současná diagnostika a léčba“ (Šlampa P. et al., 2013).

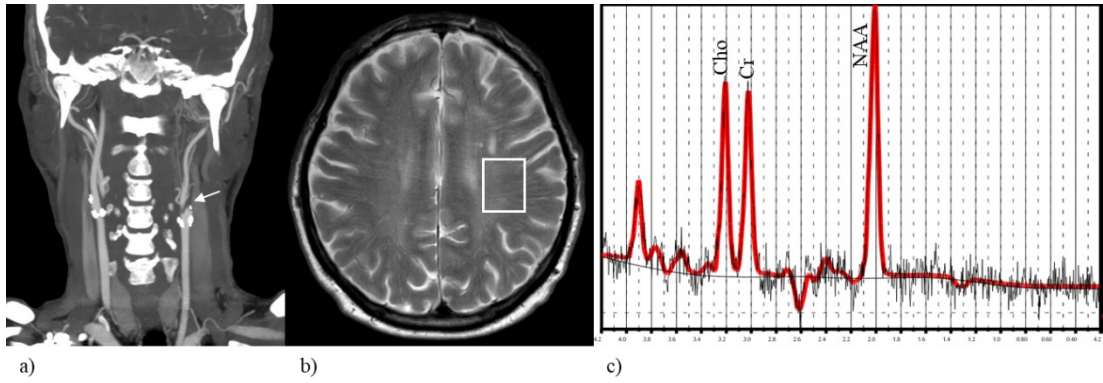
1.3 Aplikace MRS v neurovaskulární oblasti

Cerebrovaskulární onemocnění je třetí nejčastější příčinou úmrtí ve vyspělých zemích (Thom T. et al., 2006). Přibližně 85 % mozkových iktů je ischemických a asi 20 % z nich je spojené se stenózou magistralní supraaortální tepny (Ergin A. et al., 2004, Petty G.W. et al., 1999). Okluze vnitřní krkavice (ACI) je známým rizikovým faktorem pro cévní mozkovou příhodu v ipsilaterální hemisféře (Rautenberg W. et al., 1990). Celkové riziko mozkové příhody v přítomnosti okluze ACI je 5 % až 7 % ročně a riziko mrtvice ipsilaterální ke chronicky zavřenému ACI je 2 % až 6 % za rok (Klijn C.J. et al., 1997), což se zvyšuje na 10–20 % za rok v podskupině pacientů se signifikantním poškozením cerebrovaskulární hemodynamiky (Derdeyn C.P. et al., 1998, Grubb R.L. et al., 1998). Identifikovat včas tyto rizikovější pacienty, kde kompenzační hemodynamické mechanismy udržování mozkové perfuze jsou na hraně selhání, je jistě žádoucí, aby se mohl časně přizpůsobit terapeutický postup, ať farmakologicky či chirurgicky. Běžně dostupnou a snadno reprodukovatelnou metodou vyšetření hemodynamického stavu u pacientů s karotickou okluzí je hodnocení mozkové vasomotorické reaktivity měřením mozkového průtoku krve (Cerebral Blood Flow, CBF) pomocí transkraniální dopplerovské sonografie (TCD). Vyšetření může být provedeno za fyziologických podmínek a opakováno po stresové výzvě (hypoventilace, podání CO₂ nebo acetazolamidu), aby se vyhodnotila zbytková kapacita cerebrovaskulárního systému zachovat dostatečnou perfuzi (Kuroda S. et al., 2001). Tato metoda má ale nízkou specifitu, protože nemůže rozlišovat mezi snížením CBF způsobeným arteriální okluzí a kompenzačním fyziologickým snížením CBF způsobeným sníženou metabolickou spotřebou chronicky poškozené tkáně (Romero J.R. et al., 2009). Integrace TCD s 1H MRS a MRI nám umožňuje získat vedle hemodynamických i metabolické a anatomické informace o mozkové tkáni a toto je žádoucí ve snaze prohloubit pochopení komplexních mechanismů vedoucích k ischemické mozkové příhodě při okluzi ACI.

Četné studie se zabývají 1H MRS změnami v mozku při akutním či chronickém snížení přítoku krve. V akutní fázi ischemického iktu bylo popsáno snížení NAA jak v oblasti manifestního infarktu, tak v okolní penumbře (Bivard A. et al., 2016). Redukce NAA přetrvává i v subakutní fázi a může být markerem selektivní neuronální nekrózy i v rámci již reperfundované tkáně. Laktát naopak dramaticky vzrůstá v důsledku hypoxie a souvisí s poškozením glií a neuronů, zatímco v normální

mozkové tkáni jej nelze detekovat (Muñoz Manega S. et al., 2008). Snížení NAA, ke kterému dochází při akutním mozkovém infarktu, je obvykle interpretováno jako indikace nevratného poškození neuronů (Saunders D.E. et al., 1995). Jiné studie však prokázaly obnovení NAA po iktu za určitých podmínek, což naznačuje, že snížení koncentrace NAA je potenciálně reverzibilní metabolická dysfunkce, která se může upravit po návratu fyziologické perfuze (De Stefano N. et al., 1995). Jinými slovy může snížená mozková perfuze vést k přechodnému, nebo trvalému snížení NAA i při absenci klinicky vyjádřeného iktu. Řada studií uvádí, že poměry NAA/Cho a NAA/Cr jsou nižší v bílé hmotě hemisféry ipsilaterálně ke stenotické ACI i bez manifestních radiologických lézí na MRI či klinických příznaků (van der Grond J. et al. 1996, Visser G.A. et al. 1999, Saito et al., 2012). Protože tyto studie měřily poměry metabolitů, mohlo by být takové snížení způsobeno snížením NAA nebo zvýšením Cho nebo Cr. Tyto studie také uvádějí detekci laktátu jako markeru anaerobního metabolismu v hemisféře ipsilaterální ke stenotické ACI. Tento signál laktátu byl podle autorů reverzibilní a již nebyl detekovatelný u stejných pacientů po provedení karotické endarterektomie. U pacientů s chronickou okluzí ACI bylo prokázáno, že poměr NAA/Cho je snížen v bílé hmotě hemisféry ipsilaterální k okluzi (van Everdingen K.J. et al., 1998). Jasná příčina těchto metabolických změn není známa, ale předpokládá se, že by hypoperfuze či opakované embolické příhody mohly hrát roli v metabolické alteraci. Protože metabolické změny v bílé a šedé hmotě hrají důležitou roli v kaskádě událostí vedoucích k cévní mozkové příhodě, možnost neinvazivní detekce těchto změn může také pomoci identifikovat vysoce rizikové pacienty pro budoucí mozkovou příhodu. Jinak řečeno, metabolické změny v anatomicky intaktní mozkové tkáni by mohly být ukazatelem vyšší citlivosti na budoucí ischemický inzult. Bylo například prokázáno, že snížený poměr NAA/Cho v jinak morfologicky fyziologické mozkové bílé hmotě je indikátor rizika k rekurentní mozkové ischemii (Klijn C.J.M. et al., 2000). Obrázek 10 ukazuje příklad spektra metabolitů v bílé hmotě hemisféry ipsilaterální ke chronické okluzi vnitřní karotidy.

Při komplexitě kaskády mechanismů, které vedou k ischemickému poškození mozkové tkáně, multimodální integrace různých diagnostických metod (TCD, klasické MRI a 1H MRS) má jistý potenciál zlepšit hodnocení rizik a prognózy u pacientů s cerebrovaskulárním onemocněním. Další studie zkoumající vztahy mezi těmito diagnostickými modalitami jsou v tomto ohledu žádoucí.



Obr. 10 a) CT Ag vyšetření supraaortálních tepen u pacienta s okluzí levé ACI na úrovni bifurkace (šipka). b) T2 vážený axiální řez mozku u stejného pacienta. Bílým obdélníkem je označena pozice akvizice spektra v centru semiovale levé hemisféry. c) Spektrum z označeného místa, sekvence SVS PROBE-P PRESS, TR = 1500 ms, TE = 144 ms.

2. Cíle práce

Cílem této práce je prezentovat zkušenost autora s aplikací 1H MRS v oboru neurochirurgie. Během období studia autor zkoumal využití 1H MRS ve dvou odlišných podoblastech: neuroonkologické a neurovaskulární. Každá sekce této práce je rozdělena do dvou částí podle výše jmenovaných oblastí využití 1H MRS.

V rámci aplikace 1H MRS v oboru neuroonkologie je tato práce speciálně zaměřena na problematiku diferenciální diagnostiky mezi recidivou a radionekrózou u pacientů po komplexní onkologické léčbě následující resekci vysokostupňového mozkového nádoru. Tato část práce je prospektivní multivoxelová 2D a 3D 1H MRS studie na 3T MR přístroji, která koreluje 1H MRS metabolická data s histopatologickými vzorky, klinickým a MRI radiologickým sledováním u skupiny pacientů s novými kontrastně se sytícími lézemi po radioterapii a chemoterapii pro vysokostupňový gliom. V rámci studie bylo testováno více metod 1H MRS analýzy s cílem zjistit, která z nich nejlépe funguje při rozlišování rekurentních nádorů od změn po ozáření a chemoterapii u jedné prospektivní kohorty pacientů. Specifické cíle této práce a otázky, na které se práce snaží odpovědět v tomto podoboru, jsou následující:

1. validace různých 1H MRS kritérií pro diferenciální diagnostiku mezi recidivou a radionekrózou. Který mozkový metabolit či kombinace metabolitů či jejich poměrů má v této diagnostické otázce nejlepší senzitivitu a specificitu v prospektivní skupině neuroonkologických pacientů?
2. zkoumání vlivu TE na výsledky 1H MRS. Mění se senzitivita a specificita různých 1H MRS metod při odlišných TE?
3. zkoumání úrovně energetického metabolismu v recidivě tumoru a v radionekróze prostřednictvím koncentrace Cr. Vykazuje recidiva tumoru známky vyššího či nižšího energetického metabolismu v porovnání s radionekrózou?
4. validace klasického nosologického rozdělení mezi recidivou a radionekrózou u nových kontrastně se sytících lézí použitím metabolického profilu ve srovnání s histologickými výsledky a klinickým chováním. Je dichotomické rozdělení nejvhodnější způsob zařazení nově kontrastně se sytících lézí u pacientů po onkologické léčbě vysokostupňových nádorů?

V rámci aplikace 1H MRS v neurovaskulární oblasti je tato práce speciálně zaměřena na problematiku chronické okluze ACI. Hlavním cílem této části práce bylo porovnat

výsledky TCD vyšetření, kvantitativní 1H MRS a poloautomatizované MR hipokampální volumetrie u skupiny pacientů s jednostrannou okluzí ACI s odpovídající skupinou zdravých jedinců. Koncentrace NAA, Cho, Cr a Lac a jejich poměry byly porovnány v postižené hemisféře, kontralaterální hemisféře a v hemisféře zdravých kontrolních subjektů. Dále byla metabolická data korelována s výsledky TCD a měřením objemu hipokampu. Specifické cíle této práce a otázky, na které se práce snaží odpovědět v tomto podoboru, jsou následující:

1. validace 1H MRS jako nástroje umožňujícího odhalení subklinických metabolických změn v mozkové tkáni při chronické unilaterální okluzi ACI. Jsou významné rozdíly v metabolickém profilu mozkové hemisféry na ipsi- a kontralaterální straně při okluzi ACI? Jsou významné rozdíly v metabolickém profilu obou mozkových hemisfér pacientů s chronickou okluzí ACI v porovnání s kontrolními zdravými subjekty?
2. korelace mezi 1H MRS a jinými diagnostickými modalitami v rámci vyšetření cerebrovaskulární rezervy u pacientů s chronickou unilaterální okluzí ACI. Korelují metabolické změny detekovatelné pomocí 1H MRS s hemodynamickými alteracemi na TCD při unilaterální okluzi ACI? Korelují metabolické změny v 1H MRS s volumetrickými alteracemi zobrazenými na MRI?

3. Metodika

Tato sekce je rozdělena do dvou podsekcí. První podsekce vysvětluje metodiku 1H MRS používanou u kohorty neuroonkologických pacientů po resekci vysokostupňového mozkového nádoru a komplexní onkologické léčbě, kteří měli během radiologického sledování novou kontrastně se sytící lézi na MRI. Tato sekce detailně vysvětluje metodický postup aplikovaný v rámci studie s cílem testovat různé 1H MRS algoritmy v diferenciální diagnostice mezi recidivou tumoru a radiačními změnami. Druhá podsekce obsahuje studijní protokol výzkumu provedeného u kohorty neurovaskulárních pacientů s unilaterální okluzí ACI, kde 1H MRS, integrovaná s jinými diagnostickými modalitami, byla použita k detekci metabolických změn mozkové tkáně při chronické hypoperfuzi mozku.

3.1 Metodika neuroonkologické studie

3.1.1 Soubor pacientů

Do studie bylo zařazeno 26 pacientů, 17 mužů a 9 žen (věkové rozmezí 23–71 let; průměrný věk $49,7 \pm 13,9$ let), kteří splňovali následující kritéria: předchozí operace histologicky ověřeného gliomu mozku; předchozí onkologická léčba konvenční radioterapií (R) izolovaně ($n = 3$) či v kombinaci s chemoterapií Temozolomidem (ChT) ($n = 22$) a stereotaktickou radiochirurgií ($n = 1$); nová kontrastně se sytící léze na konvenčním anatomickém MRI v blízkosti primárního novotvaru ($n = 27$) nebo v jiné lokalizaci ($n = 10$). U 9 pacientů byly zachyceny na MRI vícečetné nové kontrastně se sytící léze buď v době zařazení do studie anebo během sledování. V takovém případě byla každá léze analyzována samostatně. Celkový počet lézí zahrnutých do studie byl tedy 37. Rozsah resekce primárního nádoru byl klasifikován jako radikální ($n = 16$), subtotální ($n = 4$), nebo částečný ($n = 6$) podle objemu eventuálního kontrastně se sytícího zbytku na pooperačním MRI provedeném během prvních 72 hodin po operaci: při žádném zbytku byla resekce klasifikována jako radikální, při zbytku do 1 cc byla resekce klasifikována jako subtotální, při zbytku větším než 1 cc jako částečná.

3.1.2 Zdravé kontroly

Třicet osm zdravých subjektů, 23 mužů a 15 žen (věkové rozmezí, 18–79 let; průměrný věk, $44,7 \pm 12,9$ let) bez anamnézy nebo příznaků onemocnění CNS se zúčastnilo této studie jako kontroly. Všechny subjekty zahrnuté do studie (pacienti a kontroly) poskytly informovaný souhlas schválený místní etickou komisí. Klinický protokol této studie byl certifikován podle normy ISO 9001: 2008.

3.1.3 Klasifikace lézí

Nové kontrastně se sytící léze byly klasifikovány podle klinických, neuroradiologických a histopatologických kritérií buď jako rekurentní viabilní nádor, nebo jako reakce na onkologickou léčbu. Indikace k eventuální reoperaci pro podezření na recidivu tumoru byla provedena na základě konsensu neuroonkologického panelu mateřského pracoviště autora za účasti neurochirurga, onkologa a radiologa. Konzilium odborníků zvážilo klinický stav pacienta, bezpečnost resekce, šanci na bezpečnou radikální excizi a vůli pacienta. V případě chirurgické indikace byla použita ke stanovení diagnózy histopatologie vzorku odebraného při operaci: léze byla klasifikována jako radionekróza, když vykazovala čisté radiační změny, aktivní recidiva, když byla nalezena viabilní recidiva tumoru s četnými mitózami a neovaskularizací, a regresivní recidiva, když vzorek zahrnoval směs nádorových buněk s nekrotickou tkání bez mitóz nebo neovaskularizace. V případě konzervativní léčby bez indikace k reoperaci byl pacient sledován opakovanými MR vyšetřeními po 3 měsících. Aby mohla být léze klasifikována jako recidiva, musela prokázat progresi velikosti doprovázenou klinickým zhoršením pacienta navzdory použití antiedematózní léčby (kortikoidy). Aby léze byla klasifikována jako radionekróza, musela vykazovat dlouhodobou stabilitu při minimálně 2 MR kontrolách nebo spontánní regresi kontrastně se sytící části s klinickou stabilitou pacienta bez použití antiedematózní terapie. Případy byly klasifikovány jako neurčité a vyloučeny, pokud se klinický průběh lišil od radiologického obrazu, čímž byla výsledná klasifikace nejistá. V 16 případech byla diagnóza hodnocena histologicky u vzorku získaného biopsií během operace; ve 21 případech byla konečná diagnóza získána radiologickým sledováním. Souhrn hlavních charakteristik lézí zahrnutých do studie je uveden v Tabulce 2.

Tab. 2 Souhrn hlavních charakteristik mozkových lézí zahrnutých do studie.

GBM IV, glioblastom IV st.; ODG III, oligodendrogliom III st.; AA III, anaplastický astrocytom III st.; T, temporální; P, parietální; F, frontální; O, okcipitální; r, vpravo; l, vlevo; RR, radikální resekce; STR, subtotální resekce; PR, parciální resekce; RT, radioterapie; CHT, chemoterapie; SRS, stereotaktická radiochirurgie.

Číslo léze	Původní histologie	Lokalizace	Resekce	Onkologická léčba	Konečná diagnóza	Metoda diagnózy	Dny od MRS k diagnóze
1	GBM IV	TP r	RR	RT+CHT	tumor	histologie	2
2	GBM IV	P r	RR	RT	tumor	histologie	82
3	ODG III	T l	STR	RT	tumor	histologie	50
4	GBM IV	F l	RR	RT+CHT	tumor	histologie	42
5	AA III	FT r	PR	RT+CHT	tumor	histologie	73
6	GBM IV	P l	PR	RT+CHT	tumor	radiologie	106
7	AA III	FP r	PR	RT+CHT	tumor	radiologie	63
8	GBM IV	T r	PR	RT+CHT	tumor	radiologie	42
9	GBM IV	P r	RR	RT+CHT	tumor	histologie	27
10	GBM IV	P r	STR	RT+CHT	tumor	histologie	48
11	GBM IV	O l	RR	RT+CHT	tumor	histologie	27
12	GBM IV	O r	PR	RT+CHT	tumor	radiologie	77
13	AA III	TO l	RR	RT+CHT	tumor	radiologie	104
14	GBM IV	T r	RR	RT+CHT	tumor	histologie	2
15	AA III	T l	PR	RT+CHT+SRS	tumor	radiologie	83
16	AA III	T r	RR	RT+CHT	tumor	histologie	23
17	AA III	F r	STR	RT+CHT	tumor	radiologie	75
18	GBM IV	O r	RR	RT+CHT	tumor	histologie	29
19	AA III	T l	STR	RT+CHT	tumor	histologie	20
20	GBM IV	F l	RR	RT+CHT	tumor	radiologie	105
21	GBM IV	F r	RR	RT+CHT	tumor	histologie	96
22	ODG III	O l	RR	RT+CHT	tumor	radiologie	196
23	GBM IV	F l	RR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	190
24	GBM IV	P r	RR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	228
25	ODG III	P l	STR	RT	radionekróza	radiologie	245
26	AA III	BG l	STR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	194
27	AA III	F l	RR	RT+CHT	radionekróza	histologie	1
28	GBM IV	T l	RR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	215
29	GBM IV	P l	RR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	215
30	GBM IV	F l	STR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	189
31	AA III	FT r	PR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	183
32	GBM IV	O l	RR	RT+CHT	radionekróza	histologie	27
33	GBM IV	O l	RR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	99
34	GBM IV	P l	RR	RT+CHT	radionekróza	histologie	37
35	ODG III	F l	RR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	196
36	AA III	F l	PR	RT+CHT+SRS	radionekróza	radiologie	83
37	ODG III	TP l	RR	RT+CHT	radionekróza	radiologie	196

3.1.4 MR protokol

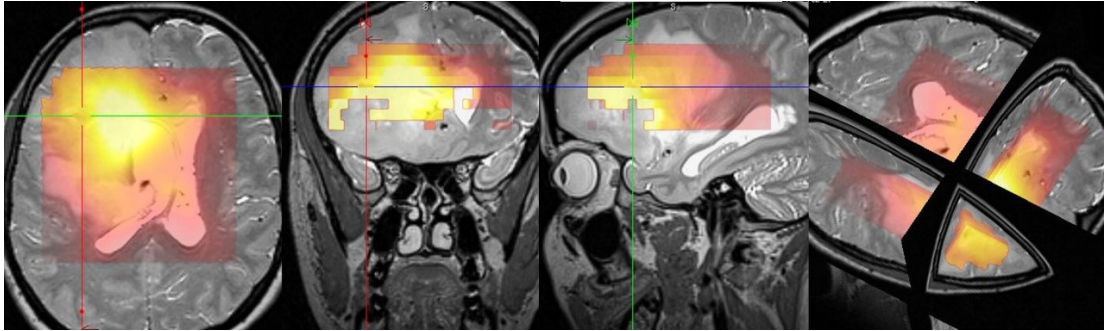
Pacienti před zařazením do studie podstupovali standardní klinické vyšetření MRI, včetně MRI s gadoliniovým kontrastem na 1,5 T přístroji (Avanto, Siemens Healthineers, Německo). Po zařazení do studie byl každý pacient dále vyšetřen na 3T přístroji (Trio, Siemens Healthineers, Německo) vybaveném hlavovou cívkou. Vyšetřovací protokol zahrnoval standardní MRI, 2D a 3D MRSI.

3T MRI: Zobrazovací protokol zahrnoval sagitální, koronální a axiální T2 vážené řezy (T2W, turbo spin echo sekvence) a sagitální T1 vážené řezy (T1W, MPRAGE). Získané obrazy byly použity k lokalizaci léze a zaměření spektroskopického VOI.

1H MRS: Data 2D MRSI byla získána pomocí sekvence 2D PRESS-MRSI s TR/TE/NA = 1510 ms/30 nebo 135 ms/4, Field Of View (FOV) 160x160x15 mm, fázová kódovací matice 16x16, objem voxelu 1,5 ml, s a bez potlačení signálu vody. 3D data MRSI byla získána pomocí 3D PRESS-MRSI s potlačením signálu vody, fázové kódování 14x14x12, FOV 160x160x90 mm, TR/TE/NA = 1200 ms/135 ms/1. Spektroskopický VOI ve skupině pacientů byl umístěn tak, aby zahrnoval, pokud možno, celou kontrastně se sytící lézi včetně potenciálního cíle biopsie. Kvůli zohlednění prostorové závislosti koncentrací metabolitů v mozku byly VOI u zdravých subjektů umístěny v různých oblastech mozku, aby byla získána kontrolní data z celého mozkového parenchymu. Byly měřeny údaje z frontálních, parietálních, okcipitálních, spánkových laloků, hipokampů, thalamu a bazálních ganglií v obou hemisférách.

3.1.5 Korelace MRI-MRS-histologie

U 3 pacientů byl pro intraoperační navigaci použit 3D datový soubor MRI/MRS (Obrázek 11). Když byl chirurgický zákrok z provozních důvodů proveden s odstupem 7 dní či více od MRS vyšetření, v tom případě bylo provedeno před operací nové 3D MRI vyšetření a tento výsledek byl použit k neurochirurgické navigaci. Nová MRS nebyla měřena z důvodu nezatěžování pacienta dalším časově náročným vyšetřením. V tomto případě, aby byla zajištěna nejlepší korelace mezi histologickými a MRS daty, přesné místo bioptického vzorku bylo označeno intraoperačně na 3D MRI a takto označená poloha byla následně použita k získání odpovídajícího voxelu MRS.



Obr. 11 Vizualizace sloučených obrazů 3D MRI-3D Cho v navigačním systému během stereotaktické biopsie u léze č. 29. 3D obrázky Cho na transverzální, koronální, sagitální a 3D multiplanární MRI. Žlutá barva - vysoké hodnoty Cho, červená barva - normální hodnoty Cho.

3.1.6 Zpracování MRSI dat

Data 2D i 3D MRSI byla analyzována pomocí programu jSIPRO s grafickým datovým rozhraním LCMoDel-SI (Jiru F. et al., 2013, Provencher S.W., 2001). Zpracování dat zahrnovalo mimo jiné doplnění nulami na velikost matice 32x32 v příčné rovině. V případě 2D MRSI hodnoty intenzit signálů metabolitů odpovídaly jejich koncentracím v institucionárních jednotkách. Jako vnitřní standard pro výpočet metabolické koncentrace byl použit signál vody. Nebyly provedeny korekce na relaxační časy, ani na obsah mozkomíšního moku v měřeném VOI. Hodnoty koncentrací metabolitů při použití 3D MRSI odpovídaly intenzitě signálu (plocha pod křivkou) v laboratorních jednotkách, bez přepočtu na referenční signál vody.

3.1.7 Analýza dat

Ve skupině pacientů byla MRS data s krátkým i dlouhým TE k dispozici u 25 lézí. Data s krátkým TE nebyla k dispozici v 5 případech z technických důvodů: předčasné přerušení protokolu MR na základě požadavku pacienta (1 případ), spektra nízké kvality (1 případ), cíl biopsie mimo VOI (3 případy). Data s dlouhým TE chyběla v 5 případech: neúplný protokol měření (2 případy), data nízké kvality (1 případ), cíl biopsie mimo řez MRSI (2 případy). Na všech zahrnutých lézích bylo testováno šest různých metod vyhodnocení dat pro diferenciální diagnostiku mezi recidivou a radionekrózou.

Metoda 1 (M1): srovnání Cho/Cr v lézi u pacientů s Cho/Cr v odpovídající oblasti mozku v kontrolní skupině (Tabulka 3). Léze s Cho/Cr vyšším než horní kontrolní limit Cho/Cr byly klasifikovány jako recidiva, léze Cho/Cr v kontrolním intervalu nebo nižší byly klasifikovány jako radionekróza.

Metoda 2 (M2): srovnání hodnot Cho a Lac v lézi s Cho a Lac v odpovídající oblasti mozku v kontrolní skupině (Tabulka 3). Léze s hodnotou Cho vyšší než kontrolní interval byly klasifikovány jako recidiva. Léze s hodnotami Cho a Lac v jejich kontrolních intervalech byly klasifikovány jako regresivní recidiva. Léze s hodnotou Cho v rámci kontrolního intervalu a Lac vyšší než kontrolní interval byly klasifikovány jako radionekróza.

Metoda 3 (M3): srovnání Cho/Cr (v lézi) a nCho/nCr (v kontralaterální hemisféře) ve skupině pacientů (Tabulka 4). Procentuální změny mezi hemisférami byly spočteny tímto vzorcem:

$$\Delta\text{Cho/Cr} [\%] = \frac{\text{Cho/Cr} - \text{nCho/nCr}}{\text{nCho/nCr}} \times 100$$

Metoda 4 (M4): srovnání hodnot Cho a Lac (v lézi) versus nCho a nLac (v kontralaterální hemisféře) ve skupině pacientů, v případě krátkého TE navíc s výpočtem $\Delta\text{Cho/Cr}$ (Tabulka 5). Procentuální změny mezi hemisférami byly spočteny těmito vzorci:

$$\Delta\text{Cho} [\%] = \frac{\text{Cho} - \text{nCho}}{\text{nCho}} \times 100 \text{ a } \Delta\text{Lac} [\%] = \frac{\text{Lac} - \text{nLac}}{\text{nLac}} \times 100$$

ΔCho , respektive ΔLac matematicky odpovídá v literatuře často uváděnému výrazu Cho/nCho, respektive Lac/nLac.

Metoda 5 (M5): použití Cho/nCho a Cho/nCr s prahovými hodnotami odvozenými na základě výsledků studie od Rock et al. (Rock J.P. et al., 2002). Cho byla hodnota v lézi, nCho a nCr byly hodnoty v kontralaterální hemisféře (Tabulka 6).

Metoda 6 (M6): použití Cho/nCho a Cho/NAA s vlastními prahovými hodnotami, kde Cho a NAA byly hodnoty v lézi, nCho kontralaterálně (Tabulka 7).

Porovnání mezi hemisférami (M3, M4, M5, M6) nebylo použitelné u 4 lézí, protože MRI prokázalo strukturální změny v kontralaterální hemisféře, které neumožňovaly srovnání se zdravou kontralaterální oblastí.

3.1.8 Statistická analýza

Hodnoty metabolitů a interhemisferálních rozdílů ve skupinách podle diagnózy (aktivní recidiva, regresivní recidiva nebo radionekróza) byly porovnány pomocí Kruskal-Wallisova testu. V případě nalezení statisticky významného rozdílu ($p < 0,05$) byla k analýze odchylek mezi jednotlivými skupinami použita metoda mnohonásobného porovnání Steel-Dwass test.

Tab. 3 Průměrné hodnoty Cho, Cho/Cr a Lac a odpovídající směrodatná odchylka (v závorce) v jednotlivých oblastech mozku v kontrolní skupině. Koncentrace Cho a Lac při použití 2D MRSI jsou vyjádřeny v institucionálních jednotkách. Intenzity Cho a Lac při použití 3D MRSI jsou uvedeny v laboratorních jednotkách. Tyto hodnoty byly používány při aplikaci metod M1 a M2. TE, Echo Time; F, frontální; P, parietální; O, okcipitální; T, temporální; BG, bazální ganglia; l, levá hemisféra; p, pravá hemisféra.

		Cho		Cr		Cho/Cr		Lac	
		l	p	l	p	l	p	l	p
2D MRSI TE=30 ms	F	1.78 (0.17)	1.76 (0.29)	4.86 (0.28)	4.92 (0.31)	0.34 (0.03)	0.36 (0.05)	0.48 (0.46)	0.58 (0.40)
	P	1.40 (0.15)	1.37 (0.15)	4.82 (0.44)	4.90 (0.55)	0.29 (0.03)	0.28 (0.03)	0.24 (0.23)	0.30 (0.28)
	O	1.18 (0.14)	1.25 (0.21)	3.99 (0.35)	4.02 (0.50)	0.30 (0.04)	0.31 (0.04)	0.83 (0.71)	0.99 (0.47)
	T	0.94 (0.16)	0.95 (0.15)	2.88 (0.61)	3.05 (0.47)	0.33 (0.02)	0.31 (0.02)	0.33 (0.18)	0.62 (0.44)
	BG	1.15 (0.26)	1.11 (0.27)	4.21 (0.87)	4.05 (0.61)	0.27 (0.04)	0.29 (0.04)	0.72 (0.60)	0.68 (0.51)
3D MRSI TE=135 ms	F	6355 (501)	7228 (996)	14600 (1531)	16108 (903)	0.44 (0.08)	0.42 (0.06)	3394 (1417)	3050 (909)
	P	4791 (1145)	4968 (1354)	15128 (2834)	15447 (2825)	0.31 (0.03)	0.32 (0.04)	5001 (3703)	3415 (2879)
	O	5540 (412)	5830 (522)	15595 (1059)	16557 (1102)	0.36 (0.03)	0.35 (0.04)	6834 (4921)	7637 (6045)
	T	4748 (374)	5188 (338)	13253 (1332)	13918 (2322)	0.36 (0.03)	0.38 (0.05)	5438 (3971)	4602 (3884)
	BG	4385 (828)	4684 (506)	13106 (2649)	13542 (2994)	0.35 (0.05)	0.35 (0.06)	5271 (3504)	4244 (2031)

Tab. 4 Kritéria metody M3 pro TE = 30 a 135 ms.

TE, Echo Time; Δ , procentuální interhemisferální rozdíl; REC, recidiva tumoru; RAD, radionekróza.

	TE = 135 ms Δ (%)	TE = 30 ms Δ (%)
REC	$\Delta\text{Cho}/\text{Cr} > 30$	$\Delta\text{Cho}/\text{Cr} > 25$
RAD	$\Delta\text{Cho}/\text{Cr} < 30$	$\Delta\text{Cho}/\text{Cr} < 25$

Tab. 5 Kritéria metody M4 pro TE = 30 a 135 ms.

TE, Echo Time; Δ , procentuální interhemisferální rozdíl; RAD, radionekróza; rREC, regresivní recidiva tumoru; REC, aktivní recidiva tumoru.

	TE = 135 ms Δ (%)	TE = 30 ms Δ (%)
	$\Delta\text{Cho} < -20$	$\Delta\text{Cho} < -20$
RAD	$-20 < \Delta\text{Cho} < 16 + \Delta\text{Lac} > 50$	$-20 < \Delta\text{Cho} < 0 + \text{Cho}/\text{Cr} < 25$ $0 < \Delta\text{Cho} < 16 + \text{Cho}/\text{Cr} < 25 + \Delta\text{Lac} > 150$
rREC	$-20 < \Delta\text{Cho} < 16 + \Delta\text{Lac} < 50$ $16 < \Delta\text{Cho} < 25 + \Delta\text{Lac} > 150$	$-20 < \Delta\text{Cho} < 0 + \text{Cho}/\text{Cr} \geq 25$ $0 < \Delta\text{Cho} < 16 + \Delta\text{Lac} > 150 + \text{Cho}/\text{Cr} > 25$
REC	$16 < \Delta\text{Cho} < 25 + \Delta\text{Lac} < 150$ $\Delta\text{Cho} > 25$	$0 < \Delta\text{Cho} < 16 + \Delta\text{Lac} < 150$ $\Delta\text{Cho} > 16$

Tab.6 Kritéria metody M5 pro TE = 30 a 135 ms.

TE, Echo Time; RAD, radionekróza; rREC, regresivní recidiva tumoru; REC, aktivní recidiva tumoru.

TE = 30 and 135 ms			
	$\text{Cho}/\text{nCr} < 0.26$		
RAD	$0.26 < \text{Cho}/\text{nCr} < 0.35$	+	$\text{Cho}/\text{nCho} < 0.9$
rREC	$0.26 < \text{Cho}/\text{nCr} < 0.35$	+	$\text{Cho}/\text{nCho} > 0.9$
REC	$\text{Cho}/\text{nCr} > 0.35$		

Tab.7 Kritéria metody M6 pro TE = 30 a 135 ms.

TE, Echo Time; RAD, radionekróza; rREC, regresivní recidiva tumoru; REC, aktivní recidiva tumoru.

	TE = 135 ms	TE = 30 ms
RAD	Cho/nCho < 0.8 0.8 < Cho/nCho < 1.16 + Cho/NAA < 0.45	Cho/nCho < 0.8 0.8 < Cho/nCho < 1 + Cho/NAA < 0.45
rREC	0.8 < Cho/nCho < 1.16 + Cho/NAA > 0.45 1.16 < Cho/nCho < 1.25 + Cho/NAA < 0.35	0.8 < Cho/nCho < 1 + Cho/NAA > 0.45 1 < Cho/nCho < 1.16 + Cho/NAA < 0.35
REC	1.16 < Cho/nCho < 1.25 + Cho/NAA > 0.35 Cho/nCho > 1.25	1 < Cho/nCho < 1.16 + Cho/NAA > 0.35 Cho/nCho > 1.16

3.2 Metodika cerebrovaskulární studie

3.2.1 Soubor pacientů

Do této studie bylo zařazeno celkem 36 pacientů s jednostrannou okluzí ACI. Diagnóza okluze ACI byla potvrzena CT angiografií. Okluze byla definována jako úplná obliterace cévy bez detekovatelné kontrastní látky distálně od uzávěru. Kritéria pro vyloučení byla: modifikovaná Rankinova škála (mRS) vyšší než 1, více než 50% stenóza kontralaterální ACI na CT angiografi, přítomnost jakéhokoli souběžného onemocnění CNS, anamnéza kouření, abusus alkoholu nebo drog, index tělesné hmotnosti (BMI) vyšší než 30. Po vyloučení nevhodných subjektů bylo do studie zahrnuto celkem 22 pacientů (16 mužů a 6 žen, průměrný věk 62 ± 7). Okluze byla asymptomatická u 8 pacientů, zbývající subjekty utrpěly mozkovou ischemickou příhodou minimálně 6 měsíců před zařazením nebo dříve (drobná cévní mozková příhoda u 5 pacientů, přechodná ischemická ataka u 9 pacientů). Žádný pacient nevykazoval stupeň neurologického postižení vyšší než 1 podle mRS (mRS = 0 u 17 subjektů, mRS = 1 z 5 subjektů). Osm subjektů vykazovalo určitý stupeň stenózy kontralaterální ACI (20% N = 2, 30% N = 2, 40% N = 3, 50% N = 1). Stran komorbidit 19 pacientů trpělo hypertenzí, 12 pacientů mělo hypercholesterolemii, 8 pacientů mělo

diabetes mellitus a 6 pacientů mělo v anamnéze ischemickou chorobu srdeční. Do této studie byla zároveň zařazena skupina 20 zdravých kontrol odpovídajících skupině pacientů podle věku a pohlaví (10 mužů a 10 žen, průměrný věk 63 ± 8). V kontrolní skupině byly krční tepny vyšetřeny ultrazvukem, aby zdraví dobrovolníci nebyli zatěžováni radiačním rizikem CT. Vylučovací kritéria pro kontrolní skupinu byla: více než 50% stenóza ACI na jakékoli straně, anamnéza cévní mozkové příhody nebo jiných neurologických poruch, kouření nebo abusus drog, BMI vyšší než 30. V kontrolní skupině mělo 7 subjektů stenózu jedné karotické tepny, ve všech případech byla stenóza pod 50 % (20% N = 3, 30% N = 2, 40% N = 2). Komorbidity byly v kontrolní skupině následující: hypertenze u 7 subjektů, hypercholesterolemie u 5 subjektů, diabetes u 2 subjektů, ischemická choroba srdeční u 1 subjektu. U všech diagnostických modalit byla do analýzy zahrnuta pouze jedna hemisféra u kontrolních subjektů (N = 20), aby odpovídala velikosti podskupin pacientů: ipsilaterální (N = 22) a kontralaterální (N = 22) hemisféra vůči straně okluze ACI. U 7 kontrolních subjektů, kteří měli stenózu karotické tepny, byla vybrána k analýze hemisféra ipsilaterální ke karotidě bez jakéhokoli stupně stenózy, jinak byla u ostatních kontrolních subjektů paušálně použita levá hemisféra. Klinický protokol této studie byl certifikován podle normy ISO 9001: 2008. Hlavní demografické a neurologické charakteristiky skupiny pacientů jsou uvedeny v Tabulce 8.

Tab. 8 Demografické, neurologické a klinické charakteristiky pacientů.

M, muž; Ž, žena; P, pravá; L, levá; CMP, cévní mozková příhoda s reziduálním neurologickým deficitem; TIA, tranzitorní ischemická ataka bez reziduálního neurologického deficitu; Asympt, asymptomatický pacient; mRS, modifikovaná Rankinova škála; HT, hypertenze; HCHT, hypercholesterolémie; DM, diabetes mellitus; ICHS, ischemická choroba srdeční.

	Pohlaví	Věk	Strana okluze	Klinické příznaky	mRS	HT	HCHT	DM	ICHS
1	M	62	P	CMP	1	+	+	-	-
2	M	68	L	Asympt	0	-	-	-	+
3	Ž	70	L	TIA	0	+	+	-	+
4	M	53	P	TIA	0	+	+	-	-
5	Ž	72	L	TIA	0	+	+	-	-
6	Ž	48	P	TIA	0	+	-	-	-
7	M	54	L	TIA	0	-	-	-	-
8	Ž	63	P	Asympt	0	+	-	-	-
9	M	49	L	CMP	1	+	+	-	-
10	M	67	P	CMP	1	+	-	+	+
11	M	59	L	CMP	1	+	+	+	-
12	M	64	P	Asympt	0	+	+	+	-
13	M	61	P	CMP	1	+	-	+	+
14	M	62	L	Asympt	0	+	+	+	-
15	Ž	66	P	TIA	0	+	+	+	+
16	M	63	P	TIA	0	-	-	-	-
17	M	74	L	Asympt	0	+	+	+	-
18	M	60	P	TIA	0	+	+	+	-
19	M	62	L	Asympt	0	+	-	-	+
20	M	71	P	Asympt	0	+	-	-	-
21	Ž	60	L	Asympt	0	+	+	-	-
22	M	64	L	TIA	0	+	-	-	-

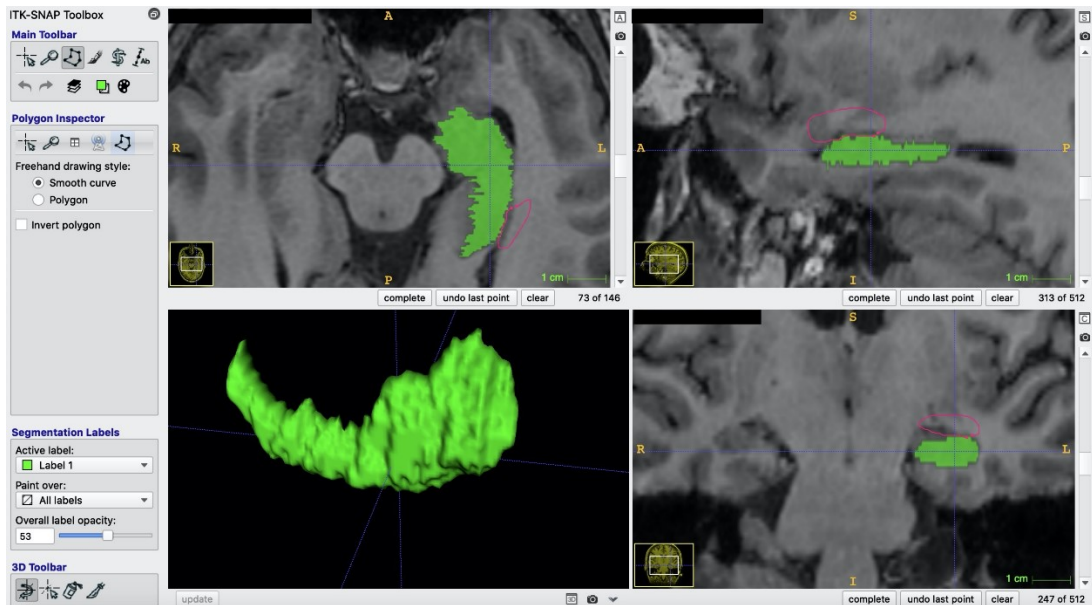
3.2.2 Ultrazvukové vyšetření TCD

Pacienti byli vyšetřeni pomocí TCD sondy 2 MHz (Toshiba Nemio, Toshiba, Tokio, Japonsko). Přes kostní okno ve spánkové oblasti byly měřeny na středních mozkových tepnách (ACM) na obou stranách následující parametry: špičková systolická rychlost, střední rychlost toku, koncová diastolická rychlost, rezistenční index, index pulzatility. Tyto parametry byly měřeny střídavě třikrát během normálního klidného dýchání a třikrát po zadržení dechu po maximální možnou dobu. Mezi zadržením dechu a následujícím měřením v klidu byla vždy minimálně 2minutová pauza. Byla zaznamenána celková doba zadržení dechu. Naměřené parametry byly poté použity k výpočtu průměrného indexu zadržení dechu (BHI) zvláště pro každou hemisféru (Markus H.S., Harrison M.J., 1992) pomocí následujícího vzorce: $\frac{\Delta V}{t}$, kde ΔV je procentuální zvýšení rychlosti průtoku krve v ACM, ke kterému dochází během zadržování dechu, a t je celková doba zadržení dechu.

3.2.3 MR poloautomatická hipokampální volumetrie

Vstupní MR data pro volumetrii byla měřena na MR skeneru 3T Signa HDxt (GE Healthcare, Waukesha, WI) pomocí celotělové cívky a 8kanálové hlavové cívky. Byla použita sekvence BRAVO (T1-vážená 3D Gradient Echo sekvence) s parametry TR/TE = 10,876/4,588 ms, velikost voxelu 0,4688x0,4688x1 mm. Objem hipokampu byl měřen pomocí softwaru Freesurfer (Fischl B. et al., 2002). Prvním krokem byla automatická segmentace hipokampu softwarem, následovala manuální korekce radiologem ve všech třech anatomických rovinách v softwaru ITK-SNAP (Yushkevich P.A. et al., 2006). Jako orientační bod pro přední hranice hipokampu byl použit alveus, pro zadní část postranní komora (fornix v celé délce v koronálních rovinách). Horní a boční hranice byly definovány mozkomíšním mokem (CSF). Bílá hmota parahipokampálního gyru odlišitelná od šedé hmoty hipokampu vytvořila spodní hranici. Dolní mediální hranice byla determinována vyřazením subikula z kůry parahipokampálního gyru, horní mediální hranice byla identifikována podle CSF v cisterna ambiens. Sagitální roviny byly primárně použity k identifikaci hranic hipokampu (Pantel J. et al., 2000) a nejisté oblasti, kde byla separace od sousedních mozkových struktur méně jasná, byly kontrolovány v koronální rovině. Vymezení hipokampálních hranic bylo obvykle náročnější v přední části (oddělení od amygdaly) a v posteromediální oblasti, která sousedí se zadními thalamickými strukturami.

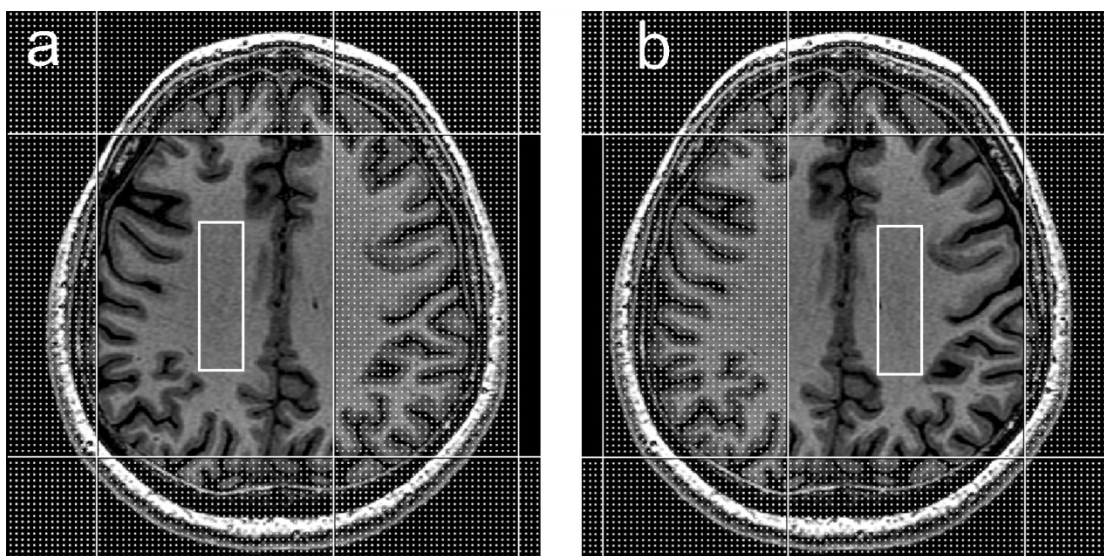
Deset subjektů bylo měřeno dvakrát, aby se vyhodnotila osobní variabilita člověka provádějícího měření. Anatomické hranice byly stanoveny podle publikace od Konrad et al. (Konrad C. et al., 2009). Příklad manuální korekce primárního automatizovaného výstupního objemu hipokampu je uveden na Obrázku 12.



Obr. 12 Příklad manuální korekce primárního objemu hipokampu automaticky segmentovaného softwarem Freesurfer. Korekce je provedena pomocí softwaru ITK-SNAP. Z levého horního panelu ve směru hodinových ručiček je zobrazen axiální, sagitální a koronální pohled. 3D vykreslení hipokampálního objemu je zobrazeno v levém dolním panelu. Anatomické hranice hipokampu byly primárně ověřeny v sagitální rovině (řez po řezu), koronální rovina byla použita k rozlišení nejistých oblastí. Primární objem zeleně. Ručně nakreslená růžová čára konturuje oblast, která se má vyloučit. Publikováno v Malucelli A. et al., 2021.

3.2.4 1H MRS protokol

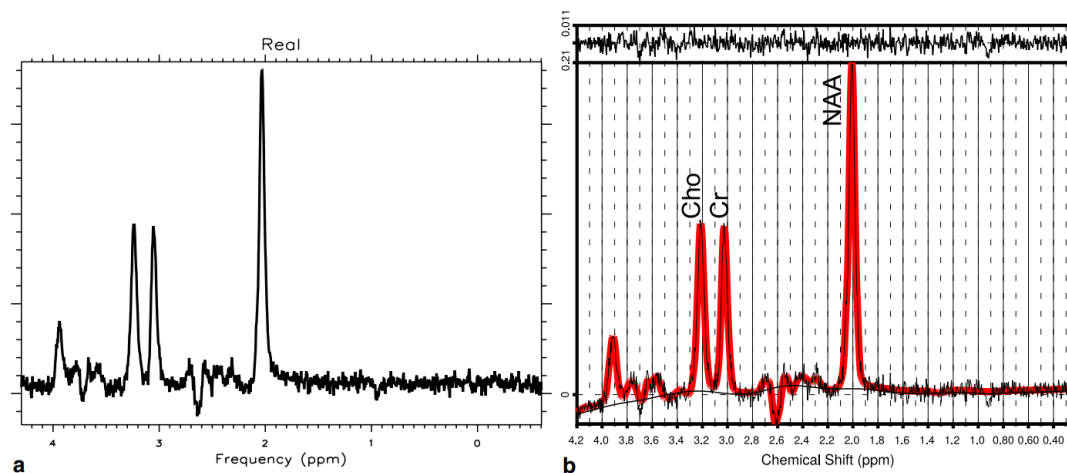
SVS byla provedena na stejném 3T MR skeneru s použitím stejné cívky pomocí standardní 1D PROBE-P PRESS (GE Healthcare) s potlačením vody. Pomocí T1 vážených obrazů jako anatomické reference byly dva VOI umístěny symetricky od střední čáry podél dlouhé osy centrum semiovale pravé a levé hemisféry s vyloučením postranních komor a minimalizací inkluze šedé hmoty (Obrázek 13).



Obr. 13 Poloha VOI podél dlouhé osy centrum semiovale pravé (a) a levé (b) hemisféry. Tečkované oblasti představují pásma potlačení vnějšího objemu. Publikováno v Malucelli A. et al., 2021.

Pečlivě byly vyloučeny oblasti s alterací signálu T1, aby nebyly případně zahrnuty do VOI postischemické léze. Průměrný objem VOI v celé kohortě byl $14,8 \pm 1,5$ ml, průměrné rozměry VOI byly: $50,1 \pm 2,6 \times 19,7 \pm 1,1 \times 15,0 \pm 0,8$ mm. Byly použity následující parametry: TR/TE = 1500/144 ms, τ (zpoždění mezi 1. a 2. excitačním pulzem) = 12 768 ms, počet akvizic = 128, 8fázový cyklus, velikost vektoru = 4096, spektrální šířka = 5 000 Hz. Čtyři pruhy potlačení vnějšího objemu rovnoběžné s okrajem VOI byly umístěny ve vzdálenosti přibližně 3 cm od hranic VOI, aby se minimalizovala kontaminace lipidy. LCMoel (Provencher S.W., 1993) byl použit ke kombinaci signálů z jednotlivých kanálů cívky a k odhadu koncentrací mozkových metabolitů. Odhad byl založen na modelování získaného MR signálu jako lineární

kombinace signálů jednotlivých metabolitů v báze sadě. Signály báze sady pro LCModel byly získány kvantově-mechanickou simulací pomocí simulačního softwaru SIMPSON (Bak M. et al., 2000). Tato sada zahrnovala následující metabolity: glycerofosfocholin (GPC), fosfocholin (PCho), fosfokreatin (PCr), kreatin (Cr), glutamin, glutamát, inositol, scyllo-inositol, laktát (Lac), N-acetylaspartát (NAA), N-acetylaspartylglutamát (NAAG), taurin, guanidinoacetát. Lipidy a makromolekuly byly analyticky simulovány uvnitř LCModelu. Byly použity následující standardní simulované lipidy a nastavení makromolekul: Lip09, MM09, Lip20, MM20, MM12, MM14, MM17. Rozsah fitování byl 0,2 - 4,2 ppm. Celkový poměr signálu k šumu měřených spekter (podle odhadu LCModel) byl $17,8 \pm 5,0$. Předběžná analýza výsledků LCModelů všech subjektů ukázala silnou pozitivní korelaci mezi koncentracemi alaninu, lipidů při 1,3 ppm a laktátu. Toto se dá vysvětlit tím, jak laktát rezonuje ve stejné oblasti spektra jako tyto sloučeniny, akorát jeho signál má opačnou amplitudu. Tato skutečnost mohla vést k systematickému nadhodnocování koncentrace laktátu. Lipidy při 1,3 ppm a alanin byly proto odstraněny z původní báze sady, aby se zlepšila přesnost odhadu koncentrace laktátu. Signál bez potlačení vody byl získáván s 16 akvizicemi (fázové cykly 2×8 kroků) a použit jako vnitřní standard pro odhad koncentrace metabolitů. Vypočtené koncentrace byly korigovány na individuální obsah vody ve VOI a T1/T2 relaxaci vody v bílé hmotě/šedé hmotě/CSF na základě metodiky popsané v Gasparovic et al. (Gasparovic C. et al. 2006). Protože studie Gasparovic byla prováděna při 1,5 T, byly relaxační časy T2 vody v bílé a šedé hmotě odvozeny od Posse et al. (Posse S. et al., 2007), kteří používali protokol na 3T. Konkrétně byly použity následující hodnoty pro šedou hmotu, bílou hmotu, CSF: relaxační časy T1 1470, 1060, 3000 ms, relaxační časy T2 110, 74, 200 ms. Objemové frakce bílé hmoty / šedé hmoty / CSF ve VOI potřebné pro korekci byly stanoveny ko-registrací 3D BRAVO MR obrazů segmentovaných v softwaru SPM8 (Friston K.J., 2007) a spektroskopického VOI. Nakonec byly koncentrace celkového Cho, celkového Cr a celkového NAA korigovány na relaxační časy T1 a T2 pomocí hodnot z literatury (Ethofer T., 2003, Isobe T. et al., 2007, Träber F. et al., 2004). Tato korekce nebyla aplikována na Lac, protože dle našich znalostí dosud nebyly publikovány žádné *in vivo* T1 a T2 relaxační časy pro Lac v magnetickém poli 3T. Kvůli tomu zůstaly koncentrace Lac v institucionálních jednotkách. Příklad spektra na straně okluze ACI před a po rozpracování LCModelem je uveden na Obrázku 14.



Obr. 14 Příklad spektra na straně okluze ACI před (a) a po (b) zpracování LCMmodelem. V (a) jedinou korekcí aplikovanou na měřené spektrum byla rekonstrukce „PROBE-P“, která zahrnuje fázovou korekci a kombinaci signálů z jednotlivých kanálů cívky bez doplnění nulami. V (b) je vyobrazen základní výstup z LCMModel (hladká černá čára) a křivka po fitování (červená čára); černá čára v boxu nahoře představuje rozdíl mezi korigovanou čarou a měřeným signálem. Tři nejvýznamnější vrcholy představují (zleva doprava) - cholinové sloučeniny (Cho), celkový kreatin (Cr), celkový N-acetylaspartát (NAA). Publikováno v Malucelli A. et al., 2021.

3.2.5 Statistická analýza

Korelační analýza byla založena na výpočtu Spearmanova korelačního koeficientu. Vzhledem ke kontinuálnímu charakteru proměnných (např. BHI, NAA), bylo porovnání dat v následujících třech skupinách: a) pacienti, ipsilaterální strana; b) pacienti, kontralaterální strana; a c) zdraví dobrovolníci (kontroly) provedeno Kruskal-Wallisovým testem. Pokud byl výsledek Kruskal-Wallisova testu významný ($p < 0,05$), byl k analýze rozdílů mezi jednotlivými skupinami použit Mann-Whitneyův U test. Ve skupině pacientů byla provedena podobná analýza dalších podskupin srovnáváním symptomatických versus asymptomatických subjektů a pacientů s versus bez kontralaterální stenózy. Normálnost distribuce dat byla testována Kolmogorov-Smirnovovým a Shapiro-Wilkovým testem. Všechny statistické analýzy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 5\%$ a všechny použité statistické testy byly oboustranné. Data byla analyzována pomocí statistického softwaru STATISTICA v. 10 (StatSoft Inc., USA).

4. Výsledky

Tato sekce obsahuje původní výsledky výzkumu autora během postgraduálního studia. Opět je sekce rozdělena do dvou částí, každá prezentující výsledky výzkumu ve dvou výše jmenovaných podoblastech zájmu.

4.1 Výsledky neuroonkologické studie

Do této studie bylo zahrnuto 37 nově kontrastně se sytících lézí. Dvacet jedna lézí bylo klasifikováno pomocí klinických a radiologických kritérií popsaných v části Materiály a metody bez indikace chirurgického zákroku. V 16 případech byla diagnóza založena na histologii: z těchto lézí 3 případy byly klasifikovány jako radionekróza, 9 lézí jako recidiva, 4 vzorky jako regresivní recidiva. Celkem bylo 22 lézí klasifikováno jako recidiva tumoru (recidiva + regresivní recidiva) a 15 lézí jako radiační změny (radionekróza). Doba od MRS do diagnózy se pohybovala v celé kohortě mezi 1 a 245 dny (průměr $99 \pm 75,6$ dnů). V podskupině histologicky ověřených lézí byla průměrná doba od MRS do diagnózy 37 ± 28 dní (2-96 dní). Čas od MRS do diagnózy v podskupině lézí klasifikovaných podle klinického a radiologického sledování se pohyboval od 42 do 245 dnů (průměr 147 ± 65 dní).

Při použití 2D MRSI s $TE = 30$ ms byl nalezen statisticky významný rozdíl v interhemisferálních hodnotách ΔCho mezi recidivami a radionekrózami, kde ΔCho byl významně vyšší u recidiv, a totéž v interhemisferálních hodnotách ΔCr mezi aktivními a regresivními recidivami, kde ΔCr byl významně nižší u regresivních recidiv (Tabulka 9). 3D MRSI s $TE = 135$ ms vykazovalo statisticky významný rozdíl v interhemisferálních hodnotách ΔCho a $\Delta Cho/Cr$ mezi recidivami a radionekrózami, kde ΔCho a $\Delta Cho/Cr$ byly významně vyšší u recidiv (Tabulka 9). Skupiny recidiv tumoru a radionekróz se statisticky lišily také v hodnotách poměrů Cho/Cr a NAA/Cr , kde Cho/Cr byl významně vyšší a NAA/Cr byl významně nižší u recidiv (Tabulka 10). Ostatní metabolity zahrnuté do analýzy a jejich interhemisferální poměry nevykazovaly statisticky významný rozdíl mezi skupinami. Obrázek 15 ukazuje příklad spekter s dlouhým a krátkým TE u recidivy, regresivní recidivy a radionekrózy.

Tab. 9 Mediány interhemisferálních rozdílů metabolitů v celé skupině REC, rREC a RAD měřených s krátkým a dlouhým TE.

TE, Echo Time; REC, aktivní recidiva tumoru; rREC, regresivní recidiva tumoru; RAD, radionekróza. V závorkách je uveden interval 25.-75. percentilu. * statisticky signifikantní s $p < 0.05$, ** statisticky signifikantní s $p < 0.01$.

		ΔCho [%]	$\Delta\text{Cho}/$ Cr [%]	ΔLac [%]	ΔNAA [%]	$\Delta\text{NAA}/$ Cr [%]	ΔCr [%]	ΔMM Lip [%]
TE=30 ms	REC	31** (6 - 54)	50 (26 - 80)	96 (14 - 520)	-28 (-72 - -20)	-23 (-57 - -13)	-9* (-26 - 6)	119 (39 - 491)
	rREC	-13 (-31 - 5)	56 (20 - 121)	980 (304 - 1250)	-62 (-69 - -57)	-30 (-49 - -7)	-42* (-56 - -37)	110 (-34 - 130)
	RAD	-7** (-22 - 4)	36 (19 - 52)	134 (-44 - 954)	-44 (-65 - -38)	-25 (-45 - -9)	-32 (-42 - -17)	8 (-40 - 312)
TE=135 ms	REC	36** (25 - 68)	71* (41 - 107)	-2 (-35 - 224)	-48 (-70 - -35)	-43 (-58 - -29)	-11 (-29 - 1)	121 (-41 - 573)
	rREC	38 (-4 - 93)	133 (59 - 197)	-32 (-67 - 7809)	-54 (-72 - -41)	-47 (-47 - -25)	-17 (-61 - -13)	-52 (-93 - 26)
	RAD	0** (-31 - 16)	32* (13 - 53)	160 (74 - 340)	-51 (-63 - -25)	-19 (-29 - -14)	-28 (-47 - -6)	32 (-81 - 561)

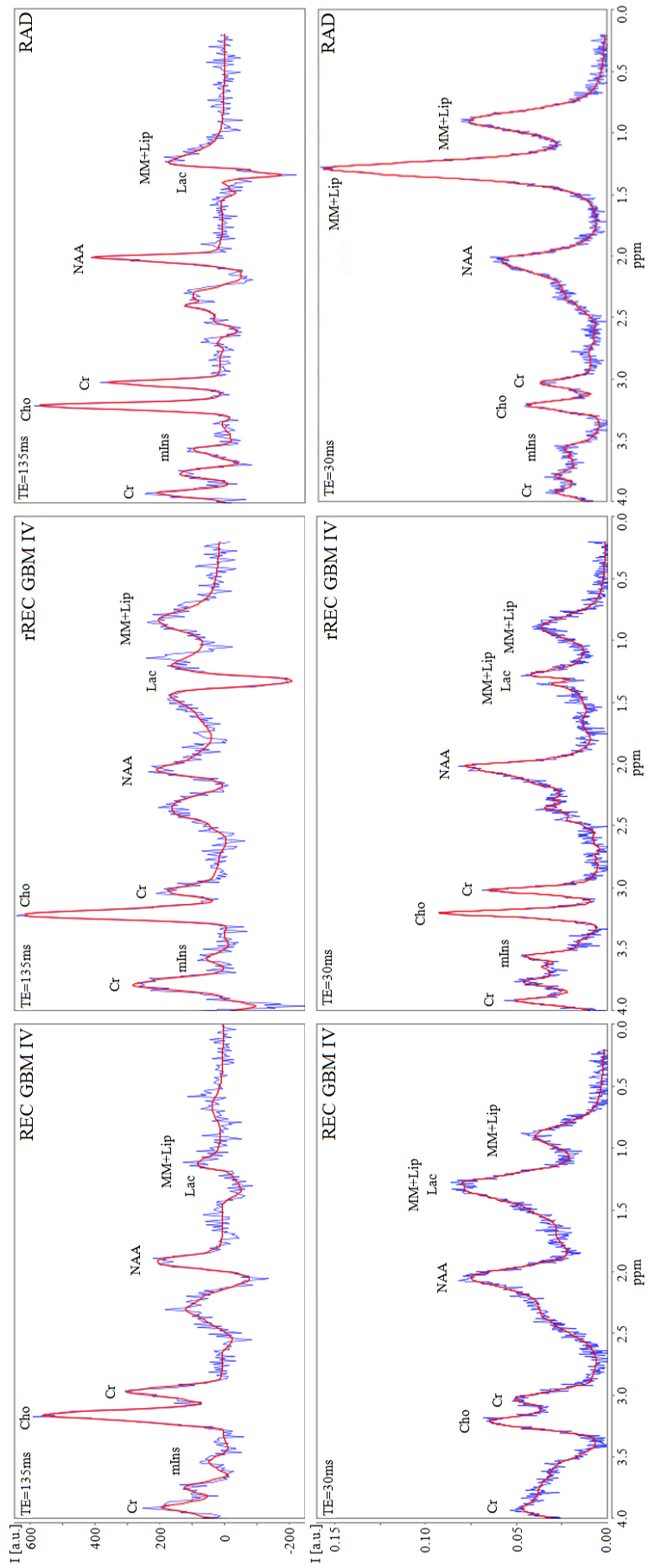
Tab.10 Mediány koncentrací metabolitů ve skupině REC, rREC a RAD měřené 2D MRSI s krátkým TE, mediány intenzit ve skupině REC, rREC a RAD měřené 3D MRSI s dlouhým TE.

TE, Echo Time; REC, aktivní recidiva tumoru; rREC, regresivní recidiva tumoru; RAD, radionekróza. Koncentrace metabolitů měřené s krátkým TE jsou vyjádřené v institucionálních jednotkách (a.u.). Při dlouhém TE nebyla použita reference signálu vody, proto je uvedena intenzita signálů (IS). V závorkách je uveden interval 25.-75. percentilu. * statisticky signifikantní s $p < 0.05$.

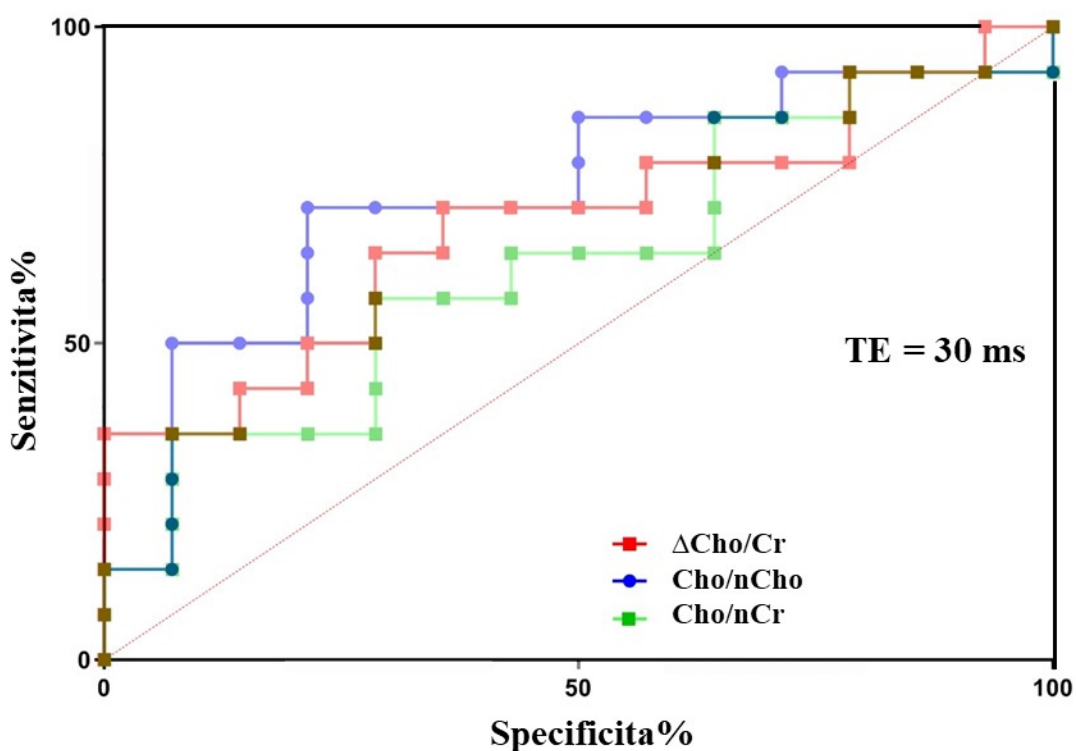
		Cho [a.u.]	Cho/Cr	Lac [a.u.]	Cr [a.u.]	NAA/Cr
2D MRSI TE=30 ms	REC	1.62 (1.48-1.77)	0.46 (0.38-0.49)	1.63 (0.64-4.69)	3.26 (2.86-4.00)	0.74 (0.40-1.19)
	rREC	1.05 (0.85-1.46)	0.46 (0.24-0.53)	2.10 (1.39-3.62)	2.62 (1.94-4.89)	0.73 (0.55-0.1.12)
	RAD	1.29 (0.88-1.69)	0.38 (0.35-0.47)	0.71 (0.24-1.91)	3.55 (2.51-3.88)	0.97 (0.65-1.11)
		IS Cho		IS Lac	IS Cr	
3D MRSI TE=135 ms	REC	7648 (7082-9743)	0.63* (0.56-0.78)	7519 (4908-13269)	12125 (11282-16203)	0.87* (0.56-1.01)
	rREC	7968 (4663-9863)	0.68 (0.43-1.21)	19773 (0-31133)	10930 (9983-11750)	0.71 (0.71-1.25)
	RAD	5499 (3150-8668)	0.52* (0.41-0.56)	10978 (6095-18638)	10197 (8686-14944)	1.24* (1.06-1.48)

Obr. 15 (na následující stránce) Příklad spekter s dlouhým a krátkým TE při aktivní recidivě tumoru, regresivní recidivě tumoru a radiačně indukované lézi.

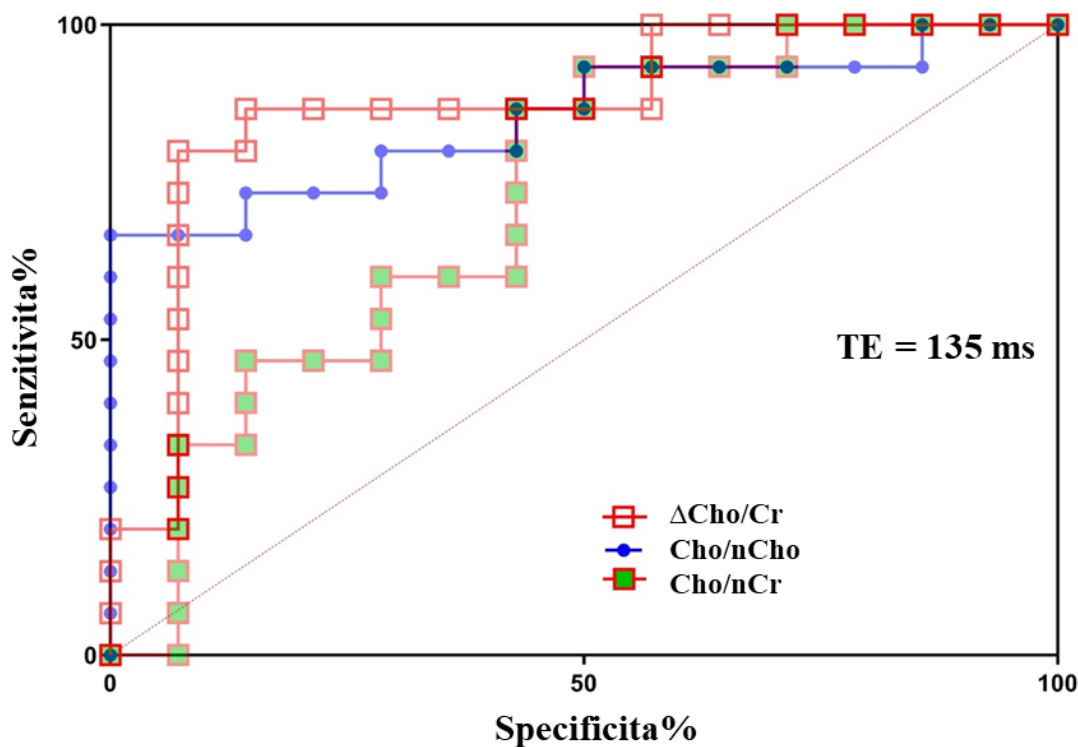
TE, Echo time; REC, aktivní recidiva tumoru; rREC, regresivní recidiva tumoru; RAD, postradiační změny; GBM IV, multifonní glioblastom IV. stupně; I, intenzita v institucionálních jednotkách [a.u.] (TE = 135 ms: bez reference na signál vody, TE = 30 ms: s referencí na signál vody); ppm, části na milion; Cr, celkový kreatin; mIns, myo-inositol; Cho, sloučeniny obsahující cholin; NAA, celkový N-acetylaspartát; Lac, laktát; MM + Lip, makromolekuly a lipidy.



Jelikož statistická analýza u skupin recidiv a radionekróz ukázala významný rozdíl v proporcionálních interhemisferálních hodnotách ΔCho a $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$, byly vypočítány ROC (Receiver Operating Characteristic) křivky založené na těchto MRS parametrech, aby byly identifikovány prahové hodnoty s nejlepší senzitivitou a specificitou v diferenciální diagnostice mezi recidivou a radionekrózou (Obrázky 16 a 17). Nejširší oblast pod ROC křivkami byla získána interhemisferálním porovnáním ΔCho při dlouhém TE (Tabulka 11).



Obr. 16 ROC křivky pro $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ (červená barva), Cho/nCho (modrá barva) a Cho/nCr (zelená barva) při $\text{TE} = 30$ ms, kde $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ je proporcionální rozdíl mezi Cho/Cr v lézi a na kontralaterální straně, Cho je koncentrace Cho v lézi, nCho (respektive nCr) jsou koncentrace Cho (respektive Cr) v kontralaterální hemisféře.



Obr. 17 ROC křivky pro $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ (červená barva), Cho/nCho (modrá barva) a Cho/nCr (zelená barva) při $\text{TE} = 135 \text{ ms}$, kde $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ je proporcionální rozdíl mezi Cho/Cr v lézi a na kontralaterální straně, Cho je intenzita Cho v lézi, nCho (respektive nCr) jsou intenzity Cho (respektive Cr) v kontralaterální hemisféře.

Tab.11 Plochy pod křivkou ROC, odpovídající hodnoty STD (chyba standardní odchylky) a p hodnoty pro proporcionální interhemisferální rozdíly $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ a Cho/nCho a pro prahovou hodnotu Cho/nCr při krátkém a dlouhém TE. nCr je hodnota Cr v kontralaterální hemisféře.

	TE = 135 ms			TE = 30 ms		
	$\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$	Cho/nCho	Cho/nCr	$\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$	Cho/nCho	Cho/nCr
Plocha pod ROC	0.852	0.871	0.724	0.689	0.735	0.6277
STD	0.073	0.072	0.098	0.103	0.097	0.108
p hodnota	0.0012	0.0007	0.0402	0.0891	0.0346	0.2507

Šest testovaných metod ukázalo odlišnou senzitivitu a specificitu (Tabulka 12). Kromě toho se senzitivita a specificita lišily ve stejné metodě v závislosti na TE. M1 dosáhl dobrou senzitivitu (94,1%), ale vykazoval špatnou specificitu (20,0%) při TE = 135 ms. Při TE = 30 ms se senzitivita snížila na 82,4 % s podobnou špatnou specificitou (20,0%). M2 dosáhl 94,1% senzitivity a 50% specificity při TE = 135 ms, 66,7 % a 64,3 % při TE = 30 ms. Při použití M3 byla senzitivita a specificita 93,3 % a 50,0 % při TE = 135 ms, 78,6 % a 35,7 % při TE = 30 ms. Použití M4 umožnilo odlišit recidivu od radionekrózy se senzitivitou 93,3 % a specificitou 78,6 % při TE = 135 ms, respektive 78,6 % a 57,1 % při TE = 30 ms. Metoda M5 dosáhla senzitivity 100 % a specificity 42,9 % při TE = 135 ms a senzitivity 78,6 % a specificity 64,3 % při TE = 30 ms. M6 vykázala senzitivitu 93,9 %, respektive 78,6 % při dlouhém, respektive krátkém TE a specificitu 64,3 %, respektive 50,0 % při dlouhém, respektive krátkém TE.

Tab.12 Senzitivita a specificita diferenciální diagnostiky mezi recidivou tumoru a radiačně indukovanými změnami pro každou metodu.

Aktivní recidivy (REC) a regresivní recidivy (rREC) jsou zahrnuty do jedné skupiny „recidivy tumoru“. Viz text pro podrobný popis metod M1-6.

	TE = 135 ms		TE = 30 ms	
	REC+rREC %		REC+rREC %	
	Senzitivita	Specificita	Senzitivita	Specificita
M1	94.1	20	82.4	20
M2	94.1	50	66.7	64.3
M3	93.3	50	78.6	35.7
M4	93.3	78.6	78.6	57.1
M5	100	42.9	78.6	64.3
M6	93.3	64.3	78.6	50.0

Všechny případy radionekrózy s výjimkou tří byly klasifikovány v aktuální studii na základě radiologického sledování bez histologické verifikace. Podskupina 3 histologicky potvrzených nekróz vykazala podobný interhemisferální metabolický profil (Δ NAA, Δ NAA/Cr, Δ Cr a Δ Cho pokles, Δ Cho/Cr nárůst) jako regresivní recidivy s použitím krátkého TE, s Δ Lac jako jediným odlišným parametrem (radionekróza vs regresivní recidiva: -39 % vs 980 %). Histologicky prokázané radionekrózy při dlouhém TE ukázaly podobný metabolický interhemisferální vzorec jako regresivní recidivy pro Δ NAA, Δ NAA/Cr, Δ Cr a Δ Cho/Cr, avšak lišily se v Δ Cho (radionekróza vs regresivní recidiva: -17 vs 38 %) a v Δ Lac (101 vs -32 %). Protikladné výsledky v Δ Lac měřené různými TE lze připsat překrytí signálů makromolekul a lipidů při krátkém TE, které rezonují ve stejné oblasti spektra.

4.2 Výsledky cerebrovaskulární studie

Všichni pacienti podstoupili 1H MRS mozku a hipokampální MR volumetrii. Kompletní TCD vyšetření s výpočtem BHI pro obě hemisféry bylo provedeno u 19 pacientů. Bilaterální měření nebylo technicky možné u 3 pacientů z důvodu chybějícího okna spánkové kosti. Tito pacienti byli stále zahrnuti do 1H MRS a volumetrické analýzy, aby se maximalizovala statistická síla výsledků MR. Hodnoty BHI, koncentrace hlavních metabolitů a hipokampálního objemu pacientů a zdravých kontrol jsou uvedeny v Tabulce 13.

Statisticky významný rozdíl v hodnotách BHI byl pozorován u pacientů mezi stranou s okluzí ($0,56 \pm 0,48$) a bez okluze ($0,79 \pm 0,54$), $p = 0,037$, stejně jako mezi stranou s okluzí a zdravými dobrovolníky ($0,82 \pm 0,47$), $p = 0,014$. Výsledky BHI v hemisféře bez okluze nevykázaly statisticky významný rozdíl ve srovnání se zdravými kontrolami ($p = 0,810$).

Tab. 13 (na následující stránce) Srovnání mozkové vasoreaktivity, metabolických vlastností a hipokampálního objemu u obou hemisfér pacientů a v kontrolní skupině.

^a Koncentrace NAA, Cho, Cr a Lac jsou vyjádřeny v mmol/kg. Koncentrace Lac nebyly korigovány na relaxační časy

^b Objem hipokampu je vyjádřen v mm³

* $p < 0,05$ vs kontrolní subjekty; † $p < 0,05$ vs strana bez okluze

Nulové hodnoty byly vyloučeny před výpočtem %SD (N = 4 strana s okluzí, N = 5 strana bez okluze, N = 7 zdravých kontrol)

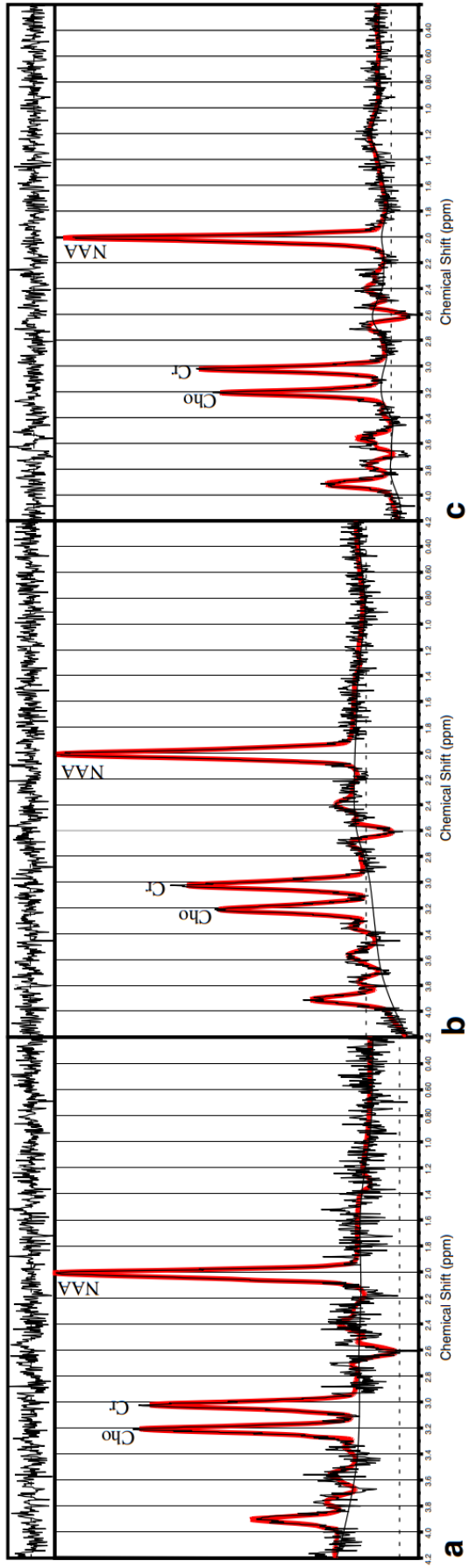
SE je standardní chyba, %SD jsou odhadované standardní odchylky (dolní hranice Cramer-Rao) vyjádřené v procentech odhadovaných koncentrací metabolitu.

	<i>Strana s okluzí</i>			<i>Strana bez okluzie</i>			<i>Zdravé kontroly</i>				
	<i>N</i>	<i>Mean±SE</i>	<i>Min/Max</i>	<i>%SD</i>	<i>Mean±SE</i>	<i>Min/Max</i>	<i>%SD</i>	<i>N</i>	<i>Mean±SE</i>	<i>Min/Max</i>	<i>%SD</i>
BHI	19	0.56±0.48*†	0.08/1.91		0.79±0.54	0.09/2.86		20	0.82±0.47	0.12/2.24	
NAA^a	22	17.2±5.0*	9.3/27.9	1.8	18.1±5.7	9.8/28.3	1.7	20	20.4±2.8	13.4/25.4	1.6
Cho^a	22	3.2±0.6	1.9/4.2	2.9	3.0±0.8	1.4/4.4	2.8	20	3.0±0.4	2.0/3.9	2.7
Cr^a	22	12.1±2.9	3.7/16.6	2.5	12.3±3.9	4.5/18.1	2.4	20	13.5±1.7	9.4/16.2	2.6
Lac^a	22	0.2±0.1	0.0/0.4	61.3 [#]	0.2±0.1	0.0/0.5	54.2 [#]	20	0.1±0.1	0.0/0.4	63.7 [#]
NAA/ Cho	22	5.7±0.9*	3.5/6.9		5.9±0.7*	4.1/6.8		20	6.3±0.6	5.1/7.4	
Vol- HIP^b	22	3287.4	2634/		3285.2	2619/		20	3325	2694/	
		±409.6*	4214		±416.9	4224			±349.8	4279	

Z hlediska koncentrací mozkových metabolitů byly statisticky testovány Cho, Cr, NAA, Lac a jejich poměry. Ve skupině pacientů nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v hodnotách NAA mezi stranou s okluzí ($17,2 \pm 5$ mmol/kg) a bez okluze ($18,1 \pm 5,7$ mmol/kg), $p = 0,493$. Koncentrace NAA u pacientů na straně okluze byla významně nižší než u zdravých dobrovolníků ($20,4 \pm 2,8$ mmol/kg), $p = 0,009$. Rozdíl mezi hladinami NAA u pacientů na straně bez okluze a zdravých dobrovolníků nedosáhl statistické významnosti ($p = 0,08$). Nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v hodnotách NAA/Cho u pacientů na straně okluze ($5,7 \pm 0,9$) a kontralaterálně ($5,9 \pm 0,7$), $p = 0,329$. Byl pozorován statisticky významný rozdíl mezi hodnotami NAA/Cho na straně okluze a u zdravých dobrovolníků ($6,3 \pm 0,6$), $p = 0,005$, a mezi hodnotami NAA/Cho na straně bez okluze a u zdravých dobrovolníků, $p = 0,04$. Lac, Cho, Cr a jejich poměry nevykazovaly statisticky významný rozdíl mezi postiženou a kontralaterální stranou, ani ve srovnání se zdravými kontrolami. Podobně hodnoty NAA/Cr nebo Cho/Cr nevykazovaly statisticky významný rozdíl ve třech skupinách. Na Obrázku 18 jsou uvedeny tři příklady spekter registrovaných na straně okluze ACI, kontralaterálně a u zdravého subjektu.

Obr. 18 (na následující stránce) Typické 1H MR spektrum na straně okluze ACI (a), na kontralaterální straně (b) a u zdravého kontrolního subjektu (c). Je vyobrazen základní výstup z LCModelu (hladká černá čára) a křivka po fitování (červená čára); černá čára v boxech nahoře představuje rozdíl mezi korigovanou čarou a měřeným signálem. Publikováno v Malucelli A. et al., 2021.

Cho, sloučeniny obsahující cholin; Cr, celkový kreatin; NAA, celkový N-acetylaspartát; ppm, části na milion.



Co se týče výsledků poloautomatizované hipokampální volumetrie, osobní variabilita člověka provádějícího měření byla 3 %. Hodnoty v hemisféře ipsilaterální k okluzi byly významně nižší ($3287 \pm 410 \text{ mm}^3$) ve srovnání se zdravými dobrovolníky ($3325 \pm 350 \text{ mm}^3$), $p = 0,049$. Nebyl pozorován žádný významný rozdíl hodnot objemu hipokampu ve skupině pacientů při porovnání ipsilaterální a kontralaterální ($3285 \pm 417 \text{ mm}^3$) strany, $p = 0,954$. Rozdíl mezi objemem hipokampu u pacientů na kontralaterální straně a u zdravých dobrovolníků vykázal trend blížící se statistické významnosti, $p = 0,051$.

Korelační analýza mezi parametry BHI, 1H MRS metabolity a objemem hipokampu neprokázala žádný významný vztah. Nebyl nalezen žádný významný rozdíl mezi podskupinami pacientů (symptomatická versus asymptomatická okluze, pacienti s versus bez stenózy kontralaterální ACI).

5. Diskuze

5.1 Diskuze k neuroonkologickým výsledkům

V náročné a zásadní otázce diferenciální diagnostiky mezi recidivou tumoru a postradiačními změnami může 1H MRS hrát důležitou roli podle více autorů, kteří v řadě odborných prací kvantifikovali změny v metabolitech a jejich poměry spojené s těmito patologickými entitami (Rock J.P. et al., 2002, Rabinov J.D. et al., 2002, Siu A. et al., 2012, Kazda T. et al., 2016, Zeng Q.S. et al., 2007). Použité metabolity a jejich prahové hodnoty se v těchto pracích významně liší a chybí doposud širší konsensus o optimální MRS metodice pro rozlišení mezi recidivou a radionekrózou. V této studii byly korelovány MRI, MRS a histologická data s cílem posoudit a porovnat senzitivitu a specifitu 6 metod hodnocení založených na různých metabolických parametrech. Tyto metody byly odvozeny z dostupné literatury a upraveny tak, aby byly ROC křivky optimalizovány. Metoda M1, respektive M2 porovnávala Cho/Cr, respektive Cho a Lac s intervaly kontrolních dat. Metoda M3 použila proporcionální interhemisferální srovnání Δ Cho/Cr. Metoda M4 použila jako hlavní parametr proporcionální interhemisferální srovnání Δ Cho, které bylo kombinováno s interhemisferálním srovnáním Δ Lac v případě dlouhého TE a s Δ Lac společně s interhemisferálním srovnáním Δ Cho/Cr pro krátký TE. Metoda M5 použila prahové hodnoty pro Cho/nCr a Cho/nCho odvozené od Rock et al. (Rock J.P. et al., 2002). Metoda M6 kombinovala Cho/nCho s Cho/NAA, jak bylo navrženo Dowling et al. a Plotkin et al. (Dowling C. et al., 2001, Plotkin M. et al., 2004).

V této studii se senzitivita a specifita každé metody měnily v závislosti na TE. Tuto skutečnost lze nejspíše vysvětlit změnami T2 relaxačních časů metabolitů v lézi oproti kontrolám či kontralaterální straně. Metabolity v tumorech, které mají větší obsah vody, pomaleji relaxují oproti zdravé tkáni. Dochází tak k výraznějšímu rozdílu v intenzitách signálů metabolitů při použití dlouhého TE. Nejlepších výsledků u dlouhých TE bylo dosaženo metodou M4 (senzitivita 93,3 % a specifita 78,6 %), která měla nejvyšší plochu pod ROC křivkou (Tabulka 11, Obrázek 17). Ačkoli mezi skupinami nebyl nalezen žádný významný rozdíl v samotném Lac, kombinace interhemisferálních poměrů Δ Cho a Δ Lac umožnila při metodě M4 dosáhnout lepší specifity než při použití samotného Δ Cho. Vysoký Lac jako známka nekrózy byl přesnější při použití TE = 135 ms než TE = 30 ms, protože většina makromolekul a

lipidů je při TE = 135 ms již relaxovaná, což zvyšuje specifitu Lac při delším TE. Kombinace Cho/nCho s lipidy a Lac/Cho, jak navrhuje Rock et al., nezlepšila diagnostický výnos. Je třeba zdůraznit, že suboptimální potlačení subkutánních lipidů mohlo mít vliv na výsledky MRS se specifickým ohledem na Lac v případě kortikálních lézí blízko lebky.

Metoda M5, odvozená od studie autorů Rock et al. (Rock J.P. et al., 2002), dosáhla nejlepší senzitivitu a specifitu při krátkém TE (citlivost 78,6 %, specifita 64,3 %). Podle autorů viabilní nádor vykazuje Cho/nCr >1,79 a Lip-Lac/Cho <0,75, čistá radionekróza je charakterizována tím, že Cho/nCr je <0,89 a Cho/nCho je <0,66. Dále Rabinov et al. (Rabinov J.D. et al., 2002) a Seeger et al. (Seeger A. et al., 2013) stanovili prahovou hodnotu Cho/nCr >1,3 a >1,12 respektive jako kritérium pro nádor, což vedlo k senzitivě 85 % a specifitě 50 %. V aktuální studii byly stanoveny tyto prahové hodnoty zhruba o třetinu níže, to jest Cho/nCr >0,35 pro recidivu a Cho/nCr <0,26 pro radionekrózu (M5, Tabulka 6). Volba nižších prahových hodnot byla důsledkem metodického rozdílu mezi aktuální a výše uvedenými studiemi: LCModel, který byl použit pro kvantifikaci metabolitů v této studii, bere v úvahu rozdílný počet vodíků mezi sloučeninami Cho a Cr (3 vs 1); tento rozdíl ostatní autoři nezohlednili, což mělo za následek třikrát větší poměr Cho/Cr v jejich studiích v porovnání s aktuální. Kombinace těchto o třetinu nižších prahových hodnot Cho/nCr s Cho/nCho <0,66 vedla ke špatné specifitě 21,4 %, respektive 36 %, pro TE = 135 ms, respektive 30 ms. Zvýšení prahové hodnoty Cho/nCho na 0,9 mělo za následek vyšší senzitivitu (100 % při TE = 135 ms, 78,6 % při TE = 30 ms) a lepší specifitu (42,9 % při TE = 135 ms, 64,3 % při TE = 30 ms).

Data aktuální studie potvrdila statisticky významný rozdíl v hodnotách Cho/Cr mezi recidivou a radionekrózou, jak již bylo poukazováno jinými autory (Siu A. et al., 2012, Seeger A. et al., 2013). Tento rozdíl byl významný pouze při použití 3D MRSI s TE = 135 ms (Tabulka 10). Statisticky významné rozdíly mezi recidivujícím tumorem a postradiačními změnami byly zjištěny u interhemisferálních poměrů Cho/nCho (Δ Cho, Tabulka 9) a Cho/nCr v souladu se studií od Seeger et al., kde Cho/nCr byl významně vyšší u rekurentního gliomu než u radionekrózy. Mnoho dalších autorů uvádí Cho/Cr jako spolehlivý metabolický parametr pro diferenciální diagnostiku mezi viabilním tumorem a radionekrózou (Ando K. et al., 2004, Lichy M.P. et al., 2004, Dowling C. et al., 2001, Plotkin M. et al., 2004). S různými

prahovými hodnotami v různých studiích se senzitivita Cho/Cr pohybuje mezi 64 a 87 %, specificita mezi 83 a 89 %. V aktuální studii byl poměr Cho/Cr testován při metodice M1 v porovnání se zdravými kontrolami, dále byl použit v metodice M3 a porovnán s kontralaterální hodnotou nCho/nCr. Obě metody M1 i M3 dosáhly dobré senzitivity, v případě dlouhého TE dokonce lepší než ve výše zmíněných studiích, ale specificita byla nízká (M1: 20 %, M3: 35-50 %). Tento špatný výsledek může souviset se společným metabolickým poškozením, které nastalo po onkologické léčbě napříč oběma skupinami recidiv i radionekróz. V aktuální studii, obdobně jako u jiných autorů (Siu A. et al., 2012), byl Cr v obou skupinách nižší ve srovnání s kontrolami, což mělo za následek nízkou prediktivní hodnotu poměru Cho/Cr. Podle aktuální studie by poměr Cho/Cr neměl být považován za vhodný marker recidivy tumoru, pokud je hodnocen samostatně, ale může být užitečný v kombinaci s dalšími parametry. Downling et al. a Plotkin et al. navrhli kombinaci Cho/Cr s Cho/NAA (Downling C. et al., 2001, Plotkin M. et al., 2004). V aktuální studii podobně jako u Cr bylo zjištěno, že NAA významně poklesl u všech typů lézí po radio- a chemoterapii. Kombinace Cho/nCr s Cho/NAA měla proto nízký diagnostický výnos. Lepší senzitivity a specificity bylo dosaženo Cho/nCho v kombinaci s Cho/NAA jako M6. M4 a M6 získaly téměř stejnou citlivost a specificitu. V případě krátkého TE je aplikace M6 snazší, protože kombinuje pouze dva metabolické parametry (Cho/nCho a Cho/NAA).

V souvislosti s metodikou je nutné zmínit několik technických aspektů 2D a 3D MRSI pro metabolické zobrazování mozkových lézí. Zjevnou výhodou 3D MRSI je větší objem mozku, který lze pokrýt při jednom vyšetření. 3D MRSI má však určité nevýhody. Za prvé, samotné 3D MRSI je časově náročné (15 minut), což může být pro neklidné pacienty problematické. Za druhé, MRSI obecně by mělo být měřeno nejen s potlačením vody, ale i bez jejího potlačení (dalších 15 minut), což umožňuje kvantifikaci dat. Pokud není měřeno MRS bez potlačení vody, nelze signál vody použít jako interní standard pro výpočet metabolické koncentrace. Z metodologického hlediska by v tomto případě měly být preferovány poměry metabolitů a spíše metody M1 a M3 než M2, M4, M5 a M6. Data této studie však nepotvrdila toto teoretické očekávání a M4, M5 a M6 ve 3D MRSI dosáhly vyšší diagnostické přesnosti než M1 nebo M3.

V této studii dosáhly M1 a M2 nejhorších výsledků mezi testovanými metodami. Vykazovaly špatnou specificitu, jejich hodnocení bylo časově náročné a vyžadovalo kontrolní data. Nutnost použití kontrolních dat právě komplikuje použitelnost těchto metod v rutinní klinické praxi. V této studii bylo potvrzeno, že pro různé oblasti zdravého mozku jsou charakteristické různé metabolické profily (Tabulka 3) (Wagnerova D. et al., 2012) a musí být použity kontrolní intervaly pro jednotlivé oblasti mozku. Z těchto zejména metodologických a časových důvodů je použití M1 a M2 ve standardním klinickém prostředí diskutabilní. U 4 pacientů byly MR změny signálu zjištěny také v kontralaterální hemisféře, nešlo tedy vyloučit ani případné metabolické změny. V těchto případech jsou metody M3 a M4 inherentně chybné, protože závisí na interhemisferálním srovnání. Přesto M4 a M6 diagnostikovaly tyto léze správně, M3 selhal v 1 případě. Je zřejmé, že v přítomnosti kontralaterálních MRI lézí je třeba výsledky M3 a M4 brát s opatrností a důkladně se doporučuje porovnat metabolický profil pacienta na kontralaterální straně s kontrolními údaji od zdravých subjektů.

Histologicky prokázané aktivní recidivující tumory byly správně diagnostikovány pomocí M5 ve všech případech, M4 a M6 ve všech případech kromě jednoho. Léze číslo 2, histologicky tumor, byla klasifikována jako radionekróza všemi metodami kromě M5. Při pohledu na potenciální faktory vedoucí k chybné diagnóze je v tomto případě třeba poznamenat, že u léze číslo 2 byla MRS provedena 82 dní před operací v okamžiku, kdy byl klinický stav pacienta trvale dobrý. Reoperace byla indikována akutně pro náhlé klinické zhoršení bez možnosti nabrat novou MRS. V době MRS se léze jevila metabolicky neaktivní, pacient dokončoval onkologickou léčbu a byl klinicky stabilní. Jak již bylo zmíněno dříve, potlačující účinek kombinované radio- a chemoterapie mohl podmiňovat schopnost MRS předpovědět reaktivaci nádoru, ke které nakonec došlo o 2 měsíce později.

Nález 4 histologických vzorků klasifikovaných jako regresivní recidiva tumoru si zaslouží zvláštní komentář, protože faktická kombinace viabilního nádoru s nekrotickou tkání je běžným rysem *in vivo* vzorků a ve své podstatě omezuje diagnostickou výtěžnost jakékoli radiologické metody. MRS profil těchto 4 lézí vykazoval nízký energetický metabolismus a nebyl zjištěn statistický rozdíl v hodnotách Cr mezi regresivními recidivami a radionekrózami. Co se týče interhemisferálního srovnání, hodnoty NAA, Cr a NAA/Cr se v regresivních

recidivách lišily od kontralaterálních oblastí výraznějším způsobem než v radionekrózách (Tabulka 9). Na základě těchto jemných metabolických rozdílů M1, M3, M4, M5, M6 při dlouhém TE vyhodnotily regresivní recidivy správně jako recidivu ve 3 ze 4 případů, M2 ve 2 případech. Při použití krátkého TE M1 a M3 správně hodnotily regresivní recidivy jako recidivu ve 3 případech, M4 ve 2 případech, M5 v 1 případě. Použitím M2 a M6 se nepodařilo klasifikovat tyto léze jako recidivu v žádném případě.

Na druhé straně byly 1, respektive 3 radionekrózy nesprávně diagnostikovány jako regresivní recidivy s použitím dlouhého, respektive krátkého TE napříč všemi metodami, přičemž MRS správně ukazoval regresní metabolismus, ale nepodařilo se předpovědět regresi při sledování. Je zajímavé, že Cr byl významně snížen v regresivních recidivách ve srovnání s viabilními recidivami. Pokles Cr ve všech lézích v důsledku onkologické léčby je klíčovým faktorem, který ve své podstatě snižuje specificitu MRS. Pokud je MRS prováděno za probíhající radio- a chemoterapie, očekává se, že energetický metabolismus v lézi bude inhibován současnou onkologickou léčbou a přítomnost viabilních, ale metabolicky potlačených nádorových buněk, lze obtížně detekovat. Když je onkologická léčba pozastavena nebo ukončena, klidové nádorové buňky mají tendenci se znovu aktivovat. Stanovení prahových hodnot metabolitů pro diferenciální diagnostiku mezi recidivujícím tumorem a postradiačními změnami je proto komplikované a vyvolává etickou otázku, zda je lepší dosáhnout vyšší senzitivity na úkor specificity, nebo naopak. S ohledem na klinické důsledky tohoto rozhodovacího procesu je nejspíš vhodnější nastavit parametry tak, aby nejméně skutečných recidiv bylo chybně diagnostikováno jako radionekróza. Proto byly v této studii prahové hodnoty u všech metod vyladěny tak, aby se získala lepší senzitivita na úkor specificity. Data aktuální studie navíc naznačují, že radiologické rozdělení do kategorií recidiva, regresivní recidiva a radionekróza, spíše než dichotomický systém recidiva versus radionekróza, by mohlo blíže odpovídat histologické realitě a lépe odrážet složitost těchto často smíšených lézí.

5.2 Diskuze k cerebrovaskulárním výsledkům

Tato část práce zkoumala skupinu pacientů s jednostrannou okluzí ACI, kteří byli bez příznaků nebo v minulosti utrpěli malou cévní mozkovou příhodu bez reziduálního postižení. Podle očekávání byl BHI významně snížen u pacientů na straně karotické okluze. Tento výsledek potvrdil hemodynamické poškození ipsilaterální hemisféry. Integrace metabolických 1H MRS a anatomických MR dat odhalilo rozšířenější poškození, které postihovalo také kontralaterální stranu.

Hlavní MRS změnou u pacientů s okluzí ACI bylo významné snížení koncentrace NAA na straně okluze ve srovnání se zdravými kontrolami a významné snížení poměru NAA/Cho v obou hemisférách pacientů ve srovnání s kontrolami. Van der Grond et al. uvádí, že poměr NAA/Cho je významně snížen v ipsilaterální hemisféře při okluzi karotidy v důsledku vyšších koncentrací Cho, ale bez rozdílu v hodnotách NAA (van der Grond J. et al., 1995). Tento rozpor s výsledky aktuální studie je nejspíš důsledkem odlišné metodiky: autoři odhadli intenzitu metabolitů čistě na podkladě výšky signálů, zatímco aktuální studie hodnotila kvantitativní výsledky MRS. V této studii byl NAA významně snížen na straně okluze ACI; kontralaterální pokles ve srovnání se zdravými subjekty nedosáhl významnosti, nicméně vykazoval trend ($p = 0,08$). To, že rozdíl v koncentracích NAA mezi stranou bez okluze a kontrolami nedosáhl statistické významnosti, může být výsledkem malého počtu subjektů.

I když koncentrace Cho nebyla významně vyšší u pacientů ve srovnání s kontrolami, poměr NAA/Cho u pacientů byl významně nižší v obou hemisférách. Podle Zhang et al. NAA a poměr NAA/Cho byly významně nižší pouze na ipsilaterální straně k zavřené ACI (Zhang M. et al., 2011). Nesoulad s výsledky aktuální studie může být opět spojen s odlišnou metodikou citované studie. Autoři porovnali a statisticky analyzovali relativní koncentrace metabolitů vypočítané jako poměr ploch pod signálem metabolitu. V aktuální studii byla získána absolutní koncentrace každého metabolitu a ta byla použita pro statistické testování.

Vzhledem k tomu, že NAA je obecně považován za neuroaxonální marker a Cho za marker buněčného obratu nebo poškození membrány, výsledky této studie naznačují přítomnost neuronální dysfunkce v obou hemisférách pacientů s okluzí ACI bez významné aktivní destrukce buněk. Pokles koncentrací NAA bez významného zvýšení Cho je s největší pravděpodobností výsledkem generalizované

mitochondriální dysfunkce v neuronech obou hemisfér, spíše než aktivní ztráty neuronů, protože NAA je syntetizován v mitochondriích (Rutgers D.R. et al., 2000). Tyto výsledky naznačují, že metabolické poškození mozkové tkáně v případech chronické okluze hlavní přívodné mozkové cévy nemusí být omezeno na postiženou stranu, ale může také zahrnovat kontralaterální hemisféru. K tomuto bilaterálnímu postižení může přispět více faktorů. Za prvé jednostranná okluze ACI může způsobit snížení perfuze kontralaterální hemisféry skrz „steal phenomenon“ (Sharma V.K. et al. 2008). V přítomnosti okluze na jedné straně je průtok krve částečně přeměrován ze zdravé hemisféry na postiženou, což mírně snižuje perfuzi hemisféry kontralaterálně k okluzi. I když tato hemodynamická kompenzace nemusí být detekovatelná při TCD vyšetření, může mít vliv na mozkový metabolismus obou hemisfér. Kromě toho může patofyziologický mechanismus vedoucí k ischemické cévní mozkové příhodě u pacientů s ACI okluzí zahrnovat kombinaci makroskopických hemodynamických faktorů, které vedou ke snížení perfuze na postižené straně detekovatelné TCD vyšetřením, a mikroembolických nebo mikroangiopatických faktorů, které ovlivňují obě hemisféry. Použitím této teorie lze předpokládat, že systémové cerebrovaskulární rizikové faktory ve skupině pacientů mohly přispět k poškození kontralaterální hemisféry, jak bylo zmíněno autory Walker et al. (Walker P.M. et al., 2006). Jinými slovy, chronická okluze hlavní mozkové cévy a následné hemodynamické poškození ipsilaterální hemisféry mohou být makroskopickým vyjádřením širšího onemocnění malých cév postihujícího obě hemisféry. Tuto hypotézu dále podporují van der Grond et al., kteří zjistili, že poměr NAA/Cho je v hemisféře kontralaterální k okluzi ACI o něco nižší ve srovnání se zdravými kontrolami (van der Grond J. et al., 1995). V jejich studii tento rozdíl nebyl statisticky významný a to nejspíš kvůli odlišné MRS metodice, jak již bylo výše uvedeno. Saito et al. podobně zjistili v souboru pacientů před a po endarterektomii ACI, že poměr NAA/Cr v kontralaterální mozkové hemisféře byl vyšší u pacientů s pooperačně zlepšenou kognicí než u pacientů s pooperačně nezměněným nebo zhoršeným kognitivním stavem, což naznačuje bilaterální metabolické poškození v přítomnosti unilaterální stenózy ACI korelující s kognitivní funkcí (Saito H. et al., 2013).

Rutgers et al. provedli kvantitativní měření 1H MRS u symptomatických pacientů s okluzí ACI a zjistili významně snížený NAA na straně vaskulární patologie

ve srovnání s kontralaterální hemisférou (Rutgers D.R. et al., 2000). Jak již bylo výše zmíněno, v aktuální studii nebyl nalezen žádný významný rozdíl v koncentraci NAA mezi hemisférami. Tato diskrepance mezi výsledky obou prací může být způsobena rozdílem v kritériích pro zařazení pacientů: Rutgers et al. zařadili symptomatické pacienty po proběhlé cévní mozkové příhodě, ke které došlo 6 měsíců nebo méně před zařazením, zatímco více než třetina pacientů v aktuální studii byla asymptomatická a zbytek utrpěl menší neurologickou příhodu 6 měsíců nebo více před vyšetřením 1H MRS. Lze předpokládat, že krátce po ischemické příhodě mohou převládat výrazné unilaterální metabolické změny na straně ischemického infarktu a zastiňovat jemnější bilaterální poškození. Tyto změny se nakonec mohou stát detekovatelnými v chronické fázi i u asymptomatických pacientů. V souladu s touto teorií Rutgers et al. nezjistili žádný významný interhemisferální rozdíl v koncentraci NAA v podskupině 3 pacientů, kteří měli příznaky ischemie sítnice bez parenchymové léze. V souladu s těmito výsledky nebyly v aktuální studii zjištěny žádné významné rozdíly mezi symptomatickými a asymptomatickými pacienty. Čas zařazení do studie pravděpodobně hrál hlavní roli: symptomatictí pacienti byli zařazení v chronické fázi onemocnění po relativně dlouhé době od symptomatické události, což je z klinického a metabolického hlediska podobný stav jako u asymptomatických pacientů. Velikost souboru jistě limituje hodnotu této podskupinové analýzy.

Měření koncentrace NAA může být klinicky významné kvůli jeho možné asociaci s kognicí (Valenzuela M.J. et al., 2000). Snížení koncentrace NAA bylo pozorováno v souvislosti s poruchou kognitivních funkcí, která je popsána u pacientů se symptomatickou okluzí ACI (Bakker F.C. et al., 2000). Navíc byla prokázána korelace mezi objemem hipokampu a kognitivními funkcemi (Lojkowska W. et al., 2011, Persson J. et al., 2012) souvisejícími s chronickou hypoperfuzí (Cechetti F. et al., 2012). V souladu s těmito studiemi bylo v aktuální práci nalezeno statisticky významné snížení objemu hipokampu u pacientů s okluzí ACI ve srovnání se zdravými kontrolami. Podobně jako u NAA byl objem hipokampu nižší v obou hemisférách bez významných rozdílů mezi postiženou a kontralaterální stranou. Rozdíl mezi objemem hipokampu na kontralaterální straně od okluze a zdravými dobrovolníky se přiblížil statistické významnosti ($p = 0,051$). V souladu s výsledky aktuální studie Avelar et al. zjistili významnou atrofii šedé a bílé hmoty obou hemisfér u kohorty 25 pacientů s těžkou karotickou stenózou/okluzí ve srovnání s kontrolami

(Avelar W.M. et al., 2015). Tyto bilaterální anatomické změny spolu s dříve popsanými metabolickými změnami naznačují, že alterovaná hemodynamika na postižené straně nemůže zcela vysvětlit komplexní patologické jevy vyskytující se u pacientů s chronickou okluzí ACI.

V aktuální studii nebyla nalezena žádná korelace mezi koncentrací NAA a cerebrovaskulární reaktivitou vyjádřenou BHI. Tento vztah byl dříve zkoumán jinými autory. Rutgers et al. nenašli významnou souvislost mezi hodnotami NAA a cerebrovaskulární rezervní kapacitou otestovanou inhalační zkouškou CO₂ (Rutgers D.R. et al., 2003). Lythgoe et al. také nenašli žádnou korelaci mezi těmito faktory (Lythgoe D. et al., 2001). Tsuchida et al. našli pozitivní korelaci mezi regionálním CBF měřeným pomocí PET a poměrem NAA/Cr (Tsuchida C. et al., 2000). Jejich závěry se liší od výsledků aktuální studie nejspíš proto, že autoři zkoumali pacienty v časném stadiu ischemické choroby do 12 týdnů od nástupu symptomů. V těchto případech se očekává, že metabolické vlastnosti budou významněji korelovat s CBF. V aktuální studii nebyla nalezena žádná korelace mezi mozkovou hemodynamikou a koncentrací NAA v chronické fázi okluze ACI. Toto naznačuje přítomnost patologického mechanismu působícího globálně na celou mozkovou tkáň, spíše než jednostranně jen na stranu okluze.

Ze čtyř mozkových metabolitů zahrnutých v této analýze byl odhad koncentrace Lac určitě z technického hlediska nejnáročnější. Zatímco interference s Lip rezonujícími na 1,3 ppm a alaninem byla minimalizována, artefakty chemického posunu zůstaly problémem a komplikovaly detekci signálu Lac. Dále jsou absolutní koncentrace Lac v mozkové tkáni nižší než koncentrace NAA, Cho a Cr. Z těchto důvodů jsou chyby výpočtu Lac v této studii významně vyšší než u jiných metabolitů a interpretaci výsledků kvantifikace Lac je třeba brát s rezervou. Každopádně v této studii pacienti s okluzí ACI neukázali žádnou významnou změnu v koncentracích Lac v bílé hmotě ipsilaterální hemisféry ve srovnání s asymptomatickou stranou a kontrolními subjekty. Bylo prokázáno, že koncentrace Lac má tendenci stoupat v bílé hmotě pacientů po ischemické příhodě (Giroud M. et al., 1999, van der Grond J. et al., 1995, Munoz Maniega S. et al., 1999). Společným rysem těchto prací je, že pacienti byli zařazeni do studie brzo po mozkové příhodě, během které se v ischemické oblasti očekává akutní přechod z oxidativního metabolismu na anaerobní glykolýzu. V této fázi je pravděpodobné, že se zvýší mozkový Lac, zatímco v chroničtějším stádiu se očekává

pokles v důsledku normalizace CBF a rychlého vymývání vyšších hladin přebytečných sloučenin. Existuje jen málo publikací prokazujících přítomnost Lac i v chronické fázi mozkové hypoperfuze. Mezi příklady patří Zhang et al., kteří uvádějí výrazný signál Lac u téměř 20 % pacientů s chronickou stenózou nebo okluzí ACI (Zhang M. et al., 2011), nebo Bakker et al., kteří uvádějí až 35 % (Bakker F.C. et al., 2003). V aktuální studii nebyl nalezen významný rozdíl v koncentracích Lac mezi pacienty a zdravými kontrolami. Tato nesrovnalost může být způsobena odlišným metodickým přístupem: v obou citovaných dokumentech autoři zaregistrovali přítomnost nebo nepřítomnost obráceného dvojitého signálu na 1,33 ppm s poměrem signálu k šumu vyšším než dvě, aniž by vypočítali absolutní koncentrace Lac. V aktuální studii byla provedena 1H MRS kvantitativní měření absolutních koncentrací Lac a tyto koncentrace byly použity pro statistickou analýzu.

Tato studie má bezpochybně určitá omezení. Za prvé, relativně malý počet pacientů ve své podstatě oslabuje sílu statistické analýzy. Za druhé, přibližně jedna třetina pacientů v této kohortě vykazovala určitý stupeň karotické stenózy (pod 50 %) na kontralaterální straně. V klinickém scénáři je karotická stenóza pod 50 % považována za irelevantní, protože není spojena s vyšším rizikem mozkové mrtvice (Fine-Edelstein J.S. et al., 1994). Ve výzkumném experimentu, kde byly detekovány jemné metabolické a anatomické změny pomocí vysoce citlivého spektroskopického a volumetrického MR protokolu, tento rozdíl mezi pacienty a kontrolní skupinou, kde hemisféra zvolená pro analýzu byla ipsilaterální vůči krční tepně bez jakéhokoli stupně stenózy, mohl mít vliv na výsledky. Dále, chronické hemodynamické poškození mozkové tkáně u pacientů mohlo způsobit změny obsahu vody, relaxační doby T1 nebo T2 metabolitů nebo vody, což mohlo potenciálně ovlivnit kvantifikaci metabolitů. A hlavně, pozorovací charakter studie bez prospektivního sledování neumožňuje vyvodit žádné závěry ohledně prognostické hodnoty zkoumaných proměnných. K identifikaci potenciálně rizikovějších pacientů a přizpůsobení preventivních a terapeutických intervencí jsou jistě žádoucí další prospektivní studie zkoumající vztahy mezi alterovanou hemodynamikou mozku, metabolickými změnami, anatomickými rysy a rizikem cévní mozkové příhody.

6. Závěr

V podoboru neuroonkologie tato práce potvrzuje použitelnost a účinnost MRS jako neinvazivního radiologického nástroje v diferenciální diagnostice mezi recidivou tumoru a postradiačními změnami u pacientů s nádory gliální řady po resekci a kombinované radio- a chemoterapii. Na specifické výzkumné otázky lze v závěru práce odpovědět takto:

1. Nejvhodnější metodou 1H MRS v diferenciální diagnostice mezi recidivou tumoru a radionekrózou se jeví stanovení procentuálních rozdílů metabolitů mezi lézí a odpovídající kontralaterální oblastí (M4, M5 nebo M6). Nejlepší výsledky byly dosaženy metodou M4, kde Cho, Lac a Cho/Cr byly porovnány s kontralaterální stranou. Při použití této metody s TE = 135 ms byla senzitivita 93,3 % a specifická 78,6 %.
2. TE významně ovlivňuje senzitivitu a specifitu 1H MRS v diferenciální diagnostice mezi recidivou a radionekrózou napříč všemi metodami. Například statisticky signifikantní rozdíl v Cho/Cr mezi recidivujícím tumorem a postradiačními změnami byl nalezen pouze u dlouhých TE, ale ne u krátkých TE. Tuto skutečnost lze vysvětlit změnami T2 relaxačních časů metabolitů v lézi oproti kontrolám či kontralaterální straně.
3. Snížení Cr bylo zjištěno u všech lézí ve srovnání s kontralaterální oblastí jako známka potlačeného metabolismu. Skupina pacientů s regresivní recidivou tumoru vykazala statisticky významné snížení interhemisferálního rozdílu Cr ve srovnání se skupinou pacientů s aktivní recidivou tumoru. Skupina radionekróz a regresivních rekurencí tumoru se však nelišila. Cho/Cr byl vyšší ve všech lézích s následnou špatnou specificitou metod zakládaných pouze na tomto poměru (M1 a M3).
4. Rozlišování regresivní recidivy jako samostatné histologické a radiologické entity je žádoucí ve snaze pochopit složitost mechanismů působících nové kontrastně se sytící léze během radiologického sledování neuroonkologických pacientů.

V neurovaskulárním podoboru tato práce ukazuje, že je 1H MRS vhodným nástrojem odhalení subklinických metabolických změn v mozkové tkáni při chronické unilaterální okluzi ACI. Na specifické výzkumné otázky lze v závěru práce odpovědět takto:

1. Ve skupině pacientů dochází k významné bilaterální redukci poměru NAA/Cho v bílé hmotě v porovnání s kontrolami. NAA je významně snížena na ipsilaterální straně okluze v porovnání se zdravými kontrolami. Lac, Cho, Cr a jejich poměry nevykazují statisticky významný rozdíl mezi postiženou a kontralaterální stranou, ani ve srovnání se zdravými kontrolami.
2. Významně nižší poměr NAA/Cho v obou hemisférách pacientů koreluje s významnou bilaterální hypotrofií hipokampu, ale nekoreluje s hemodynamickou alterací detekovatelnou na TCD, která ukazuje významné postižení jen na straně okluze. Samotná alterace hemodynamiky podle TCD nemůže vysvětlit metabolické a anatomické změny vyskytující se v obou hemisférách pacientů s jednostrannou okluzí ACI.

7. Souhrn

Protonová MR spektroskopie je neinvazivní metoda měření *in vivo* koncentrací několika intracerebrálních metabolitů za účelem zkoumání metabolických změn souvisejících s různými mozkovými chorobami. Cílem této práce bylo otestovat použitelnost a spolehlivost MRS ve dvou specifických oblastech lékařské praxe: neuroonkologická a cerebrovaskulární.

Neuroonkologická studie korelovala multivoxel protonovou MR spektroskopii na 3T s histopatologickými vzorky, klinickým stavem a radiologickým sledováním u skupiny pacientů s novými kontrastně se sytícími lézemi po radio- a chemoterapii pro vysokostupňový gliom. Více metod metabolické analýzy bylo testováno, aby se zjistilo, která z nich nejlépe rozlišuje recidivu tumoru od radionekrózy u jedné prospektivní kohorty pacientů. Do studie bylo zahrnuto 26 pacientů s celkem 37 nově kontrastně se sytícími lézemi. Konečná diagnóza byla provedena na podkladě histologie či radiologického sledování. Nejlépe fungovaly metody založené na srovnání metabolitů mezi hemisférami, kde byly pro diagnostiku použity metabolické rozdíly mezi lézí a odpovídající kontralaterální oblastí (M4, M5 nebo M6). Ačkoli byl při použití dlouhého TE nalezen významný rozdíl v Cho/Cr mezi recidivami a radionekrózami ($p < 0,05$), tento poměr sám o sobě nebyl dostatečně vhodným parametrem pro diferenciální diagnostiku, ale fungoval dobře v kombinaci s Cho a Lac (metoda M4, senzitivita 93,3 % a specificita 78,6 % při TE = 135 ms). Snížení Cr bylo zjištěno ve všech lézích ve srovnání s kontralaterální oblastí, což mělo za následek zvýšení Cho/Cr ve všech skupinách pacientů a následně špatnou specificitu metod zakládaných pouze na tomto poměru (M1 a M3). Podle očekávání bylo zjištěno, že probíhající radio- a chemoterapie má inhibiční účinek na mozkový a nádorový metabolismus, což činí diferenciální diagnostiku obtížnější. Z tohoto důvodu by měla být diagnóza radionekrózy během probíhající onkologické léčby potvrzena pozdějším vyšetřením po ukončení radio- a chemoterapie. Na základě výsledků této studie se rozlišení regresivní recidivy jako samostatné histologické a radiologické entity jeví jako žádoucí krok směrem k lepšímu rozřídění komplexních histopatologických a radiologických nálezů při sledování neuroonkologických pacientů.

Metabolické změny v bílé a šedé hmotě hrají důležitou roli v kaskádě událostí vedoucích k cévní mozkové příhodě. Možnost neinvazivního detekování těchto změn jistě může pomoci pochopit složité patofyziologické mechanismy, které jsou základem tohoto onemocnění, a potenciálně identifikovat vysoce rizikové pacienty pro budoucí cévní mozkovou příhodu. Cílem cerebrovaskulární studie bylo vyhodnotit MR spektroskopické změny vyskytující se u pacientů s jednostrannou okluzí arteria carotis interna a korelovat tyto metabolické změny s hemodynamickými a anatomickými údaji. Do studie bylo zahrnuto 22 pacientů s jednostrannou okluzí vnitřní krkavice a 20 zdravých subjektů. V obou skupinách byla provedena MR spektroskopie centra semiovale, poloautomatická hipokampální volumetrie v T1 vážených obrazech a transkraniální dopplerovské vyšetření s výpočtem průměrného indexu zadržetí dechu (Breath Holding Index, BHI). Metabolická, anatomická a hemodynamická data byla porovnána mezi oběma skupinami. Poměr NAA/Cho byl významně nižší v obou hemisférách pacientů ve srovnání s kontrolami ($p = 0,005$ pro stranu s okluzí, $p = 0,04$ pro stranu bez okluze). Objem hipokampu byl významně nižší u pacientů na obou hemisférách ve srovnání se zdravými jedinci ($p = 0,049$). Statisticky významný rozdíl v hodnotách BHI byl pozorován u pacientů mezi stranou s okluzí a bez okluze ($p = 0,037$) a též mezi stranou s okluzí a zdravými dobrovolníky ($p = 0,014$). Tato studie prokázala, že pacienti s jednostrannou okluzí vnitřní krkavice vykazují nižší poměr NAA/Cho v bílé hmotě obou hemisfér a mají oboustrannou atrofii hipokampu. Samotná jednostranná alterace hemodynamiky nemůže tyto změny vysvětlit, ale musí přitom hrát roli i jiné, prozatím nejasné bilaterální patologické mechanismy. MR spektroskopie je proveditelný a spolehlivý nástroj pro vyšetření pacientů s cerebrovaskulárním onemocněním a potenciální identifikaci rizikových faktorů pro budoucí mozkovou příhodu.

8. Summary

Proton MR spectroscopy is a non-invasive method of measuring *in vivo* concentrations of several intracerebral metabolites in order to investigate metabolic alterations associated with various cerebral diseases. The aim of this thesis was to test the applicability and reliability of MRS in two specific fields of medical praxis: neurooncologic and cerebrovascular.

The neurooncologic study correlated multivoxel proton MR spectroscopy at 3T with histopathologic specimens, clinical and radiological follow-up in a group of patients with new contrast enhancing lesions after radio- and chemotherapy for high-grade glioma. Multiple methods for metabolic analysis were applied to test which one performed best in discriminating recurrent tumor from radionecrosis in a single prospective cohort of patients. Twenty-six patients for a total of 37 new enhancing lesions were included in the study. The final diagnosis was assessed by histology or radiological follow-up. The best diagnostic yield was achieved by methods based on interhemispherical comparison, where the metabolic differences between the lesion and the contralateral corresponding region were used for diagnosis (M4, M5 or M6). Although a significant difference in Cho/Cr between tumor recurrence and radiation changes was found when using long TE ($p < 0.05$), this ratio by itself was not an appropriate parameter for differential diagnosis but performed well in combination with Cho and Lac (M4 method, sensitivity 93.3% and specificity 78.6% at TE = 135 ms). A decrease in Cr was found in all lesions compared to contralateral region, resulting in an increase in Cho/Cr in all patient groups and consequent poor specificity of methods using this ratio alone (M1 and M3). Ongoing oncologic treatment, as expected, was found to have an inhibiting effect on cerebral and tumoral metabolism, making differential diagnosis trickier. Indeed, a diagnosis of radiation changes assessed during ongoing radio- and chemotherapy should be confirmed when the oncologic treatment is terminated. Based on these results the distinction of regressive recurrence as a separate histologic and radiologic entity seems to be helpful in the effort to discern the complexity of events leading to new enhancing lesions in the follow-up of neurooncologic patients.

Since metabolic changes in white and grey matter play an important role in the cascade of events leading to stroke, the option of non-invasively detecting these changes may

help understand the complex pathophysiologic mechanisms underlying this disease and potentially identify high-risk patients for future stroke. The aim of the cerebrovascular study was to evaluate MR spectroscopic brain changes occurring in patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery and correlate these metabolic alterations with cerebral hemodynamic and anatomic changes. Twenty-two patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery and twenty age and sex matched healthy subjects were included in the study. Single-Voxel spectroscopy of the centrum semiovale, semi-automated hippocampal volumetry in T1-weighted scans and transcranial doppler examination with calculation of breath holding index (BHI) were performed in both groups. Metabolic, anatomic, and hemodynamic features were compared between the two groups. The NAA/Cho ratio was significantly lower in both hemispheres of enrolled patients compared to controls ($p=0.005$ for the side with occlusion, $p=0.04$ for the side without occlusion). The hippocampus volume was significantly reduced bilaterally in patients compared to healthy subjects ($p=0.049$). A statistically significant difference in BHI values was observed between the side with occlusion and without occlusion ($p=0.037$) of the patients, as well as between BHI values of the side with occlusion and healthy volunteers ($p=0.014$). This study showed that patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery have reduced NAA/Cho ratio in the white matter of both hemispheres and have bilateral atrophy of hippocampus. The unilateral alteration of hemodynamics alone cannot explain these changes, but subtler bilateral pathologic mechanisms must play a role. MR spectroscopy is a feasible and reliable tool to examine patients with cerebrovascular disease and potentially identify risk factors for future stroke.

9. Literatura

1. Alderson L, Fetell MR, Sisti M, Hochberg F, Cohen M, Louis DN (1996) Sentinel lesions of primary CNS lymphoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 60:102–105.
2. Alexiou GA, Tsiouris S, Kyritsis AP, Voulgaris S, Argyropoulou MI, Fotopoulos AD (2009) Glioma recurrence versus radiation necrosis: accuracy of current imaging modalities. *J Neurooncol* 95:1–11.
3. Alger JR, Frank JA, Bizzi A, Fulham MJ, DeSouza BX, Duhaney MO, Incoe SW, Black JL, van Zijl PC, Moonen CT (1990) Metabolism of human gliomas: assessment with H-1 MR spectroscopy and F-18 fluorodeoxyglucose PET. *Radiology* 177:633–641.
4. Ando K, Ishikura R, Nagami Y, Morikawa T, Takada Y, Ikeda J, Nakao N, Matsumoto T, Arita N (2004) [Usefulness of Cho/Cr ratio in proton MR spectroscopy for differentiating residual/recurrent glioma from non-neoplastic lesions]. *Nihon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 64:121–126.
5. Avelar WM, D'Abreu A, Coan AC, Lima FO, Guimarães R, Yassuda CL, Oliveira GP, Guillaumon AT, Filho AA, Min LL, Cendes F (2015) Asymptomatic Carotid Stenosis is Associated with Gray and White Matter Damage. *International Journal of Stroke* 10:1197–1203.
6. Bak M, Rasmussen JT, Nielsen NC (2000) SIMPSON: a general simulation program for solid-state NMR spectroscopy. *J Magn Reson* 147:296–330.
7. Bakker FC, Klijn CJ, Jennekens-Schinkel A, Kappelle LJ (2000) Cognitive disorders in patients with occlusive disease of the carotid artery: a systematic review of the literature. *J Neurol* 247:669–676.
8. Bakker FC, Klijn CJM, Jennekens-Schinkel A, van der Tweel I, van der Grond J, van Huffelen AC, Tulleken CAF, Kappelle LJ (2003) Cognitive impairment is related to cerebral lactate in patients with carotid artery occlusion and ipsilateral transient ischemic attacks. *Stroke* 34:1419–1424.
9. Bartoš R, Ospalík D, Malucelli A, Vachata P, Sameš M, Kazda T, Šmejkalová-Musilová D, Třebický F (2019) Retrospective autoevaluation of the results of intrinsic brain tumor surgeries – consecutive cohort of 270 surgeries within one neurosurgical

center of the NOS ČOS (Neurooncological section of the Czech Oncology Society) from 2015–2017. *Cesk Slov Neurol N* 82/115:401–409.

10. Baslow MH (2003) N-acetylaspartate in the vertebrate brain: metabolism and function. *Neurochem Res* 28:941–953.

11. Bivard A, Yassi N, Krishnamurthy V, Lin L, Levi C, Spratt NJ, Mittef F, Davis S, Parsons M (2016) A comprehensive analysis of metabolic changes in the salvaged penumbra. *Neuroradiology* 58:409–415.

12. Bizzi A, Movsas B, Tedeschi G, Phillips CL, Okunieff P, Alger JR, Di Chiro G (1995) Response of non-Hodgkin lymphoma to radiation therapy: early and long-term assessment with H-1 MR spectroscopic imaging. *Radiology* 194:271–276.

13. Bulakbasi N, Kocaoglu M, Ors F, Tayfun C, Uçöz T (2003) Combination of single-voxel proton MR spectroscopy and apparent diffusion coefficient calculation in the evaluation of common brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol* 24:225–233.

14. Castillo M, Kwock L (1998) Proton MR spectroscopy of common brain tumors. *Neuroimaging Clin N Am* 8:733–752.

15. Cechetti F, Pagnussat AS, Worm PV, Elsner VR, Ben J, da Costa MS, Mestriner R, Weis SN, Netto CA (2012) Chronic brain hypoperfusion causes early glial activation and neuronal death, and subsequent long-term memory impairment. *Brain Res Bull* 87:109–116.

16. Croteau D, Scarpace L, Hearshen D, Gutierrez J, Fisher JL, Rock JP, Mikkelsen T (2001) Correlation between magnetic resonance spectroscopy imaging and image-guided biopsies: semiquantitative and qualitative histopathological analyses of patients with untreated glioma. *Neurosurgery* 49:823–829.

17. de Graaf RA (1998) *In vivo NMR spectroscopy: Principles and techniques*. John Wiley & Sons, Chichester

18. De Stefano N, Matthews PM, Arnold DL (1995) Reversible decreases in N-acetylaspartate after acute brain injury. *Magn Reson Med* 34:721–727.

19. Derdeyn CP, Yundt KD, Videen TO, Carpenter DA, Grubb RL, Powers WJ (1998) Increased oxygen extraction fraction is associated with prior ischemic events in patients with carotid occlusion. *Stroke* 29:754–758.

20. Di Costanzo A, Scarabino T, Trojsi F, Popolizio T, Catapano D, Giannatempo GM, Bonavita S, Portaluri M, Tosetti M, d'Angelo VA, Salvolini U, Tedeschi G (2008) Proton MR spectroscopy of cerebral gliomas at 3 T: spatial heterogeneity, and tumour grade and extent. *Eur Radiol* 18:1727–1735.
21. Dowling C, Bollen AW, Noworolski SM, McDermott MW, Barbaro NM, Day MR, Henry RG, Chang SM, Dillon WP, Nelson SJ, Vigneron DB (2001) Preoperative proton MR spectroscopic imaging of brain tumors: correlation with histopathologic analysis of resection specimens. *AJNR Am J Neuroradiol* 22:604–612.
22. Duyn JH, Gillen J, Sobering G, van Zijl PC, Moonen CT (1993) Multisection proton MR spectroscopic imaging of the brain. *Radiology* 188:277–282.
23. Ergin A, Muntner P, Sherwin R, He J (2004) Secular trends in cardiovascular disease mortality, incidence, and case fatality rates in adults in the United States. *Am J Med* 117:219–227.
24. Ethofer T, Mader I, Seeger U, Helms G, Erb M, Grodd W, Ludolph A, Klose U (2003) Comparison of longitudinal metabolite relaxation times in different regions of the human brain at 1.5 and 3 Tesla. *Magn Reson Med* 50:1296–1301.
25. Fan G, Sun B, Wu Z, Guo Q, Guo Y (2004) In vivo single-voxel proton MR spectroscopy in the differentiation of high-grade gliomas and solitary metastases. *Clin Radiol* 59:77–85.
26. Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N, Rosen B, Dale AM (2002) Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 33:341–355.
27. Frahm J, Bruhn H, Gyngell ML, Merboldt KD, Hänicke W, Sauter R (1989) Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: initial applications to human brain in vivo. *Magn Reson Med* 9:79–93.
28. Friston KJ (2007) *Statistical parametric mapping: the analysis of functional brain images*, 1st ed. Elsevier/Academic Press, Amsterdam ; Boston

29. Gajewicz W, Papierz W, Szymczak W, Goraj B (2003) The use of proton MRS in the differential diagnosis of brain tumors and tumor-like processes. *Med Sci Monit* 9:MT97-105.
30. Gasparovic C, Song T, Devier D, Bockholt HJ, Caprihan A, Mullins PG, Posse S, Jung RE, Morrison LA (2006) Use of tissue water as a concentration reference for proton spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 55:1219–1226.
31. Giroud M, Walker P, Guy F, Lemesle M, Lalande A, Baudouin N, Martin D, Couveur G, Brunotte F (1999) Cerebral metabolism after transient ischemic attack. A ¹H MR spectroscopy study. *Neurol Res* 21:563–565.
32. Gonen O, Viswanathan AK, Catalaa I, Babb J, Udupa J, Grossman RI (1998) Total brain N-acetylaspartate concentration in normal, age-grouped females: quantitation with non-echo proton NMR spectroscopy. *Magn Reson Med* 40:684–689.
33. Graves EE, Nelson SJ, Vigneron DB, Chin C, Verhey L, McDermott M, Larson D, Sneed PK, Chang S, Prados MD, Lamborn K, Dillon WP (2000) A preliminary study of the prognostic value of proton magnetic resonance spectroscopic imaging in gamma knife radiosurgery of recurrent malignant gliomas. *Neurosurgery* 46:319–326; discussion 326-328.
34. Grimm SA, Chamberlain MC (2016) Anaplastic astrocytoma. *CNS Oncol* 5:145–157.
35. Grubb RL, Derdeyn CP, Fritsch SM, Carpenter DA, Yundt KD, Videen TO, Spitznagel EL, Powers WJ (1998) Importance of hemodynamic factors in the prognosis of symptomatic carotid occlusion. *JAMA* 280:1055–1060.
36. Guillevin R, Manuel C, Duffau H, Kujas M, Capelle L, Aubert A, Taillibert S, Idbah A, Pallud J, Demarco G, Costalat R, Hoang-Xuan K, Chiras J, Vallée J-N (2008) Proton magnetic resonance spectroscopy predicts proliferative activity in diffuse low-grade gliomas. *J Neurooncol* 87:181–187.
37. Hajek M, Dezortova M (2008) Introduction to clinical in vivo MR spectroscopy. *Eur J Radiol* 67:185–193.

38. Harting I, Hartmann M, Jost G, Sommer C, Ahmadi R, Heiland S, Sartor K (2003) Differentiating primary central nervous system lymphoma from glioma in humans using localised proton magnetic resonance spectroscopy. *Neurosci Lett* 342:163–166.
39. Hoover JM, Nwojo M, Puffer R, Mandrekar J, Meyer FB, Parney IF (2013) Surgical outcomes in recurrent glioma: clinical article. *J Neurosurg* 118:1224–1231.
40. Howe FA, Barton SJ, Cudlip SA, Stubbs M, Saunders DE, Murphy M, Wilkins P, Opstad KS, Doyle VL, McLean MA, Bell BA, Griffiths JR (2003) Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med* 49:223–232.
41. Chernov MF, Muragaki Y, Ochiai T, Taira T, Ono Y, Usukura M, Maruyama T, Nakaya K, Nakamura R, Iseki H, Kubo O, Hori T, Takakura K (2009) Spectroscopy-supported frame-based image-guided stereotactic biopsy of parenchymal brain lesions: comparative evaluation of diagnostic yield and diagnostic accuracy. *Clin Neurol Neurosurg* 111:527–535.
42. Choi C, Raisanen JM, Ganji SK, Zhang S, McNeil SS, An Z, Madan A, Hatanpaa KJ, Vemireddy V, Sheppard CA, Oliver D, Hulsey KM, Tiwari V, Mashimo T, Battiste J, Barnett S, Madden CJ, Patel TR, Pan E, Malloy CR, Mickey BE, Bachoo RM, Maher EA (2016) Prospective Longitudinal Analysis of 2-Hydroxyglutarate Magnetic Resonance Spectroscopy Identifies Broad Clinical Utility for the Management of Patients With IDH -Mutant Glioma. *JCO* 34:4030–4039.
43. Isobe T, Matsumura A, Anno I, Kawamura H, Shibata Y, Muraishi H, Minami M (2007) Lactate quantification by proton magnetic resonance spectroscopy using a clinical MRI machine: a basic study. *Australas Radiol* 51:330–333.
44. Isobe T, Matsumura A, Anno I, Yoshizawa T, Nagatomo Y, Itai Y, Nose T (2002) Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magn Reson Imaging* 20:343–349.
45. Jiru F, Skoch A, Klose U, Grodd W, Hajek M (2006) Error images for spectroscopic imaging by LCModel using Cramer–Rao bounds. *Magn Reson Mater Phy* 19:1–14.
46. Jiru F (2006) Doctoral thesis. Metody spektroskopického zobrazování v klinické praxi a experimentu.

47. Jiru F (2008) Introduction to post-processing techniques. *European Journal of Radiology* 67:202–217.
48. Jiru F, Skoch A, Wagnerova D, Dezortova M, Hajek M (2013) jSIPRO – Analysis tool for magnetic resonance spectroscopic imaging. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 112:173–188.
49. Kamada K, Houkin K, Abe H, Sawamura Y, Kashiwaba T (1997) Differentiation of cerebral radiation necrosis from tumor recurrence by proton magnetic resonance spectroscopy. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 37:250–256.
50. Kazda T, Bulik M, Pospisil P, Lakomy R, Smrcka M, Slampa P, Jancalek R (2016) Advanced MRI increases the diagnostic accuracy of recurrent glioblastoma: Single institution thresholds and validation of MR spectroscopy and diffusion weighted MR imaging. *NeuroImage: Clinical* 11:316–321.
51. Klijn CJM, Kappelle LJ, Tulleken CA, van Gijn J (1997) Symptomatic carotid artery occlusion. A reappraisal of hemodynamic factors. *Stroke* 28:2084–2093.
52. Klijn CJM, Kappelle LJ, van der Grond J, Algra A, Tulleken CAF, van Gijn J (2000) Magnetic Resonance Techniques for the Identification of Patients With Symptomatic Carotid Artery Occlusion at High Risk of Cerebral Ischemic Events. *Stroke* 31:3001–3007.
53. Klose U (2008) Measurement sequences for single voxel proton MR spectroscopy. *European Journal of Radiology* 67:194–201.
54. Klose U, Jiru F (2005) Principles of MR Spectroscopy and Chemical Shift Imaging. *Advanced Image Processing in Magnetic Resonance Imaging*
55. Konrad C, Ukas T, Nebel C, Arolt V, Toga AW, Narr KL (2009) Defining the human hippocampus in cerebral magnetic resonance images--an overview of current segmentation protocols. *Neuroimage* 47:1185–1195.
56. Krell D, Mulholland P, Frampton AE, Krell J, Stebbing J, Bardella C (2013) IDH mutations in tumorigenesis and their potential role as novel therapeutic targets. *Future Oncology* 9:1923–1935.
57. Kuhlmann T, Schröter A, Dechent P, Weber F, Rustenbeck HH, Füzesi L, Brück W, Ehrenreich H, Frahm J (2001) Diagnosis of a multifocal B cell lymphoma with

preceding demyelinating central nervous system lesions by single voxel proton MR spectroscopy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 70:259–262.

58. Kumar A, Kaushik S, Tripathi RP, Kaur P, Khushu S (2003) Role of in vivo proton MR spectroscopy in the evaluation of adult brain lesions: our preliminary experience. *Neurol India* 51:474–478.

59. Kuroda S, Houkin K, Kamiyama H, Mitsumori K, Iwasaki Y, Abe H (2001) Long-term prognosis of medically treated patients with internal carotid or middle cerebral artery occlusion: can acetazolamide test predict it? *Stroke* 32:2110–2116.

60. Lichy M, Henze M, Plathow C, Bachert P, Kauczor H, Schlemmer H (2004) Metabolische Bildgebung zur Verlaufskontrolle stereotaktisch bestrahlter Gliome - Wertigkeit der ^1H -MR-Spektroskopie im Vergleich zur FDG-PET und IMT-SPECT. *Fortschr Röntgenstr* 176:1114–1121.

61. Lojkowska W, Sawicka B, Gugala M, Sienkiewicz-Jarosz H, Bochynska A, Scinska A, Korkosz A, Lojek E, Ryglewicz D (2011) Follow-up study of olfactory deficits, cognitive functions, and volume loss of medial temporal lobe structures in patients with mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res* 8:689–698.

62. Lukas L, Devos A, Suykens J a. K, Vanhamme L, Howe FA, Majós C, Moreno-Torres A, van der Graaf M, Tate AR, Arús C, Van Huffel S (2004) Brain tumor classification based on long echo proton MRS signals. *Artif Intell Med* 31:73–89.

63. Lythgoe D, Simmons A, Pereira A, Cullinane M, Williams S, Markus HS (2001) Magnetic resonance markers of ischaemia: their correlation with vasodilatory reserve in patients with carotid artery stenosis and occlusion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 71:58–62.

64. Majós C, Alonso J, Aguilera C, Serrallonga M, Pérez-Martín J, Acebes JJ, Arús C, Gili J (2003) Proton magnetic resonance spectroscopy (^1H MRS) of human brain tumours: assessment of differences between tumour types and its applicability in brain tumour categorization. *Eur Radiol* 13:582–591.

65. Malucelli A, Skoch A, Ostry S, Tomek A, Urbanova B, Martinkovic L, Buksakowska I, Mohapl M, Netuka D, Hort J, Sroubek J, Vrana J, Moravec T, Bartos R, Sames M, Hajek M, Horinek D (2021) Magnetic resonance markers of bilateral

neuronal metabolic dysfunction in patients with unilateral internal carotid artery occlusion. *Magn Reson Mater Phy* 34:141–151.

66. Markus HS, Harrison MJ (1992) Estimation of cerebrovascular reactivity using transcranial Doppler, including the use of breath-holding as the vasodilatory stimulus. *Stroke* 23:668–673.

67. McKnight TR, von dem Bussche MH, Vigneron DB, Lu Y, Berger MS, McDermott MW, Dillon WP, Graves EE, Pirzkall A, Nelson SJ (2002) Histopathological validation of a three-dimensional magnetic resonance spectroscopy index as a predictor of tumor presence. *J Neurosurg* 97:794–802.

68. Muñoz Maniega S, Cvorov V, Chappell FM, Armitage PA, Marshall I, Bastin ME, Wardlaw JM (2008) Changes in NAA and lactate following ischemic stroke: a serial MR spectroscopic imaging study. *Neurology* 71:1993–1999.

69. Natsumeda M, Motohashi K, Igarashi H, Nozawa T, Abe H, Tsukamoto Y, Ogura R, Okada M, Kobayashi T, Aoki H, Takahashi H, Kakita A, Okamoto K, Nakada T, Fujii Y (2018) Reliable diagnosis of IDH-mutant glioblastoma by 2-hydroxyglutarate detection: a study by 3-T magnetic resonance spectroscopy. *Neurosurg Rev* 41:641–647.

70. Negendank WG, Sauter R, Brown TR, Evelhoch JL, Falini A, Gotsis ED, Heerschap A, Kamada K, Lee BC, Mengeot MM, Moser E, Padavic-Shaller KA, Sanders JA, Spraggins TA, Stillman AE, Terwey B, Vogl TJ, Wicklow K, Zimmerman RA (1996) Proton magnetic resonance spectroscopy in patients with glial tumors: a multicenter study. *J Neurosurg* 84:449–458.

71. Pantel J, O’Leary DS, Cretsingher K, Bockholt HJ, Keefe H, Magnotta VA, Andreasen NC (2000) A new method for the in vivo volumetric measurement of the human hippocampus with high neuroanatomical accuracy. *Hippocampus* 10:752–758.

72. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC-H, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu I-M, Gallia GL, Olivi A, McLendon R, Rasheed BA, Keir S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Busam DA, Tekleab H, Diaz LA, Hartigan J, Smith DR, Strausberg RL, Marie SKN, Shinjo SMO, Yan H, Riggins GJ, Bigner DD, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G, Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW (2008) An

Integrated Genomic Analysis of Human Glioblastoma Multiforme. *Science* 321:1807–1812.

73. Persson J, Pudas S, Lind J, Kauppi K, Nilsson L-G, Nyberg L (2012) Longitudinal structure-function correlates in elderly reveal MTL dysfunction with cognitive decline. *Cereb Cortex* 22:2297–2304.

74. Petty GW, Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, O’Fallon WM, Wiebers DO (1999) Ischemic stroke subtypes: a population-based study of incidence and risk factors. *Stroke* 30:2513–2516.

75. Plotkin M, Eisenacher J, Bruhn H, Wurm R, Michel R, Stockhammer F, Feußner A, Dudeck O, Wust P, Felix R, Amthauer H (2004) ¹²³I-IMT SPECT and ¹HMR-Spectroscopy at 3.0T in the Differential Diagnosis of Recurrent or Residual Gliomas: A Comparative Study. *J Neurooncol* 70:49–58.

76. Posse S, Otazo R, Caprihan A, Bustillo J, Chen H, Henry P-G, Marjanska M, Gasparovic C, Zuo C, Magnotta V, Mueller B, Mullins P, Renshaw P, Ugurbil K, Lim KO, Alger JR (2007) Proton echo-planar spectroscopic imaging of J-coupled resonances in human brain at 3 and 4 Tesla. *Magn Reson Med* 58:236–244.

77. Posse S, Schuknecht B, Smith ME, van Zijl PCM, Herschkowitz N, Moonen CTW (1993) Short Echo Time Proton MR Spectroscopic Imaging: *Journal of Computer Assisted Tomography* 17:1–14.

78. Prat R, Galeano I, Lucas A, Martínez JC, Martín M, Amador R, Reynés G (2010) Relative value of magnetic resonance spectroscopy, magnetic resonance perfusion, and 2-(¹⁸F) fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography for detection of recurrence or grade increase in gliomas. *Journal of Clinical Neuroscience* 17:50–53.

79. Provencher SW (1993) Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 30:672–679.

80. Provencher SW (2001) Automatic quantitation of localized in vivo ¹H spectra with LCModel. *NMR Biomed* 14:260–264.

81. Rabinov JD, Lee PL, Barker FG, Louis DN, Harsh GR, Cosgrove GR, Chiocca EA, Thornton AF, Loeffler JS, Henson JW, Gonzalez RG (2002) In Vivo 3-T MR

Spectroscopy in the Distinction of Recurrent Glioma versus Radiation Effects: Initial Experience. *Radiology* 225:871–879.

82. Rautenberg W, Mess W, Hennerici M (1990) Prognosis of asymptomatic carotid occlusion. *J Neurol Sci* 98:213–220.

83. Rock JP, Hearshen D, Scarpace L, Croteau D, Gutierrez J, Fisher JL, Rosenblum ML, Mikkelsen T (2002) Correlations between magnetic resonance spectroscopy and image-guided histopathology, with special attention to radiation necrosis. *Neurosurgery* 51:912–919; discussion 919-920.

84. Rock JP, Scarpace L, Hearshen D, Gutierrez J, Fisher JL, Rosenblum M, Mikkelsen T (2004) Associations among Magnetic Resonance Spectroscopy, Apparent Diffusion Coefficients, and Image-Guided Histopathology with Special Attention to Radiation Necrosis. *Neurosurgery* 54:1111–1119.

85. Romero JR, Beiser A, Seshadri S, Benjamin EJ, Polak JF, Vasan RS, Au R, DeCarli C, Wolf PA (2009) Carotid artery atherosclerosis, MRI indices of brain ischemia, aging, and cognitive impairment: the Framingham study. *Stroke* 40:1590–1596.

86. Rutgers DR, Klijn CJ, Kappelle LJ, van der Grond J (2000) Cerebral metabolic changes in patients with a symptomatic occlusion of the internal carotid artery: a longitudinal 1H magnetic resonance spectroscopy study. *J Magn Reson Imaging* 11:279–286.

87. Rutgers DR, van Osch MJP, Kappelle LJ, Mali WPTM, van der Grond J (2003) Cerebral hemodynamics and metabolism in patients with symptomatic occlusion of the internal carotid artery. *Stroke* 34:648–652.

88. Saito H, Ogasawara K, Nishimoto H, Yoshioka Y, Murakami T, Fujiwara S, Sasaki M, Kobayashi M, Yoshida K, Kubo Y, Beppu T, Ogawa A (2013) Postoperative Changes in Cerebral Metabolites Associated with Cognitive Improvement and Impairment after Carotid Endarterectomy: A 3T Proton MR Spectroscopy Study. *AJNR Am J Neuroradiol* 34:976–982.

89. Saunders DE, Howe FA, van den Boogaart A, McLean MA, Griffiths JR, Brown MM (1995) Continuing Ischemic Damage After Acute Middle Cerebral Artery Infarction in Humans Demonstrated by Short-Echo Proton Spectroscopy. *Stroke* 26:1007–1013.

90. Seeger A, Braun C, Skardelly M, Paulsen F, Schittenhelm J, Ernemann U, Bisdas S (2013) Comparison of Three Different MR Perfusion Techniques and MR Spectroscopy for Multiparametric Assessment in Distinguishing Recurrent High-Grade Gliomas from Stable Disease. *Academic Radiology* 20:1557–1565.
91. Sharma VK, Tsivgoulis G, Ning C, Teoh HL, Bairaktaris C, Chong VF, Ong BK, Chan BP, Sinha AK (2008) Role of Multimodal Evaluation of Cerebral Hemodynamics in Selecting Patients with Symptomatic Carotid or Middle Cerebral Artery Steno-occlusive Disease for Revascularization. *J Vasc Interv Neurol* 1:96–101.
92. Sibtain NA, Howe FA, Saunders DE (2007) The clinical value of proton magnetic resonance spectroscopy in adult brain tumours. *Clin Radiol* 62:109–119.
93. Sijens PE, Oudkerk M (2002) ¹H chemical shift imaging characterization of human brain tumor and edema. *Eur Radiol* 12:2056–2061.
94. Siu A, Wind JJ, Iorgulescu JB, Chan TA, Yamada Y, Sherman JH (2012) Radiation necrosis following treatment of high grade glioma--a review of the literature and current understanding. *Acta Neurochir (Wien)* 154:191–201; discussion 201.
95. Skoch A, Jiru F, Bunke J (2008) Spectroscopic imaging: Basic principles. *European Journal of Radiology* 67:230–239.
96. Slampa P (2013) *Gliomy: současná diagnostika a léčba*. Maxdorf, Praha
97. Stadlbauer A, Gruber S, Nimsy C, Fahlbusch R, Hammen T, Buslei R, Tomandl B, Moser E, Ganslandt O (2006) Preoperative grading of gliomas by using metabolite quantification with high-spatial-resolution proton MR spectroscopic imaging. *Radiology* 238:958–969.
98. Stroman PW, Bosma RL, Kornelsen J, Lawrence-Dewar J, Wheeler-Kingshott C, Cadotte D, Fehlings MG (2012) Advanced MR imaging techniques and characterization of residual anatomy. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 114:460–470.
99. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJB, Janzer RC, Ludwin SK, Allgeier A, Fisher B, Belanger K, Hau P, Brandes AA, Gijtenbeek J, Marosi C, Vecht CJ, Mokhtari K, Wesseling P, Villa S, Eisenhauer E, Gorlia T, Weller M, Lacombe D, Cairncross JG, Mirimanoff R-O, European Organisation for Research

and Treatment of Cancer Brain Tumour and Radiation Oncology Groups, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (2009) Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 10:459–466.

100. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO, European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (2005) Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352:987–996.

101. Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, Zheng Z-J, Flegal K, O'Donnell C, Kittner S, Lloyd-Jones D, Goff DC, Hong Y, Adams R, Friday G, Furie K, Gorelick P, Kissela B, Marler J, Meigs J, Roger V, Sidney S, Sorlie P, Steinberger J, Wasserthiel-Smoller S, Wilson M, Wolf P, American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee (2006) Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 113:e85-151.

102. Tietze A, Choi C, Mickey B, Maher EA, Parm Ulhøi B, Sangill R, Lassen-Ramshad Y, Lukacova S, Østergaard L, von Oettingen G (2018) Noninvasive assessment of isocitrate dehydrogenase mutation status in cerebral gliomas by magnetic resonance spectroscopy in a clinical setting. *Journal of Neurosurgery* 128:391–398.

103. Träber F, Block W, Lamerichs R, Gieseke J, Schild HH (2004) ¹H metabolite relaxation times at 3.0 tesla: Measurements of T1 and T2 values in normal brain and determination of regional differences in transverse relaxation. *J Magn Reson Imaging* 19:537–545.

104. Tsuchida C, Kimura H, Sadato N, Tsuchida T, Tokuriki Y, Yonekura Y (2000) Evaluation of brain metabolism in steno-occlusive carotid artery disease by proton MR

spectroscopy: a correlative study with oxygen metabolism by PET. *J Nucl Med* 41:1357–1362.

105. Valenzuela MJ, Sachdev PS, Wen W, Shnier R, Brodaty H, Gillies D (2000) Dual voxel proton magnetic resonance spectroscopy in the healthy elderly: subcortical-frontal axonal N-acetylaspartate levels are correlated with fluid cognitive abilities independent of structural brain changes. *Neuroimage* 12:747–756.

106. van der Grond J, Balm R, Kappelle LJ, Eikelboom BC, Mali WP (1995) Cerebral metabolism of patients with stenosis or occlusion of the internal carotid artery. A ¹H-MR spectroscopic imaging study. *Stroke* 26:822–828.

107. van der Grond J, Ramos LMP, Eikelboom BC, Mali WPTHM (1996) Cerebral metabolic differences between the severe and critical hypoperfused brain. *Neurology* 47:399–404.

108. van Everdinge KJ, Visser GH, Klijn CJM, Kappelle LJ, van der Grond J (1998) Role of collateral flow on cerebral hemodynamics in patients with unilateral internal carotid artery occlusion. *Ann Neurol* 44:167–176.

109. Visser GH, van der Grond J, van Huffelen AC, Wieneke GH, Eikelboom BC (1999) Decreased transcranial Doppler carbon dioxide reactivity is associated with disordered cerebral metabolism in patients with internal carotid artery stenosis. *Journal of Vascular Surgery* 30:252–260.

110. Wagnerová D (2012) Doctoral Thesis. Correlation between Quantitative MR Parameters in Various Tissues In Vivo (MR Spectroscopic Imaging, MR Diffusometry, MR Relaxometry).

111. Wagnerová D, Urgosik D, Syrucek M, Hajek M (2011) Using a combination of magnetic resonance techniques for tumour diagnosis. *Cesk Slov Neurol N* 74/107:150–156.

112. Wagnerova D, Herynek V, Malucelli A, Dezortova M, Vymazal J, Urgosik D, Syrucek M, Jiru F, Skoch A, Bartos R, Sames M, Hajek M (2012) Quantitative MR imaging and spectroscopy of brain tumours: a step forward? *Eur Radiol* 22:2307–2318.

113. Wagnerova D, Jiru F, Dezortova M, Vargova L, Sykova E, Hajek M (2009) The correlation between ¹H MRS choline concentrations and MR diffusion trace values in human brain tumors. *MAGMA* 22:19–31.
114. Wald LL, Nelson SJ, Day MR, Noworolski SE, Henry RG, Huhn SL, Chang S, Prados MD, Sneed PK, Larson DA, Wara WM, McDermott M, Dillon WP, Gutin PH, Vigneron DB (1997) Serial proton magnetic resonance spectroscopy imaging of glioblastoma multiforme after brachytherapy. *J Neurosurg* 87:525–534.
115. Walker PM, Ben Salem D, Giroud M, Brunotte F (2006) Is NAA reduction in normal contralateral cerebral tissue in stroke patients dependent on underlying risk factors? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:596–600.
116. Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, Cloughesy TF, Sorensen AG, Galanis E, DeGroot J, Wick W, Gilbert MR, Lassman AB, Tsien C, Mikkelsen T, Wong ET, Chamberlain MC, Stupp R, Lamborn KR, Vogelbaum MA, van den Bent MJ, Chang SM (2010) Updated Response Assessment Criteria for High-Grade Gliomas: Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group. *JCO* 28:1963–1972.
117. Weybright P, Maly P, Gomez-Hassan D, Blaesing C, Sundgren PC (2004) MR spectroscopy in the evaluation of recurrent contrast-enhancing lesions in the posterior fossa after tumor treatment. *Neuroradiology* 46:541–549.
118. Weybright P, Sundgren PC, Maly P, Hassan DG, Nan B, Rohrer S, Junck L (2005) Differentiation Between Brain Tumor Recurrence and Radiation Injury Using MR Spectroscopy. *American Journal of Roentgenology* 185:1471–1476.
119. Yang D, Korogi Y, Sugahara T, Kitajima M, Shigematsu Y, Liang L, Ushio Y, Takahashi M (2002) Cerebral gliomas: prospective comparison of multivoxel 2D chemical-shift imaging proton MR spectroscopy, echoplanar perfusion and diffusion-weighted MRI. *Neuroradiology* 44:656–666.
120. Yevgeniy E. Kuznetsov, Caramanos Z, Antel SB, Preul MC, Leblanc R, Villemure J-G, Pokrupa R, Olivier A, Sadikot A, Arnold DL (2003) Proton magnetic resonance spectroscopic imaging can predict length of survival in patients with supratentorial gliomas. *Neurosurgery* 53:565–574; discussion 574-576.

121. Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, Gerig G (2006) User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: Significantly improved efficiency and reliability. *NeuroImage* 31:1116–1128.
122. Zeng Q-S, Li C-F, Zhang K, Liu H, Kang X-S, Zhen J-H (2007) Multivoxel 3D proton MR spectroscopy in the distinction of recurrent glioma from radiation injury. *J Neurooncol* 84:63–69.
123. Zhang M, Lu J, Jiao L, Ma Q, Li K (2011) Proton magnetic resonance spectroscopy in patients with symptomatic unilateral internal carotid artery / middle cerebral artery stenosis or occlusion. *J Magn Reson Imaging* 34:910–916.
124. Zhou M, Zhou Y, Liao H, Rowland BC, Kong X, Arvold ND, Reardon DA, Wen PY, Lin AP, Huang RY (2018) Diagnostic accuracy of 2-hydroxyglutarate magnetic resonance spectroscopy in newly diagnosed brain mass and suspected recurrent gliomas. *Neuro-Oncology* 20:1262–1271.

10. Přehled publikací autora

Publikace s IF, které jsou podkladem disertační práce

1. **Malucelli A**, Skoch A, Ostry S, Tomek A, Urbanova B, Martinkovic L, Buksakowska I, Mohapl M, Netuka D, Hort J, Sroubek J, Vrana J, Moravec T, Bartos R, Sames M, Hajek M, Horinek D (2021) Magnetic resonance markers of bilateral neuronal metabolic dysfunction in patients with unilateral internal carotid artery occlusion. *Magn Reson Mater Phy* 34:141-151. IF: 1,956
2. Bartoš R, Ospalík D, **Malucelli A**, Vachata P, Sameš M, Kazda T, Šmejkalová-Musilová D, Třebický F (2019) Retrospektivní autoevaluace výsledků operací intrinsických mozkových nádorů – konsekutivní kohorta 270 operací v rámci jednoho neurochirurgického centra NOS ČOS (Neuroonkologické sekce České onkologické společnosti) z let 2015-2017. *Cesk Slov Neurol N* 82/115:401-409. IF: 0,355
3. Wagnerova D, Herynek V, **Malucelli A**, Dezortova M, Vymazal J, Urgosik D, Syrucek M, Jiru F, Skoch A, Bartos R, Sames M, Hajek M (2012) Quantitative MR imaging and spectroscopy of brain tumors: A step forward? *Eur Radiol* 22:2307-18. IF: 3,594
4. Bartoš R, Sameš M, **Malucelli A**, Hejčl A, Ospalík D, Třebický F, Němcová V (2021) Komplexní léčba difuzních nízkostupňových gliomů – technika operování a onkologická léčba rezidua. *Cesk Slov Neurol N* 84/117:72-78. IF: 0,355
5. Hejčl A, Jiránková K, **Malucelli A**, Sejkorová A, Radovnický T, Bartoš R, Orlický M, Brušáková Š, Hrach K, Kastnerová J, Sameš M (2020) Selective internal carotid artery cross-clamping increases the specificity of cerebral oximetry for indication of shunting during carotid endarterectomy. *Acta Neurochir (Wien)* Oct 27. IF: 1,817
6. Bartoš R, Šoula O, Šimonová G, **Malucelli A**, Šmejkalová Musilová D, Třebický F, Liščák R, Klener J, Sameš M (2018) Léčba recidivy či rezidua multiformního glioblastomu pomocí stereotaktické radiochirurgie gama nožem – společně hodnocený soubor dvou neurochirurgických pracovišť. *Cesk Slov Neurol N* 81:556-562. IF: 0,355

7. Herynek V, Wagnerova D, **Malucelli A**, Vymazal J, Sames M, Hajek M (2015) Alterations in the basal ganglia in patients with brain tumours may be due to excessive iron deposition. *Oncology letters* 9:43-46. IF: 1,554

Publikace 4-7 souvisejí s tématem disertační práce, ale nejsou přímým podkladem.

Publikace bez IF, které jsou podkladem disertační práce

8. **Malucelli A**, Pajuelo D, Dezortova M, Bartos R, Sames M, Hajek M. The best MR spectroscopy cut-off parameters in differential diagnosis between glioma recurrence and radionecrosis: a prospective study. V recenzním řízení časopisu *Eur Radiol*

9. Bartoš R, **Malucelli A**, Hejčl A, Humhej I, Bolcha M, Radovnický T, Orlický M, Vachata P, Sameš M, Třebický F, Pukyová J, Musilová D, Šulc D (2013) Resekce recidivy multifonního glioblastomu – vyhodnocení komplikací a významu pro pacienta. Kapitola v knize: „Gliomy: současná diagnostika a léčba“, Pavel Šlampa a kol., Maxdorf, ISBN 978-80-7345-321-3

Publikace s IF bez vztahu k tématu disertační práce

10. Bartoš R, Bejšovec D, **Malucelli A**, Prokšová J, Lodin J, Čapek Š, Sameš M (2017) „Awake“ resekce gliomu v poloze pacienta v polosedě – kazuistika. *Cesk Slov Neurol* N 80/113:220-223. IF: 0,508

11. Bartoš R, Němcová V, Radovnický T, Sejkorová A, **Malucelli A**, Orlický M, Třebický F, Sameš M (2016) Gliomy limbického a paralimbického systému, technika a výsledky resekcí. *Cesk Slov Neurol* N 79/112:131-147. IF: 0,368

12. Bartoš R, **Malucelli A**, Bartoš P, Adámek D, Zárubová J, Sameš M (2015) Ovlivnění výsledku traktografie pyramidové dráhy volbou oblasti zájmu trasování – kazuistika. *Cesk Slov Neurol* N 78/111:354-358. IF: 0,209

13. Bartoš R, **Malucelli A**, Radovnický T, Hejčl A, Céé J, Bartoš P, Sameš M (2014) Volumetrické hodnocení resekovatelnosti gliomů inzulí. *Cesk Slov Neurol* N 77/110:568-575. IF: 0,165

14. Bartoš R, Třebický F, **Malucelli A**, Hejčl A, Zárubová J, Hořínek D, Peter R, Sameš M (2014) Volumetrické vyhodnocení efektu následné onkologické léčby při inoperabilní progresi či reziduu nízkostupňového gliomu. *Cesk Slov Neurol N* 77/110:216-222. IF: 0,165
15. Zolal A, Hejcl A, **Malucelli A**, Novakova M, Vachata P, Bartos R, Derner M, Sames M (2013) Distant white-matter diffusion changes caused by tumor growth. *Journal of Neuroradiology* 40:71-80. IF: 1,753
16. Zolal A, Hejcl A, Vachata P, Bartos R, Humhej I, **Malucelli A**, Novakova M, Hrach K, Derner M, Sames M (2012) The use of DTI images of the corticospinal tract in intrinsic brain tumor surgery - a comparison with direct subcortical stimulation. *Neurosurgery* 71:331-40. IF: 3,298
17. Zolal A, Sames M, Burian M, Novakova M, **Malucelli A**, Hejcl A, Bartos R, Vachata P, Derner M (2012) The effect of a gadolinium-based contrast agent on diffusion tensor imaging. *Eur J Radiol* 81:1877-82. IF: 2,941
18. Zolal A, Vachata P, Hejcl A, Bartos R, **Malucelli A**, Novakova M, Derner M, Sames M (2012) Anatomy of the supraventricular portion of the pyramidal tract. *Acta Neurochir (Wien)* 154:1097-104. IF: 1,329
19. Hejčl A, Bartoš R, Zolal A, **Malucelli A**, Sameš M, Petrovický P (2012) Laboratorní preparace drah z mediálního pohledu na mozkovou hemisféru. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:707-713. IF: 0,372
20. Bartoš R, **Malucelli A**, Provazníková E, Radovnický T, Zolal A, Hejčl A, Sameš M (2012) Zadní interhemisférický prekuneální/transspleniální přístup k intrinsickým mozkovým lézím. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:354-358. IF: 0,372
21. Šlampa P, Fadrus P, Ehrmann J, Kolář Z, Dubinský P, Bolješíková E, Šedo A, **Malucelli A**, Malinová B, Růčka J, Slabý O, Lakomý R (2012) Novinky v diagnostice a léčbě primárních nádorů mozku – závěry mezioborového setkání „Winter GLIO TRACK Meeting“ 2012. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:261-262. IF: 0,372
22. Bartoš R, Hejčl A, Zolal A, **Malucelli A**, Sameš M, Petrovický P (2012) Laboratorní disekce drah laterálního aspektu mozkové hemisféry. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:30-37. IF: 0,372

23. Bartoš R, Vachata P, Hejčl A, Zolal A, **Malucelli A**, Radovnický T, Posltová M, Cihlář F, Derner M, Sameš M (2011) Vliv funkčního mapování na výsledky operací nízkostupňových gliomů WHO grade II. Cesk Slov Neurol N 74/107:292-298. IF: 0,279

24. Zolal A, Vachata P, Hejcl A, **Malucelli A**, Bartos R, Sames M (2010) Identification of the large descending tracts using diffusion tensor imaging in Chiari III malformation. Childs Nerv Syst 26:867-70. IF: 1,214

Publikace bez IF bez vztahu k tématu disertační práce

25. Bartoš R, Němcová V, Concepcion I, **Malucelli A** a kol. (2020) Průvodce mozkem – Neuroanatomie. Maxdorf, ISBN 978-80-7345-656-6

26. Třebický F, Kubeš J, Bartoš R, **Malucelli A**, Sameš M, Navrátil M, Vondráček V, Medková S, Mašek M, Zárubová J (2012) Treatment for volume upgrading of a low-grade supratentorial glioma after subtotal resection. Klin Onkol 25:294-8

Celkový IF: 23,703

Příloha 1

Publikace autora v časopisech s IF, které jsou podkladem disertační práce



Magnetic resonance markers of bilateral neuronal metabolic dysfunction in patients with unilateral internal carotid artery occlusion

Alberto Malucelli¹ · Antonin Skoch² · Svatopluk Ostry³ · Ales Tomek⁴ · Barbora Urbanova⁴ · Lukas Martinkovic⁴ · Irena Buksakowska⁵ · Milan Mohapl⁶ · David Netuka⁶ · Jakub Hort⁴ · Jan Sroubek⁷ · Jiri Vrana⁸ · Tomas Moravec⁹ · Robert Bartos¹ · Martin Sames¹ · Milan Hajek² · Daniel Horinek⁴

Received: 9 March 2020 / Revised: 22 June 2020 / Accepted: 24 June 2020
© European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology (ESMRMB) 2020

Abstract

Objectives To evaluate cerebral hemodynamic, metabolic and anatomic changes occurring in patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery (ICA).

Materials and methods Twenty-two patients with unilateral occlusion of ICA and twenty age and sex matched healthy subjects were included in the study. Single voxel proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) of the centrum semiovale, semi-automated hippocampal volumetry in T1-weighted scans and transcranial Doppler examination (TCD) with calculation of Breath Holding Index (BHI) were performed in both groups. Metabolic, anatomic, and hemodynamic features were compared between the two groups.

Results The *N*-acetylaspartate (NAA)/choline (Cho) ratio was significantly lower in both hemispheres of enrolled patients compared to controls ($p=0.005$ for the side with occlusion, $p=0.04$ for the side without occlusion). The hippocampus volume was significantly reduced bilaterally in patients compared to healthy subjects ($p=0.049$). A statistically significant difference in BHI values was observed between the side with occlusion and without occlusion ($p=0.037$) of the patients, as well as between BHI values of the side with occlusion and healthy volunteers ($p=0.014$).

Discussion Patients with unilateral ICA occlusion have reduced NAA/Cho ratio in the white matter of both hemispheres and have bilateral atrophy of hippocampus. The alteration of hemodynamics alone cannot explain these changes.

Keywords Internal carotid artery · Magnetic resonance spectroscopy · Choline · *N*-Acetylaspartate · Hippocampus

✉ Alberto Malucelli
alberto.malucelli@kzcr.eu

¹ Department of Neurosurgery, Masaryk Hospital, J.E. Purkyne University, Usti nad Labem, Czech Republic

² MR Unit, Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

³ Department of Neurology, Ceske Budejovice Hospital, Ceske Budejovice, Czech Republic

⁴ Department of Neurology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Motol University Hospital, Prague, Czech Republic

⁵ Department of Radiology, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

⁶ Department of Neurosurgery, Central Military Hospital, Prague, Czech Republic

⁷ Department of Neurosurgery, Hospital Na Homolce, Prague, Czech Republic

⁸ Department of Radiology, Central Military Hospital, Prague, Czech Republic

⁹ First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Introduction

Cerebrovascular disease is the third leading cause of death in developed countries [1]. Approximately 85% of strokes are ischemic and about 20% of these originate from large artery stenosis [2, 3]. Occlusion of the internal carotid artery (ICA) is a known risk factor for stroke in the ipsilateral hemisphere [4]. The overall risk of subsequent stroke in the presence of carotid occlusion is 5–7% per year and the risk of stroke ipsilateral to the occluded carotid artery is 2–6% per year [5], increasing to 10–20% per year in the subgroup of patients with significant impairment in cerebrovascular hemodynamics [6, 7].

A widely accepted and easily reproduced method of evaluating hemodynamic status in patients with carotid occlusion is the assessment of cerebral vasomotor reactivity by measuring cerebral blood flow (CBF) with transcranial Doppler (TCD) sonography. The examination can be performed in physiological conditions and repeated after a stress challenge (hyperventilation, administration of CO₂ or acetazolamid) in order to evaluate the residual capacity of the cerebrovascular system maintaining adequate perfusion [8]. However, this method alone has a low specificity, as it cannot distinguish between reduced CBF caused by the hemodynamic effects of arterial occlusion and compensatory physiological reductions in CBF caused by reduced metabolic demands of a chronically damaged tissue [9]. Integration of a method capable of revealing metabolic and anatomical changes may help to discern these conditions.

Proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) is a non-invasive method of measuring *in vivo* concentrations of several intracerebral metabolites in order to investigate metabolic alterations associated with various cerebral diseases [10]. Since metabolic changes in white and grey matter play an important role in the cascade of events leading to stroke, the option of non-invasively detecting these changes may also help understand the complex pathophysiological mechanisms underlying this disease and potentially identify high-risk patients for future stroke [11–13].

Multimodal integration of different diagnostic methods is therefore mandatory in order to throw light on the wide spectrum of anatomic, hemodynamic and metabolic changes occurring in patients with cerebrovascular disease and further studies investigating relationships between these diagnostic modalities are welcome. The main goal of this study was to compare results of TCD examination, single voxel quantitative ¹H-MRS and semi-automated MR hippocampal volumetry in a group of patients with unilateral carotid occlusion with a matched cohort of healthy subjects. Concentrations of *N*-acetylaspartate (NAA), choline (Cho), creatine (Cr) and lactate (Lac) and their

ratios were compared in the affected and contralateral hemisphere. Afterwards, they were also compared with healthy subjects, and correlated with TCD results and hippocampal volume measurements.

Materials and methods

A total of 36 patients with unilateral occlusion of the ICA were enrolled in this study between March 2016 and June 2017. The diagnosis of ICA occlusion was confirmed by CT angiography. Occlusion was defined as complete obliteration of the vessel without detectable contrast enhancement distally. Exclusion criteria were: a modified Rankin score higher than 1, more than 50% contralateral ICA stenosis on CT angiography, the presence of any concurrent disease of the central nervous system, a history of smoking, alcohol or drug abuse, a body mass index higher than 30. After selection, a total of 22 patients were included in the study (16 male and 6 female subjects, mean age 62 ± 7). The occlusion was asymptomatic in 8 patients, the remaining subjects suffered a brain ischemic event 6 months prior to enrolment or earlier (minor stroke event in 5 patients, transitory ischemic attack in 9 patients). No patient showed a degree of disability higher than 1 according to the modified Rankin Scale (mRS = 0 in 17 subjects, mRS = 1 in 5 subjects). Eight subjects showed some degree of contralateral carotid stenosis (20% *N* = 2, 30% *N* = 2, 40% *N* = 3, 50% *N* = 1). Regarding comorbidities, nineteen patients suffered from hypertension, 12 patients had hypercholesterolemia, 8 patients showed diabetes and 6 patients had a history of ischemic heart disease. A group of 20 healthy controls age- and sex-matched were recruited for this study as well (10 male and 10 female subjects, mean age 63 ± 8). In the control group, carotid arteries were examined by Ultrasound to reduce radiation burden in healthy volunteers. Exclusion criteria for the control group were: more than 50% ICA stenosis on any side, a history of stroke or other neurologic disorders, smoking or drug abuse, a body mass index higher than 30. In the control group, 7 subjects had carotid stenosis under 50% on either side (20% *N* = 3, 30% *N* = 2, 40% *N* = 2). Comorbidities were distributed as follows: hypertension in 7 subjects, hypercholesterolemia in 5 subjects, diabetes in 2 subjects, ischemic heart disease in 1 subject. For all the diagnostic modalities, only one hemisphere per control subject was included in the analysis (*N* = 20) to match the size of the patient subgroups: ipsilateral (*N* = 22) and contralateral (*N* = 22) hemisphere in respect to the side of occlusion. In the 7 control subjects with carotid stenosis, attention was paid to select the hemisphere ipsilateral to the carotid artery without any degree of stenosis, otherwise the left hemisphere was arbitrarily used. The main demographic and neurological features of the patient group are shown in Table 1.

Table 1 Demographic, neurological and clinical features in the patient group. TIA stands for Transitory Ischemic Attack

	Sex	Age	Side of ICA occlusion	Clinical manifestation	Modified Rankin Scale	Hypertension	Hypercholesterolemia	Diabetes	Ischemic heart disease
1	M	62	R	Stroke	1	Yes	Yes	No	No
2	M	68	L	Asymptomatic	0	No	No	no	Yes
3	F	70	L	TIA	0	Yes	Yes	No	Yes
4	M	53	R	TIA	0	Yes	Yes	No	No
5	F	72	L	TIA	0	Yes	Yes	No	No
6	F	48	R	TIA	0	Yes	No	No	No
7	M	54	L	TIA	0	No	No	No	No
8	F	63	R	Asymptomatic	0	Yes	No	No	No
9	M	49	L	Stroke	1	Yes	Yes	No	No
10	M	67	R	Stroke	1	Yes	No	Yes	Yes
11	M	59	L	Stroke	1	Yes	Yes	Yes	No
12	M	64	R	Asymptomatic	0	Yes	Yes	Yes	No
13	M	61	R	Stroke	1	Yes	No	Yes	Yes
14	M	62	L	Asymptomatic	0	Yes	Yes	Yes	No
15	F	66	R	TIA	0	Yes	Yes	Yes	Yes
16	M	63	R	TIA	0	No	No	No	No
17	M	74	L	Asymptomatic	0	Yes	Yes	Yes	No
18	M	60	R	TIA	0	Yes	Yes	Yes	No
19	M	62	L	Asymptomatic	0	Yes	No	No	Yes
20	M	71	R	Asymptomatic	0	Yes	No	No	No
21	F	60	L	Asymptomatic	0	Yes	Yes	No	No
22	M	64	L	TIA	0	Yes	No	No	No

TCD ultrasound examination

The patients were examined using a TCD ultrasound device with a 2 MHz probe (Toshiba Nemio, Toshiba, Tokyo, Japan). The following parameters were measured via the thin bone of the temporal region on middle cerebral arteries of both sides: peak systolic velocity, mean flow velocity, end diastolic velocity, resistance index, pulsatility index. These parameters were measured thrice during normal calm breathing and thrice after breath-holding for the maximal possible time in an alternating manner. There was always a minimum 2-min pause between the breath-holding and the following resting measurements. The total breath-hold time was noted. The measured parameters were then used to calculate an average breath holding index (BHI) separately for each hemisphere [14] using the following formula: $\frac{\Delta V}{t}$ where ΔV is the percentage increase in middle cerebral artery blood flow velocity occurring during breath-holding and t is the total breath-hold time.

MR semi-automated hippocampal volumetry

The input MR data for volumetry was acquired on 3 T Signa HDxt MR scanner (GE Healthcare, Waukesha, WI) using

a body coil for transmission and 8-channel phased-array receiver head coil for reception. Product BRAVO sequence (which is magnetization prepared T1-weighted 3D gradient echo) with parameters TR/T1/TE = 10.876/450/4.588, voxel size $0.4688 \times 0.4688 \times 1$ mm, was used. Hippocampal volume was measured by means of Freesurfer software [15]. Automatic measurement was performed as the initial step, with manual correction by a single operator using all three anatomical planes simultaneously in ITK-SNAP software [16]. The anterior border of the hippocampus was determined by the alveus, the posterior part by the lateral ventricle (fornix in full length in coronal planes). Superior and lateral borders were defined by cerebrospinal fluid (CSF). White matter of the parahippocampal gyrus separated from grey matter of the hippocampus created the inferior border. The inferior medial boundary was drawn by cutting the subiculum from the cortex of the parahippocampal gyrus, the superior medial by CSF of the cisterna ambiens. Sagittal planes were used to identify precise hippocampal borders [17] and uncertain regions, where separation from adjacent brain structures was less clear, were checked in coronal plane. Typically, demarcation of hippocampal borders was more challenging in the anterior part (separation from the amygdala) and in the posteromedial region, which

is adjacent to posterior thalamic areas. Ten subjects were measured twice to assess intra-operator variability. Anatomical boundaries were compared to an overview provided by Konrad et al. [18]. An example of manual correction of the primary automated output volume is given in Fig. 1.

¹H-MRS study

Single voxel ¹H MRS was performed on the same 3 T MR scanner and by the same coil by means of standard single-voxel product PROBE-P point-resolved spectroscopy sequence (GE Healthcare) with water suppression. Using T1-weighted images as anatomical reference, two cuboid volumes of interest (VOI) were placed symmetrically to the midline plane along the long axis of the centrum semiovale of right and left hemisphere excluding the lateral ventricles and minimizing grey matter inclusion (Fig. 2). Meticulous attention was paid to exclude areas of altered T1 signal, in order to not include possible postischemic lesions. Mean volume of the VOI in the whole cohort was 14.8 ± 1.5 ml, average dimensions of the VOI were: $50.1 \pm 2.6 \times 19.7 \pm 1.1 \times 15.0 \pm 0.8$ mm. The shimming was done by automatic built-in procedure. The quality of automatic shim process was evaluated by monitoring the FWHM (full width at

half-maximum) outputs from measured VOI as an indicator of the linewidth of unsuppressed water signal. Shim settings were manually refined by adjusting first-order shim currents to improve shim quality as assessed by the resulting FWHM in the corresponding adjustment user interface. The following parameters were used: TR/TE = 1500/144 ms, τ (delay between 1st and 2nd excitation pulse) = 12.768 ms, number of signal averages = 128, 8-step phase cycle, vector size = 4096, spectral width = 5000 Hz. Three chemical shift-selective saturation pulses (CHESS [19]) with flip angles different to 90° adapted to T1 of water and timing of sequence were used for water suppression (WET scheme = water suppression enhanced through T1 effects [20]). Four outer volume suppression (OVS) bands parallel to the VOI borders were placed at a distance of approximately 3 cm from the VOI limits to minimize lipid contamination. LCModel [21] was used to combine signals from individual coil elements, for eddy-current correction [22] and for estimating concentrations of brain metabolites. The estimation was based on modelling of the acquired MR signal as linear combination of individual metabolite basis-set signals. The basis-set signals for LCModel were obtained by quantum-mechanical simulation using SIMPSON simulation software [23]. LCModel basis set included the following metabolites

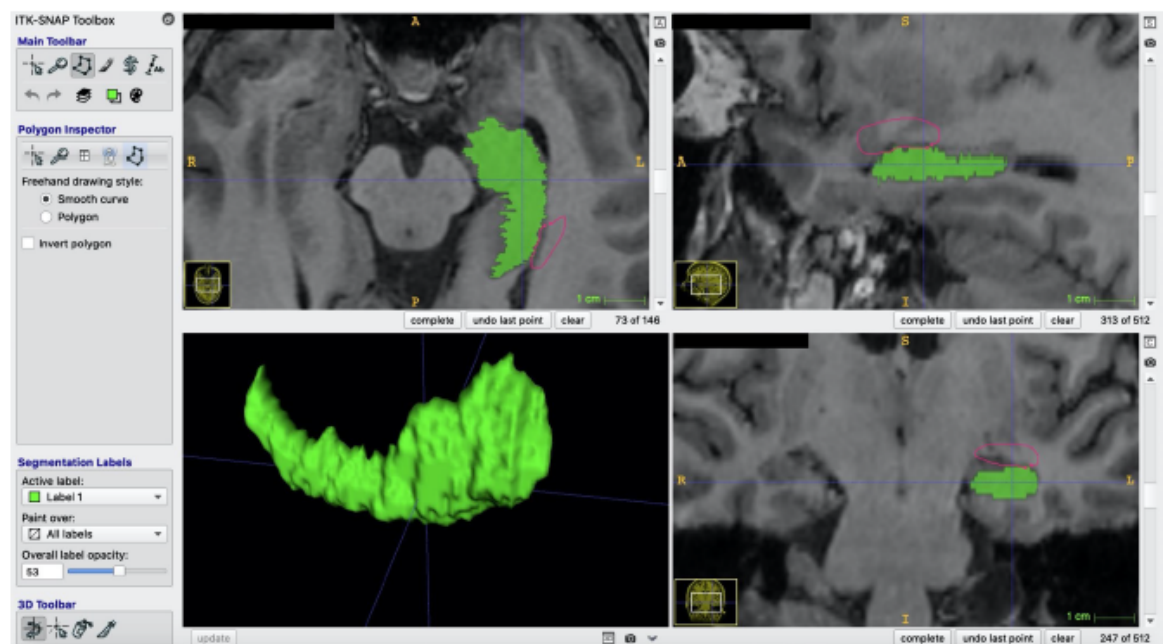
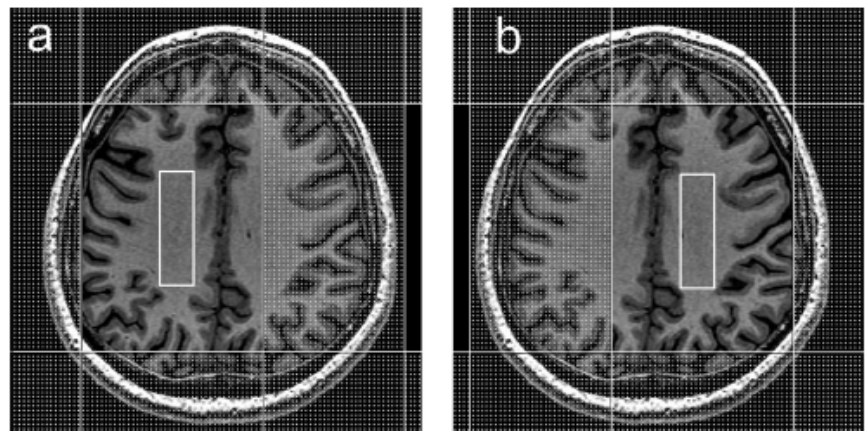


Fig. 1 An example of manual correction with ITK-SNAP software of the primary hippocampal volume automatically selected by FreeSurfer software. From left upper panel proceeding clockwise the axial, sagittal and coronal view are shown. A 3D rendering of the hippocampal volume is pictured in the left lower panel. Anatomical bor-

ders of the hippocampus were primarily verified in the sagittal plane (slice by slice), the coronal plane was used to discern uncertain areas. Primary volume in green. Manually drawn line contouring an area to exclude in pink

Fig. 2 Position of the VOI along the long axis of the centrum semiovale of the right (a) and left (b) hemisphere. The dotted areas represent outer-volume suppression bands



(quantum mechanically simulated): glycerophosphocholine (GPC), phosphocholine (PCho), phosphocreatine (PCr), creatine (Cr), glutamine, glutamate, inositol, scyllo-inositol, lactate (Lac), *N*-acetylaspartate (NAA), *N*-acetylaspartylglutamate (NAAG), taurine, guanine. Lipids and macromolecules were analytically simulated inside LCModel. The following standard simulated lipids and macromolecules setting were used: Lip09, MM09, Lip20, MM20, MM12, MM14, MM17. The fitting range was 0.2–4.2 ppm. After some preliminary testing, zero and first order phasing was slightly constrained by imposing the following parameters: $sddegz = 3$ (limiting zero order phasing), $sddegp = 1$ (limiting first order phasing). Eddy current correction and water scaling were on. Overall signal to noise ratio of the measured spectra (as estimated by LCModel) was 17.8 ± 5.0 . The preliminary analysis of the LCModel results of all subjects showed strong positive correlation between concentrations of alanine, lipids at 1.3 ppm and Lac due to the fact that Lac signal is of opposite amplitude with respect to other model signals in the region. This led to ill determination of the fit and systematic overestimation of Lac concentration in some subjects. Lipid resonances at 1.3 ppm and alanine were therefore removed from the original basis-set to improve accuracy of Lac concentration estimation. Unsuppressed water signal was acquired with 16 averages (2×8 -step phase cycles) and used as internal standard for metabolite concentration estimation. The calculated concentrations were corrected for individual water content and T1/T2 relaxation of water in white matter/grey matter/CSF based on the methodology described in Gasparovic et al. [24]. Since the study of Gasparovic was performed at 1.5 T, the T2 relaxation times of water in white and grey matter were derived from Posse et al. [25], which used a 3 T protocol adopting the values from Wansapura et al. [26] and Ethofer et al. [27]. Namely, the following values were used for grey matter, white matter, CSF respectively: T1 relaxation times 1470, 1060, 3000 ms, T2 relaxation times 110, 74, 200 ms. The

white matter/grey matter/CSF volume fractions of the VOI, needed for the correction, were determined by co-registration of 3D high-resolution BRAVO MR images segmented in SPM8 [28] and spectroscopic VOI by home-made software written in Java language. Finally, the concentrations of total Cho (GPC + PCho), total Cr (Cr + PCr) and total NAA (NAA + NAAG) were corrected for T1 and T2 relaxation times by using literature values [27, 29, 30]. This correction was not applied to Lac since, to the best of our knowledge, no in-vivo T1 and T2 relaxation times of Lac have been published thus far. Furthermore, other effects occur on J-coupled systems during volume localization MRS, which affect lactate signal intensity [31] and cannot be easily accounted for. Due to these facts, Lac concentrations remained in institutional units. An example of spectrum on the side of occlusion before and after LCModel fitting is shown in Fig. 3.

Statistical methods

The dataset consisted of continuous variables (e.g. BHI, NAA). Correlation analysis was based on calculation of Spearman rank correlation coefficient (R_s). Given the continuous character of the variables, comparison of data in the following three groups: (a) patients, ipsilateral side; (b) patients, contralateral side; and (c) healthy volunteers (controls) was performed by Kruskal–Wallis test. If the result of Kruskal–Wallis test was significant ($p < 0.05$), Mann–Whitney U test was used to analyse differences between individual groups. In the patient group, further subgroup analysis was performed in a similar fashion comparing symptomatic versus asymptomatic subjects and patients with versus without contralateral stenosis. Normality of data distribution was tested by Kolmogorov–Smirnov and Shapiro–Wilk test. All statistical analyses were performed at significance level of $\alpha = 5\%$ and all the statistical tests used were two-sided. Data was analysed using statistical software package STATISTICA v. 10 (StatSoft Inc., USA).

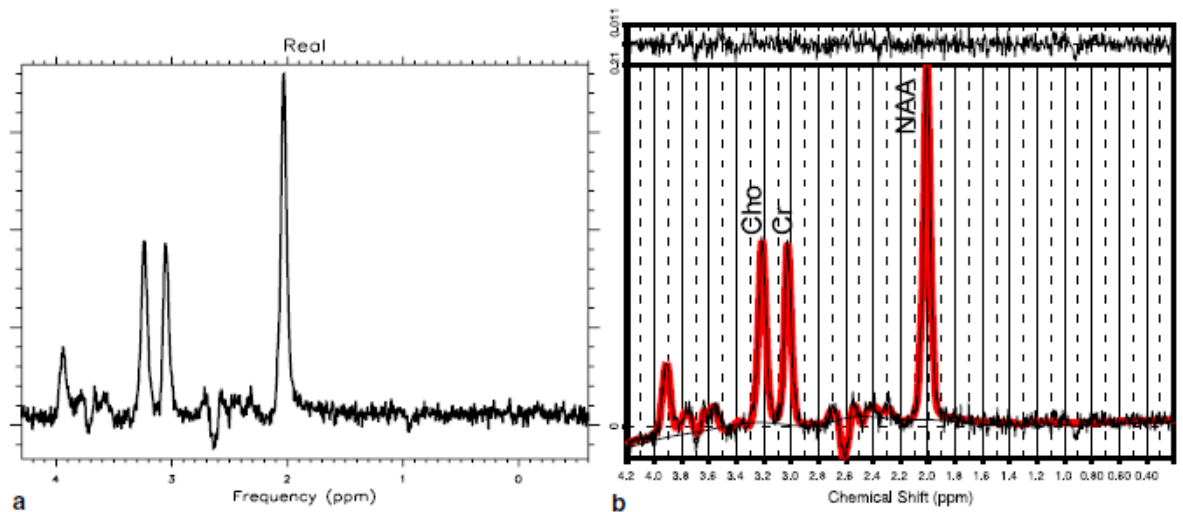


Fig. 3 An example of spectrum on the side of ICA occlusion before (a) and after (b) LCMoDel fitting. In (a) the only processing step applied to the measured spectrum was “PROBE-P” reconstruction, which comprises phase correction and combination of signal from coil channels without zero-filling or apodization. In (b) note the base-

line output from LCMoDel (smooth black line) and the curve after fitting (red line); the spiked line on the top represents the difference between the fitted line and the measured signal. The three most prominent peaks represent (from left to right)—choline compounds (Cho), creatine (Cr), *N*-acetylaspartate (NAA)

Results

All patients underwent brain ^1H -MRS and MR hippocampal volumetry. Complete TCD examination with calculation of BHI for both hemispheres was performed in 19 patients. Bilateral measurement was technically not possible in 3 patients because of a lacking temporal bone window. These patients were still included in the ^1H -MRS and

volumetric analysis to maximize the statistical strength of the MR results. The values of BHI, main metabolite concentration and hippocampal volume of patients and healthy controls are shown in Table 2.

A statistically significant difference in BHI values was observed in patients between the side with occlusion (0.56 ± 0.48) and without occlusion (0.79 ± 0.54) $p=0.037$, as well as BHI values between the side with occlusion and healthy volunteers (0.82 ± 0.47), $p=0.014$. BHI results in

Table 2 Comparison of brain vasoreactivity, metabolic features and hippocampal volumetry in both hemispheres of patients and in control group

	Side with occlusion				Side without occlusion			Healthy controls			
	<i>N</i>	Mean \pm SE	Min/Max	%SD	Mean \pm SE	Min/Max	%SD	<i>N</i>	Mean \pm SE	Min/Max	%SD
BHI	19	$0.56 \pm 0.48^{*\dagger}$	0.08/1.91		0.79 ± 0.54	0.09/2.86		20	0.82 ± 0.47	0.12/2.24	
NAA ^a	22	$17.2 \pm 5.0^*$	9.3/27.9	1.8	18.1 ± 5.7	9.8/28.3	1.7	20	20.4 ± 2.8	13.4/25.4	1.6
Cho ^a	22	3.2 ± 0.6	1.9/4.2	2.9	3.0 ± 0.8	1.4/4.4	2.8	20	3.0 ± 0.4	2.0/3.9	2.7
Cr ^a	22	12.1 ± 2.9	3.7/16.6	2.5	12.3 ± 3.9	4.5/18.1	2.4	20	13.5 ± 1.7	9.4/16.2	2.6
Lac ^a	22	0.2 ± 0.1	0.0/0.4	61.3 ^c	0.2 ± 0.1	0.0/0.5	54.2 ^c	20	0.1 ± 0.1	0.0/0.4	63.7 ^c
NAA/Cho	22	$5.7 \pm 0.9^*$	3.5/6.9		$5.9 \pm 0.7^*$	4.1/6.8		20	6.3 ± 0.6	5.1/7.4	
Vol-HIP ^b	22	$3287.4 \pm 409.6^*$	2634/4214		3285.2 ± 416.9	2619/4224		20	3325 ± 349.8	2694/4279	

SE stands for standard error, %SD are the estimated standard deviations (Cramer–Rao lower bounds) expressed in percent of the estimated metabolite concentrations

^aNAA, Cho, Cr and Lac concentrations are expressed in mmol/kg. Lac concentrations were not corrected for relaxation

^bHippocampal volume is expressed in mm³

^cNull values were eliminated before calculation of %SD ($N=4$ side with occlusion, $N=5$ side without occlusion, $N=7$ healthy controls)

* $p < 0.05$ vs control subjects

[†] $p < 0.05$ vs side without occlusion

the hemisphere without occlusion showed no statistically significant difference in comparison with healthy controls ($p=0.810$).

Concerning MRS measurements, FWHM outputs from LCModel after shimming correction were 7.28 ± 1.53 Hz at the occlusion side, 7.15 ± 1.53 Hz contralaterally and 7.03 ± 1.53 Hz in control subjects with no statistically significant difference between groups ($p=0.595$ – 0.974). Regarding cerebral metabolites, Cho, Cr, NAA, Lac and their ratios were statistically tested. No statistically significant difference was observed in NAA values between the side with occlusion (17.2 ± 5 mmol/kg) and without occlusion (18.1 ± 5.7 mmol/kg), $p=0.493$ of the patient group. There was a significant difference in NAA values between the side with occlusion in the patient group and NAA levels of the healthy volunteers (20.4 ± 2.8 mmol/kg), $p=0.009$. The difference between NAA levels in patients on the side without occlusion and healthy volunteers did not reach statistical significance ($p=0.08$). No statistically significant difference in NAA/Cho values was observed in patients between the side with occlusion (5.7 ± 0.9 mmol/kg) and without occlusion (5.9 ± 0.7 mmol/kg), $p=0.329$. A statistically significant difference was observed between NAA/Cho values at the side with occlusion in patients and healthy volunteers (6.3 ± 0.6 mmol/kg), $p=0.005$, and between NAA/Cho values at the side without occlusion in patients and healthy volunteers, $p=0.04$. Lac, Cho, Cr and their ratios showed no statistically significant difference between the affected and contralateral side, nor in comparison with healthy controls. Similarly, NAA/Cr or Cho/Cr values did not show statistically significant difference in the three groups. Three examples of spectra registered on the side of ICA occlusion, contralaterally and in a healthy subject are shown in Fig. 4.

Concerning the results of semi-automated hippocampal volumetry, intra-operator variability was 3%. The values were found to be significantly lower in the hemisphere with occlusion (3287 ± 410 mm³) compared to healthy volunteers

(3325 ± 350 mm³), ($p=0.049$). No significant difference of hippocampal volume values was observed in patients between the side with occlusion and the side without occlusion (3285 ± 417 mm³), ($p=0.954$). The difference between hippocampal volume in the contralateral side from occlusion and healthy volunteers showed a trend, approaching statistical significance ($p=0.051$).

Correlation analysis between BHI and ¹H-MRS parameters and hippocampal volume did not show any significant relationship. No significant difference was found between patient subgroups (symptomatic versus asymptomatic and patients with versus without contralateral stenosis).

Discussion

This study investigates a group of patients with unilateral occlusion of the ICA, who were asymptomatic or suffered a minor stroke in the past without residual disability. As expected, the BHI was significantly decreased in patients on the side of carotid occlusion. This result confirmed hemodynamic impairment of the ipsilateral hemisphere. The integration of metabolic ¹H-MRS and anatomic MR data revealed a more widespread impairment also involving the contralateral side.

The main spectroscopic alteration in patients with an ICA occlusion was found to be a significant reduction in NAA concentration on the side of the ICA occlusion compared to healthy controls and a significant reduction of NAA/Cho ratio in both hemispheres of the patient group compared to controls. Van der Grond et al. found the NAA/Cho ratio to be significantly reduced in the hemisphere ipsilateral to carotid occlusion due to higher Cho concentrations, but no difference in NAA values [12]. The discrepancy can be explained by a different methodology: the authors estimated metabolite intensities as pure peak heights, while this study evaluated quantitative MRS results. In the present study, the NAA was

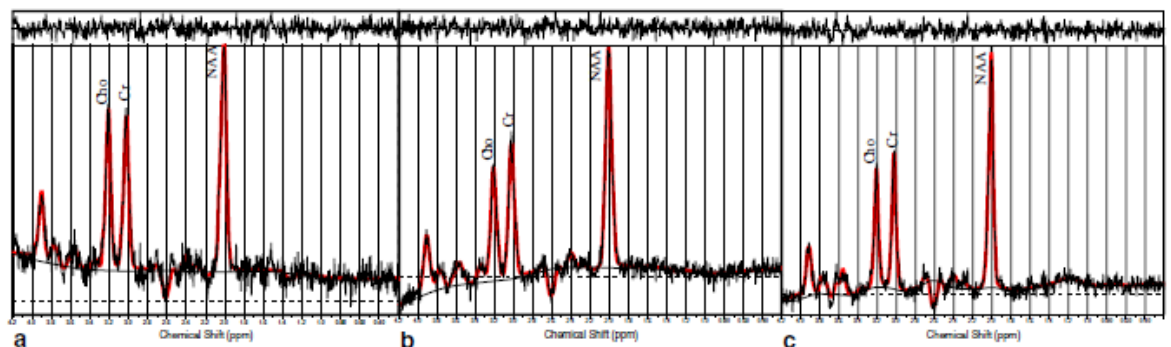


Fig. 4 Typical spectrum on the side of ICA occlusion (a), on the contralateral side (b) and in healthy control (c)

significantly decreased on the side of ICA occlusion; the contralateral decrease did not reach a significant difference compared to healthy subjects, however demonstrated a trend ($p=0.08$). The fact that the difference in NAA concentrations between the patients on the side without occlusion and the controls did not reach statistical significance may be the result of a small number of enrolled subjects.

Even though Cho concentration was not significantly higher in any of the hemispheres of patients in comparison with controls, the NAA/Cho ratio was significantly lower in both hemispheres. According to Zhang et al. NAA and NAA/Cho ratio was significantly lower only in the ipsilateral side of the ICA occlusion [32]. A different methodology may explain the discrepancy with the present results. The authors compared and statistically analyzed the relative metabolite concentrations calculated as metabolite under-the-peak areas ratio. In the present study the absolute concentration of each metabolite was obtained and used for statistical testing.

Due to the fact, that NAA is generally considered a neuroaxonal marker and Cho a marker of cell turnover or myelin damage, the results of this study suggest the presence of a neuronal dysfunction in both hemispheres of patients with ICA occlusion without significant active cell destruction. The decrease in NAA concentrations without significant increase of Cho are most likely the result of generalized mitochondrial dysfunction in the neurons of both hemispheres, rather than active neuronal loss, since NAA is synthesized in mitochondria [33]. These results suggest that the metabolic impairment of brain tissue in cases of chronic occlusion of a main arterial cerebral trunk may not be limited to the affected side but could also involve the contralateral hemisphere. Multiple factors can contribute to this bilateral affection. Firstly, the fact that unilateral occlusion of the main vessel for brain blood supply may cause impoverishment of the contralateral hemisphere via a steal phenomenon must be taken into account [34]. In the presence of occlusion on one side, blood flow is partly redirected from the healthy hemisphere to the affected side, subtly reducing supply to the hemisphere contralateral to occlusion. While this hemodynamic compensation may not be detectable at TCD examination, it may have an influence on brain metabolism of both hemispheres. Furthermore, the patho-physiologic mechanism leading to ischemic stroke in patients with ICA occlusion could involve a combination of macroscopic hemodynamic factors, which result in decreased perfusion on the affected side detectable by TCD examination, as well as microembolic or microangiopathic factors, which affect both hemispheres. Using this theory, it can be assumed that systemic cerebrovascular risk factors in the patient group might have contributed to the impairment of the contralateral hemisphere as suggested by Walker et al. [35]. In other words, chronic occlusion of a major cerebral vessel and the consequent hemodynamic impairment of the ipsilateral

hemisphere may be the macroscopic expression of a more generalized small vessel disease affecting both hemispheres. This hypothesis is further supported by Van der Grond et al., who found the mean NAA/choline ratio to be slightly lower in the asymptomatic hemisphere of patients with unilateral ICA lesion compared to healthy controls [12]. In their study the difference was not statistically significant, this may be due to a different method of estimation of metabolite signal intensities, as mentioned above. Similarly, in a cohort of patients before and after endarterectomy Saito et al. found the NAA/Cr ratio in the contralateral cerebral hemisphere was higher in patients with postoperatively improved cognition than in those with postoperatively unchanged or impaired cognition, suggesting bilateral metabolic damage in the presence of unilateral stenosis correlating with cognitive function [36].

Rutgers et al. performed quantitative ^1H -MRS measurements in symptomatic patients with ICA occlusion and found NAA significantly reduced on the side of vascular pathology compared to the contralateral hemisphere [37]. As previously mentioned, in the present study there was no significant difference in NAA between hemispheres. This discrepancy may be due to different inclusion criteria: Rutgers et al. enrolled symptomatic patients after a completed stroke which occurred 6 months or less before enrollment, whereas over one third of the patients in the present study were asymptomatic and the remainder suffered a minor neurological event 6 months or more prior to the ^1H -MRS examination. It can be assumed that shortly after an ischemic event, pronounced unilateral metabolic changes on the side of the lesion may prevail and thus overshadow more subtle bilateral impairment. These changes may eventually become detectable in the chronic phase, as well as in asymptomatic patients. Accordingly, Rutgers et al. found no significant inter-hemispheric difference in NAA concentration in the subgroup of three patients, which had symptoms of retinal ischemia without a hemispheric lesion. In line with these results, no significant differences were found between symptomatic and asymptomatic patients in the present study. The timing of enrolment likely played a major role: symptomatic patients were included in a chronic phase of the disease after a relatively long time from the symptomatic event, thus being, from a clinical and metabolic point of view, similar to asymptomatic patients. The sample size surely limits the power of this subgroup analysis.

Measurement of NAA concentration may be clinically significant, due to its possible association with cognition [38]. The reduction in NAA concentration has been related to impairment of cognitive function, which is described in patients with a symptomatic ICA occlusion [39]. Furthermore, a correlation has been already demonstrated between the volume of hippocampus and cognitive functions [40, 41] related to chronic hypoperfusion [42]. In accordance with

these studies, there was a statistically significant reduction of hippocampal volume in patients with ICA occlusion in comparison to healthy controls. Similarly to NAA changes, hippocampal volumes were lower in both hemispheres without significant differences between the affected and the contralateral side. Indeed, the difference between hippocampal volume in the contralateral side from occlusion and healthy volunteers approached statistical significance ($p=0.051$). In accordance with the results of the present study, Avelar et al. found significant atrophy in grey and white matter of both hemispheres in a cohort of 25 patients with severe carotid stenosis/occlusion in comparison with controls [43]. These bilateral anatomical changes, together with the metabolic alterations previously described, suggest that the altered hemodynamics on the affected side cannot entirely explain the complex pathological events occurring in patients with chronic occlusion of ICA.

No correlation between NAA concentration and cerebrovascular reactivity expressed by BHI was found in this study. This relationship has been previously investigated by other authors. Rutgers et al. did not find a significant association between NAA values and cerebrovascular reserve capacity evaluated by CO₂ inhalation test [37]. Lytghoe et al. also found no correlation between these factors [44]. Tsuchida et al. found a positive correlation between regional CBF measured by PET and the NAA/Cr ratio [45]. Their conclusions may differ from the results of the present study because the authors examined patients in an early stage of the ischemic disease, within 12 weeks of symptom onset. In these cases, metabolic features are expected to correlate more significantly with CBF. In the present study, no correlation between cerebral hemodynamics and NAA concentration in the chronic phase of ICA occlusion was found. This also suggests the presence of a pathological mechanism acting globally on the entire brain tissue, rather than unilaterally on the occluded side.

Among the four brain metabolites included in this analysis, estimation of Lac concentration was certainly the most challenging from a technical point of view. While possible interference with lipids resonating at 1.3 ppm and alanine was minimized by removing them from the original basis-set, chemical shift displacement artifacts remained an issue and may have played a confounding role in detection of Lac signal. Considering that the VOI position was computed using reference frequency 2.7 ppm and given the parameters of the refocusing pulses, the J-coupled Lac resonances at 1.33 and 4.09 were displaced of a distance approximately 7% (12% respectively) the size of the VOI in opposite direction, complicating the task of Lac estimation. Also, signal shape of Lac and J-coupled metabolites in volume localized MRS is inherently distorted due to differential refocusing of its coupled partners, as described by Yablonskiy et al. [46] Furthermore, absolute concentrations of Lac in brain tissue

are of one order of magnitude lower than those of NAA, Cho and Cr. For all of the above, error measures for Lac in this study are significantly higher than for other metabolites and interpretation of results from Lac quantification has to be considered with great caution. In the present series, patients with ICA occlusion showed no significant change in Lac concentrations in cerebral white matter on the ipsilateral hemisphere compared to the asymptomatic side and control subjects. It has been shown, that the concentration of Lac tends to increase in the white matter of subjects after an ischemic event [11–13]. The common feature of these studies is that the patients were enrolled in an earlier stage after the onset of symptoms, during which acute transition from oxidative metabolism to anaerobic glycolysis is expected in the ischemic area. In this phase, cerebral Lac is likely to be increased, whereas in a more chronic stage it is expected to decrease due to normalization of CBF and quick wash-out of higher levels of hyper-produced molecules. Few publications exist demonstrating the presence of Lac even in a chronic phase of cerebral hypoperfusion. Examples include Zhang et al. who report a peak of Lac in nearly 20% of patients with chronic stenosis or occlusion of ICA [32], or Bakker et al. who report a percentage reaching 35% [47]. There was no significant difference in Lac concentrations between patients and healthy controls in the present study. This discrepancy may be due to a different methodological approach: in both cited papers the authors registered the presence or absence of an inverted double peak at 1.33 ppm with a signal-to-noise ratio higher than two, without calculating absolute Lac concentrations. In this study, quantitative ¹H-MRS measurements of the absolute concentrations of Lac were performed and used for statistical analysis.

In conclusion, this study shows that patients with unilateral occlusion of the ICA present with bilateral reduction of NAA/Cho ratio in the white matter and bilateral hypotrophy of the hippocampus. Altered hemodynamics alone cannot explain the metabolic and anatomical changes occurring in both hemispheres of patients with unilateral ICA occlusion. Indeed, the present study has certain limitations. Mainly, the relatively small number of patients inherently weakens the strength of statistical analysis. Secondly, approximately one third of patients in this cohort showed some degree of carotid stenosis (under 50%) on the contralateral side. In a clinical scenario, carotid stenosis under 50% is considered irrelevant, as it is not associated with a higher risk of stroke [48]. In a research set though, where subtle metabolic and anatomic changes were detected with a highly sensitive ¹H-MRS and volumetric protocol, this difference between patient and control groups, where the hemisphere chosen for analysis was ipsilateral to a carotid artery without any degree of stenosis, may have had an influence on the results. Furthermore, chronic hemodynamic impairment of brain tissue in patients may have caused changes in water content, T1 or

T2 relaxation times of metabolites or water, thus potentially affecting metabolite quantification. Finally, the observational character of the study without prospective follow up does not allow us to draw any conclusions about the prognostic value of the collected variables. Further prospective studies investigating relationships between impaired brain hemodynamics, metabolic changes, anatomic features and the risk of stroke are required to potentially identify high-risk patients and tailor preventive measures.

Acknowledgments Supported by Ministry of Health, Czech Republic—conceptual development of research organization (“Institute for Clinical and Experimental Medicine—IKEM, IN 00023001”). The authors thank Jan Lodin, M.D. for English language revision.

Author contributions AM analysis and interpretation of data, drafting of manuscript. AS acquisition of data, analysis and interpretation of data, drafting of manuscript. SO acquisition of data. AT study conception and design, critical revision. BU acquisition of data. LM analysis and interpretation of data. IB acquisition of data. MM acquisition of data. DN critical revision. JH study conception and design, critical revision. JS acquisition of data. JV acquisition of data. TM analysis and interpretation of data, critical revision. RB critical revision. MS critical revision. MH study conception and design, critical revision. DH study conception and design, critical revision.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval All procedures performed in this study involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The study was approved by the Joint Ethics Committee of the Institute for Clinical and Experimental Medicine and Thomayer Hospital.

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

- Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, Zheng Z-J, Flegal K, O'Donnell C, Kittner S, Lloyd-Jones D, Goff DC, Hong Y, Adams R, Friday G, Furie K, Gorelick P, Kissela B, Marler J, Meigs J, Roger V, Sidney S, Sorlie P, Steinberger J, Wasserthiel-Smoller S, Wilson M, Wolf P, American Heart Association Statistics Committee, and Stroke Statistics Subcommittee (2006) Heart disease and stroke statistics—2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 113:e85–e151
- Ergin A, Muntner P, Sherwin R, He J (2004) Secular trends in cardiovascular disease mortality, incidence, and case fatality rates in adults in the United States. *Am J Med* 117:219–227
- Petty GW, Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, O'Fallon WM, Wiebers DO (1999) Ischemic stroke subtypes: a population-based study of incidence and risk factors. *Stroke* 30:2513–2516
- Rautenberg W, Mess W, Hennerici M (1990) Prognosis of asymptomatic carotid occlusion. *J Neurol Sci* 98:213–220
- Klijn CJ, Kappelle LJ, Tulleken CA, van Gijn J (1997) Symptomatic carotid artery occlusion. A reappraisal of hemodynamic factors. *Stroke* 28:2084–2093
- Derdeyn CP, Yundt KD, Videen TO, Carpenter DA, Grubb RL, Powers WJ (1998) Increased oxygen extraction fraction is associated with prior ischemic events in patients with carotid occlusion. *Stroke* 29:754–758
- Grubb RL, Derdeyn CP, Fritsch SM, Carpenter DA, Yundt KD, Videen TO, Spitznagel EL, Powers WJ (1998) Importance of hemodynamic factors in the prognosis of symptomatic carotid occlusion. *JAMA* 280:1055–1060
- Kuroda S, Houkin K, Kamiyama H, Mitsumori K, Iwasaki Y, Abe H (2001) Long-term prognosis of medically treated patients with internal carotid or middle cerebral artery occlusion: can acetazolamide test predict it? *Stroke* 32:2110–2116
- Romero JR, Beiser A, Seshadri S, Benjamin EJ, Polak JF, Vasan RS, Au R, DeCarli C, Wolf PA (2009) Carotid artery atherosclerosis, MRI indices of brain ischemia, aging, and cognitive impairment: the Framingham study. *Stroke* 40:1590–1596
- Hellström J, Romanos Zapata R, Libard S, Wikström J, Ortiz-Nieto F, Alafuzoff I, Raininko R (2018) The value of magnetic resonance spectroscopy as a supplement to MRI of the brain in a clinical setting. *PLoS ONE* 13:e0207336
- Giroud M, Walker P, Guy F, Lemesle M, Lalande A, Baudouin N, Martin D, Couveur G, Brunotte F (1999) Cerebral metabolism after transient ischemic attack. A 1H MR spectroscopy study. *Neurol Res* 21:563–565
- van der Grond J, Balm R, Kappelle LJ, Eikelboom BC, Mali WP (1995) Cerebral metabolism of patients with stenosis or occlusion of the internal carotid artery. A 1H-MR spectroscopic imaging study. *Stroke* 26:822–828
- Muñoz Maniega S, Cvorov V, Chappell FM, Armitage PA, Marshall I, Bastin ME, Wardlaw JM (2008) Changes in NAA and lactate following ischemic stroke: a serial MR spectroscopic imaging study. *Neurology* 71:1993–1999
- Markus HS, Harrison MJ (1992) Estimation of cerebrovascular reactivity using transcranial Doppler, including the use of breath-holding as the vasodilatory stimulus. *Stroke* 23:668–673
- Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N, Rosen B, Dale AM (2002) Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 33:341–355
- Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, Gerig G (2006) User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *NeuroImage* 31:1116–1128
- Pantel J, O'Leary DS, Cretsingher K, Bockholt HJ, Keefe H, Magnotta VA, Andreasen NC (2000) A new method for the in vivo volumetric measurement of the human hippocampus with high neuroanatomical accuracy. *Hippocampus* 10:752–758
- Konrad C, Ukas T, Nebel C, Arolt V, Toga AW, Narr KL (2009) Defining the human hippocampus in cerebral magnetic resonance images—an overview of current segmentation protocols. *NeuroImage* 47:1185–1195
- Haase A, Frahm J, Hanicke W, Matthaei D (1985) ¹H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging. *Phys Med Biol* 30:341–344
- Ogg RJ, Kingsley RB, Taylor JS (1994) WET, a T1- and B1-insensitive water-suppression method for in vivo localized ¹H NMR spectroscopy. *J Magn Reson Ser B* 104:1–10
- Provencher SW (1993) Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 30:672–679
- Klose U (1990) In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents. *Magn Reson Med* 14:26–30

23. Bak M, Rasmussen JT, Nielsen NC (2000) SIMPSON: a general simulation program for solid-state NMR spectroscopy. *J Magn Reson* 147:296–330
24. Gasparovic C, Song T, Devier D, Bockholt HJ, Caprihan A, Mullins PG, Posse S, Jung RE, Morrison LA (2006) Use of tissue water as a concentration reference for proton spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 55:1219–1226
25. Posse S, Otazo R, Caprihan A, Bustillo J, Chen H, Henry P-G, Marjanska M, Gasparovic C, Zuo C, Magnotta V, Mueller B, Mullins P, Renshaw P, Ugurbil K, Lim KO, Alger JR (2007) Proton echo-planar spectroscopic imaging of J-coupled resonances in human brain at 3 and 4 Tesla. *Magn Reson Med* 58:236–244
26. Wansapura JP, Holland SK, Dunn RS, Ball WS (1999) NMR relaxation times in the human brain at 3.0 tesla. *J Magn Reson Imaging* 9:531–538
27. Ethofer T, Mader I, Seeger U, Helms G, Erb M, Grodd W, Ludolph A, Klose U (2003) Comparison of longitudinal metabolite relaxation times in different regions of the human brain at 1.5 and 3 Tesla. *Magn Reson Med* 50:1296–1301
28. Friston KJ (2007) Statistical parametric mapping: the analysis of functional brain images, 1st edn. Elsevier/Academic Press, Amsterdam, Boston
29. Isobe T, Matsumura A, Anno I, Kawamura H, Shibata Y, Muraishi H, Minami M (2007) Lactate quantification by proton magnetic resonance spectroscopy using a clinical MRI machine: a basic study. *Australas Radiol* 51:330–333
30. Träber F, Block W, Lamerichs R, Gieseke J, Schild HH (2004) 1H metabolite relaxation times at 3.0 tesla: Measurements of T1 and T2 values in normal brain and determination of regional differences in transverse relaxation. *J Magn Reson Imaging* 19:537–545
31. Ernst T, Hennig J (1991) Coupling effects in volume selective 1H spectroscopy of major brain metabolites. *Magn Reson Med* 21:82–96
32. Zhang M, Lu J, Jiao L, Ma Q, Li K (2011) Proton magnetic resonance spectroscopy in patients with symptomatic unilateral internal carotid artery/middle cerebral artery stenosis or occlusion. *J Magn Reson Imaging* 34:910–916
33. Rutgers DR, Klijn CJ, Kappelle LJ, van der Grond J (2000) Cerebral metabolic changes in patients with a symptomatic occlusion of the internal carotid artery: a longitudinal 1H magnetic resonance spectroscopy study. *J Magn Reson Imaging* 11:279–286
34. Sharma VK, Tsiygoulis G, Ning C, Teoh HL, Bairaktaris C, Chong VF, Ong BK, Chan BP, Sinha AK (2008) Role of multimodal evaluation of cerebral hemodynamics in selecting patients with symptomatic carotid or middle cerebral artery steno-occlusive disease for revascularization. *J Vasc Interv Neurol* 1:96–101
35. Walker PM, Ben Salem D, Giroud M, Brunotte F (2006) Is NAA reduction in normal contralateral cerebral tissue in stroke patients dependent on underlying risk factors? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:596–600
36. Saito H, Ogasawara K, Nishimoto H, Yoshioka Y, Murakami T, Fujiwara S, Sasaki M, Kobayashi M, Yoshida K, Kubo Y, Beppu T, Ogawa A (2013) Postoperative changes in cerebral metabolites associated with cognitive improvement and impairment after carotid endarterectomy: a 3T proton MR spectroscopy study. *AJNR Am J Neuroradiol* 34:976–982
37. Rutgers DR, van Osch MJP, Kappelle LJ, Mali WPTM, van der Grond J (2003) Cerebral hemodynamics and metabolism in patients with symptomatic occlusion of the internal carotid artery. *Stroke* 34:648–652
38. Valenzuela MJ, Sachdev PS, Wen W, Shnier R, Brodaty H, Gillies D (2000) Dual voxel proton magnetic resonance spectroscopy in the healthy elderly: subcortical-frontal axonal N-acetylaspartate levels are correlated with fluid cognitive abilities independent of structural brain changes. *Neuroimage* 12:747–756
39. Bakker FC, Klijn CJ, Jennekens-Schinkel A, Kappelle LJ (2000) Cognitive disorders in patients with occlusive disease of the carotid artery: a systematic review of the literature. *J Neurol* 247:669–676
40. Lojkowska W, Sawicka B, Gugala M, Sienkiewicz-Jarosz H, Bochynska A, Scinska A, Korkosz A, Lojek E, Ryglewicz D (2011) Follow-up study of olfactory deficits, cognitive functions, and volume loss of medial temporal lobe structures in patients with mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res* 8:689–698
41. Persson J, Pudas S, Lind J, Kauppi K, Nilsson L-G, Nyberg L (2012) Longitudinal structure-function correlates in elderly reveal MTL dysfunction with cognitive decline. *Cereb Cortex* 22:2297–2304
42. Cechetti F, Pagnussat AS, Worm PV, Elsner VR, Ben J, da Costa MS, Mestriner R, Weis SN, Netto CA (2012) Chronic brain hypoperfusion causes early glial activation and neuronal death, and subsequent long-term memory impairment. *Brain Res Bull* 87:109–116
43. Avelar WM, D'Abreu A, Coan AC, Lima FO, Guimarães R, Yasuda CL, Oliveira GP, Guillaumon AT, Filho AA, Min LL, Cendes F (2015) Asymptomatic carotid stenosis is associated with gray and white matter damage. *Int J Stroke* 10:1197–1203
44. Lythgoe D, Simmons A, Pereira A, Cullinane M, Williams S, Markus HS (2001) Magnetic resonance markers of ischaemia: their correlation with vasodilatory reserve in patients with carotid artery stenosis and occlusion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 71:58–62
45. Tsuchida C, Kimura H, Sadato N, Tsuchida T, Tokuriki Y, Yonekura Y (2000) Evaluation of brain metabolism in steno-occlusive carotid artery disease by proton MR spectroscopy: a correlative study with oxygen metabolism by PET. *J Nucl Med* 41:1357–1362
46. Yablonskiy DA, Neil JJ, Raichle ME, Ackerman JHH (1998) Homonuclear J coupling effects in volume localized NMR spectroscopy: Pitfalls and solutions. *Magn Reson Med* 39:169–178
47. Bakker FC, Klijn CJM, Jennekens-Schinkel A, van der Tweel I, van der Grond J, van Huffelen AC, Tulleken CAF, Kappelle LJ (2003) Cognitive impairment is related to cerebral lactate in patients with carotid artery occlusion and ipsilateral transient ischemic attacks. *Stroke* 34:1419–1424
48. Fine-Edelstein JS, Wolf PA, O'Leary DH, Poehlman H, Belanger AJ, Kase CS, D'Agostino RB (1994) Precursors of extracranial carotid atherosclerosis in the Framingham study. *Neurology* 44:1046–1046

Retrospektivní autoevaluace výsledků operací intrinsických mozkových nádorů – konsektivní kohorta 270 operací v rámci jednoho neurochirurgického centra NOS ČOS (Neuroonkologické sekce České onkologické společnosti) z let 2015–2017

Retrospective autoevaluation of the results of intrinsic brain tumor surgeries – consecutive cohort of 270 surgeries within one neurosurgical center of the NOS ČOS (Neurooncological section of the Czech Oncology Society) from 2015–2017

Souhrn

Cíl: Retrospektivní hodnocení neselektované kohorty dospělých pacientů s intrinsickými mozgovými nádory operovaných v Ústí nad Labem v letech 2015–2017 se zaměřením na hodnocení pooperační morbidity. **Soubor a metodika:** Mezi základní hodnocené proměnné patřily neurologická morbidita, vytvoření likvorového depa nebo délka hospitalizace. V podskupině pacientů s vysokostupňovými gliomy byly dále také hodnoceny parametry organizace další onkologické terapie, jako je čekací doba do zahájení radioterapie, a dále parametry celkového přežití. **Výsledky:** Celkem bylo provedeno 270 operací (průměrný věk 60 let, 59 % mužů). Operace nově diagnostikovaných glioblastomů (GBM) představovaly 37,4 %, metastáz 32,6 %. Těžká neurologická morbidita byla u 18 pacientů (6,7 %). Likvorové depo bylo diagnostikováno u 13 % pacientů. Průměrná délka hospitalizace byla 6,6 dne. Plnou onkologickou léčbu absolvovalo 30 % pacientů. Medián do zahájení radioterapie byl 46 dnů po operaci (bez vlivu na přežití). Medián celkového přežití pacientů s GBM byl 8,8 měsíce (95% CI 2,2–13,4). Signifikantně delší celkové přežití měli pacienti schopní podstoupit léčbu Stuppovým režimem (22,6 vs. 4,3 měsíce, $p < 0,001$), po resekci vs. biopsii (12,4 vs. 4 měsíce, $p < 0,001$) a pacienti ≤ 60 let (19,4 vs. 5,1 měsíce, $p < 0,001$). **Závěr:** V našem souboru neuroonkologických pacientů jsme pozorovali celkově nízkou pooperační morbiditu. Autoevaluace vlastních výsledků je nedílnou součástí komplexní neurochirurgické péče.

Klíčová slova

neuroonkologie – mozkový nádor – operace – radioterapie

Key words

neurooncology – brain tumor – neurosurgery – radiotherapy

Tato práce byla částečně podpořena Ministerstvem zdravotnictví ČR – Konceptní rozvoj výzkumné organizace (MMCI 00209805).

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.

R. Bartoš^{1,2}, D. Ospalík³, A. Malucelli¹, P. Vachata¹, M. Sameš¹, T. Kazda^{4,5}, D. Smejkalová-Musilová⁶, F. Třebický⁷

¹ Neurochirurgická klinika UJEP a Masarykova nemocnice, KZ a.s., Ústí nad Labem

² Anatomický ústav, 1. LF UK, Praha

³ Neurologické oddělení, Masarykova nemocnice, KZ a.s., Ústí nad Labem

⁴ Klinika radiální onkologie Masarykova onkologického ústavu, Brno

⁵ Klinika radiální onkologie LF MU, Brno

⁶ Onkologické oddělení, Komplexní onkologické centrum, Masarykova nemocnice, KZ a.s., Ústí nad Labem

⁷ Ústav radiální onkologie, Nemocnice na Bulovce, Praha,



MUDr. Robert Bartoš, Ph.D.
Neurochirurgická klinika UJEP
a Masarykova nemocnice, KZ a.s.
Sociální péče 3316/12A
400 11 Ústí nad Labem
e-mail: robert.bartos@kzcr.eu

Přijato k recenzi: 6. 3. 2019

Přijato do tisku: 3. 6. 2019

Abstract

Aim: Retrospective evaluation of a consecutive cohort of adult intrinsic brain tumor patients operated in Ústí nad Labem (Czech Republic) from 2015 to 2017 focusing on the assessment of postoperative morbidity. *Patients and Methods:* Basic evaluated variables included neurological morbidity, subgaleal cerebrospinal fluid collection or duration of hospitalization. In the subgroup of patients with high-grade gliomas, the parameters of the organization of subsequent oncological care, such as the waiting time until the start of radiotherapy were evaluated, together with overall survival estimations. *Results:* A total of 270 surgeries were performed (average age 60 years, 59% men). Newly diagnosed glioblastomas (GBM) represented 37.4% of the surgeries, while metastases were 32.6% of the total. Severe neurological morbidity was observed in 18 patients (6.7%). Subgaleal cerebrospinal fluid collection was diagnosed in 13% of patients. The average length of hospitalization was 6.6 days. About 30% of patients underwent complete oncological treatment. The median waiting time for radiotherapy was 46 days after surgery (no effect on overall survival). The median overall survival of patients with GBM was 8.8 months (95% CI 2.2–13.4). Significantly longer overall survival was observed in patients who were able to undergo treatment according to the Stupp regimen (22.6 vs. 4.3 months, $P < 0.001$), those after resection vs. biopsy (12.4 vs. 4 months, $P < 0.001$) and younger patients ≤ 60 years (19.4 vs. 5.1 months, $P < 0.001$). *Conclusion:* We observed overall low postoperative morbidity in our cohort of neurooncology patients. Self-evaluation of results is an integral part of complex neurosurgical care.

Úvod

Operační výkon je důležitou součástí komplexní multidisciplinární léčby primárních i sekundárních mozkových nádorů. Přestože jsou tyto nádory, v porovnání s ostatními onkologickými diagnózami, považovány za vzácná onemocnění, představují svou lokalizací v CNS závažný zdravotní problém s vysokou morbiditou a mortalitou. U primárních mozkových nádorů je neurochirurgický výkon důležitý nejen k získání biologického materiálu pro přesné určení histopatologického nálezu, vč. popisu molekulárně-biologických charakteristik zohledněných v aktuální integrované diagnostice dle klasifikace Světové zdravotnické organizace z roku 2016 [1]. Samotná operace je také důležitou cytoredukční léčbou s prokázaným vlivem na celkové přežití, minimálně u pacientů s nejčastějšími primárními gliomy – gliomy vyššího stupně malignity (high grade gliom; HGG) [2–4]. Cílem neurochirurgické léčby HGG je také dosažení maximální možné resekce při zachování kvality života [5], resp. bez nového iatrogenního pooperačního neurologického deficitu. V případě mozkových metastáz je operace zvažována především u pacientů s limitovaným extrakraniálním onemocněním a se symptomatickou objemnou mozkovou metastázou doprovázenou kolaterálním edémem, kde nelze očekávat výraznější efekt samotné paliativní radiotherapie. V současné době na významu nabývá také molekulárně-biologické hodnocení prediktivních markerů pro indikaci následné cílené biologické léčby nebo jiné formy moderní onkologické systémové terapie, kdy je popisována výrazná genetická diverzifikace při srovnání molekulárního profilu původního primárního tumoru a metastatického onemocnění [6].

S výjimkou benigních mozkových nádorů tak představuje neurochirurgie pouze první, zato nejdůležitější část komplexní onkologické léčby. Důležitým aspektem kvalitní neurochirurgické péče je tedy také zajistit a umožnit následnou terapii onkologickou, sestávající v případě nejčastějších HGG z kombinace adjuvantní radiotherapie a chemoterapie temozolomidem s cílem ovlivnění mikroskopické choroby, resp. případného makroskopického residua.

Základním předpokladem další optimalizace neurochirurgické léčby v rámci denní klinické praxe je autoevaluace vlastních pacientů se zaměřením nejen na radikalitu a toxicitu samotného neurochirurgického výkonu, ale také se zaměřením na zajištění zmiňované následné komplexní onkologické léčby [7–9]. Vyhodnocení vlastních léčebných výsledků je rovněž důležité pro zpětnou vazbu při hraničních indikacích [10]. Cílem této práce bylo retrospektivní hodnocení neselektované kohorty dospělých pacientů operovaných pro intrinsické nádory na Neurochirurgické klinice v Ústí nad Labem (NKUnL) v letech 2015–2017 se zaměřením na výše uvedené parametry kvality poskytované zdravotní péče. Mezi hlavní otázky, definované také v rámci doporučených autoevaluačních procesů Neuroonkologické sekce České onkologické společnosti, patří:

1. Jaké jsou pooperační komplikace celkové, neurologické a lokální?
2. Jaká část našich pacientů jde po operaci přímo domů a kolik dní tyto pacienti stráví v nemocnici? Jaká část pacientů potřebuje další hospitalizaci na jiném pracovišti?
3. Kolik a kteří pacienti s vysokostupňovým gliomem jsou následně onkologicky léčeni a absolvují předepsanou terapii? Za jak dlouho jim je léčba zajištěna?

4. Kolik pacientů je následně graficky a klinicky dispenzarizováno neurochirurgem 3 měsíce po operaci?

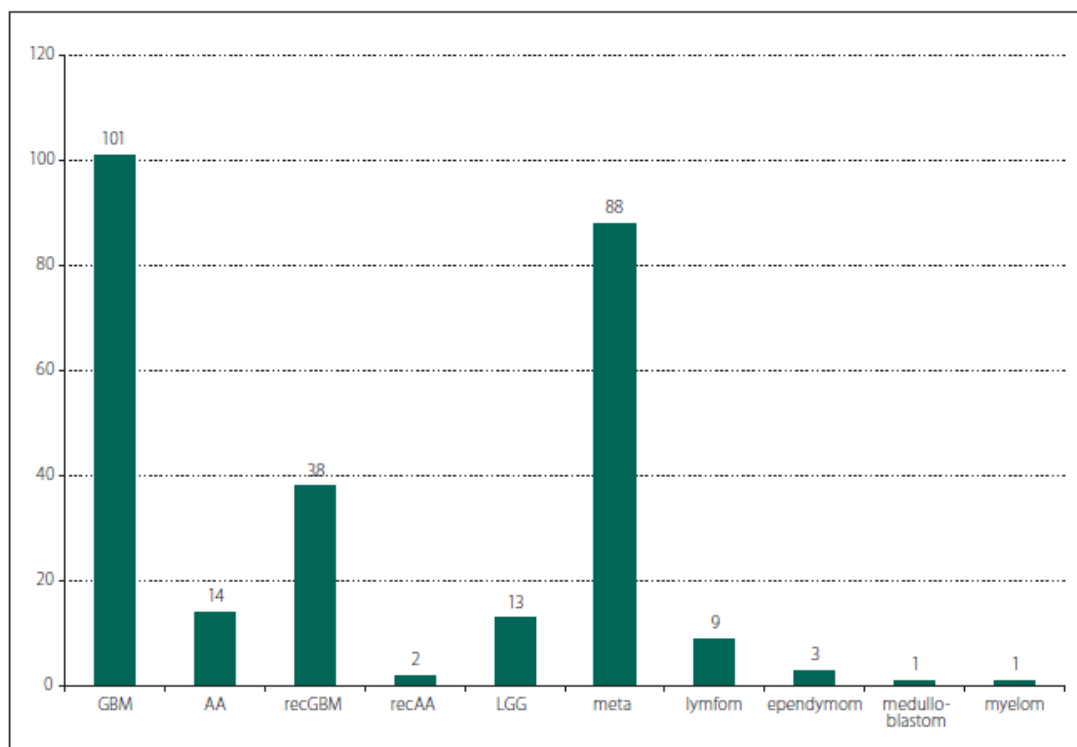
Zafazení metastáz a následně vyhodnocení rizika operačního výkonu je důležité ke komplexní představě o portfoliu operačních výkonů v rámci autoevaluace operační léčby konsektivní série pacientů. Základní metodika operování u gliomu a metastázy je podobná (identická rizika kraniotomie, riziko krvácení do dutiny, riziko komplikace likvorovým depem). Bližší charakteristika pacientů s mozkovými metastázami vč. vyhodnocení léčebných výsledků nebo srovnání s radiotherapií již není předmětem tohoto sdělení.

**Pacienti a metody
Soubor pacientů**

Hodnocena byla konsektivní kohorta všech onkologických pacientů operovaných na NKUnL v období od 1. 1. 2015 do 31. 12. 2017. Vylučujícím kritériem byly intrinsické nádory u dětí a mladistvých do 18 let. Do analýzy nebyli zařazeni pacienti, u kterých bylo nakonec na základě definitivního histopatologického vyšetření přes nejednoznačný předoperační nálezn na MR diagnostikováno nenádorové onemocnění.

**Hodnocené parametry kvality
neurochirurgické péče**

Neurologická pooperační iatrogenní morbidita (fatická porucha, hemiparéza, hemiplegie, vegetativní stav, dysfagie, změny zorného pole) byla dělena na lehkou (umožňující pacientovi soběstačnou péči o sebe a neomezující jej příliš v běžných aktivitách) a těžkou, kdy došlo k těžkému poškození neurologických funkcí a pacient byl po operaci nesoběstačný. Z pooperačních komplikací



Obr. 1. Přehled operovaných nádorů dle histopatologické diagnózy.

AA – anaplastický astrocytom; GBM – multifonní glioblastom; LGG – nízkostupňový gliom; meta – metastáza; myelom – myelom kosti s prorůstáním intraparenchymově; recAA – recidiva anaplastického astrocytomu; recGBM – recidiva multifonního glioblastomu

Fig. 1. Survey of the operated tumors according to the histopathological diagnosis.

AA – anaplastic astrocytoma; GBM – glioblastoma multiforme; LGG – low grade glioma; meta – metastasis; myelom – myeloma of the skull growing intraparenchymally; recAA – recurrence of anaplastic astrocytoma; recGBM – recurrence of glioblastoma multiforme

byly krom standardních ranných komplikací zvlášť hodnoceny také vytvoření likvorového podkožního depa a management jeho řešení. Tyto komplikace mají vliv na dobu hospitalizace pacienta po náročné operaci. Byly sledovány délka hospitalizace a další směřování pacienta (dimise domů vs. překlad na jiné pracoviště; arbitrárně považujeme za optimální dobu propuštění pacienta do 10. dne po operaci včetně, jedná se o běžný termín extrakce stehů nebo svorek z operační jizvy).

Pacienti s gliomy vyššího stupně malignity

U pacientů s HGG byly dále hodnoceny parametry organizace a zajištění další onkologické terapie, jako dokončení plné onkologické terapie (tzv. Stuppův protokol sestávající z normofrakcionované radioterapie

v dávce $30 \times 2,0$ Gy s konkomitantní chemoterapií temozolomidem v denní dávce 75 mg/m^2 v den D1–49, následované 28denními cykly samotné adjuvantní chemoterapie temozolomidem v dávce $150\text{--}200 \text{ mg/m}^2$ ve dnech D1–5 [11,12]) bylo definováno absolvování alespoň čtyř cyklů adjuvantní chemoterapie po kompletní chemoradioterapii. V této podskupině pacientů s glioblastomem (GBM) a anaplastickým astrocytosem byly hodnoceny také parametry celkového přežití, počet pacientů, kteří zahájí adjuvantní zevní radioterapii, počet pacientů, kteří ji v plánované dávce dokončí, počet pacientů, kteří zahájí následnou adjuvantní chemoterapii a kteří dokončí alespoň čtyři cykly.

Statistické zpracování

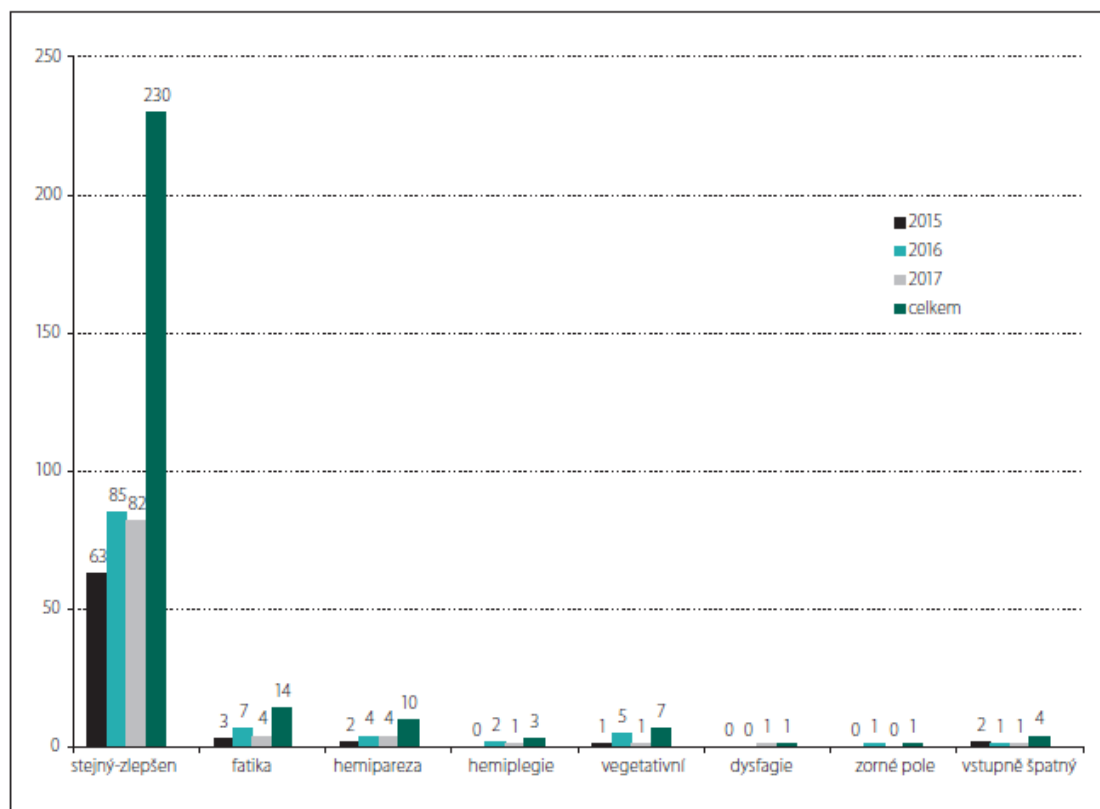
Základní deskriptivní statistiky (počty a procenta pro kategoriální data a medián a roz-

sah pro spojitá data) byly použity pro základní popis souboru pacientů. Celkové přežití (počítané od data operace do doby úmrtí, resp. do data poslední kontroly u cenzorovaných pacientů) u pacientů s GBM bylo hodnoceno dle Kaplan-Meierova odhadu přežití (log rank test – srovnání celkového přežití dle základních prognostických faktorů, jako jsou věk v době diagnózy, typ operačního výkonu, absolvovaná léčba a doba do jejího zahájení).

Výsledky

Základní charakteristika pacientů

Ve sledovaném období 3 let bylo provedeno celkem 270 operací intrinsických mozkových nádorů. Průměrný věk pacientů byl 60 let (rozmezí 24–82 let), 160 mužů (59 %). Největší zastoupení mělo 101 operací nově diagnostikovaného GBM (37,4 %), dále



Obr. 2. Přehled neurologického obrazu a neurologických komplikací po výkonech v jednotlivých letech a souhrnu.

fatika – fatická porucha; stejný-zlepšen – stejný nebo zlepšený stav; vegetativní – vegetativní stav; vstupně špatný – vstupně špatný neurologický stav; zorné pole – zhoršení zorného pole

Fig. 2. Overview of the neurological state and neurological complications after the surgeries during individual years and in the total set of patients.

fatika – speech dysfunction; stejný-zlepšen – the same or improved state; vegetativní – vegetative state; vstupně špatný – initially bad neurological state; zorné pole – worsening of the visual field

88 operací mozkových metastáz (32,6 %) a 38 operací recidiv GBM (14,1 %). Ostatní operované diagnózy jsou shrnuty v obr. 1. Celkový počet operací pro vysokostupňový gliom (vč. anaplastických astrocytomů a reoperací) byl 155 (57,4 %). Resekčních operací bylo 243 (90 %), v ostatních případech se jednalo o bioptické výkony (jehlové, nebo otevřené).

Nežádoucí účinky neurochirurgických výkonů

Přehled neurologické morbidity za jednotlivé roky je shrnut v obr. 2. Celkem 230 operací (85,2 %) proběhlo nekomplikovaně a neurologický stav pacienta byl po operaci stejný nebo zlepšen. Některé typy neu-

rologických poruch, především fatická porucha (celkem 14 pacientů) a hemiparéza (celkem 10 pacientů), se vyskytovaly po některých operacích v kombinaci. Těžká neurologická morbidita byla pozorována u 18 pacientů (6,7 %). Do této skupiny patří všech 7 pacientů ve vegetativním stavu (7/270; 2,6 %; 7/18; 39 %), tento stav nastal z důvodu operací komplikujícího hydrocefalu, edému či krvácení a tento deficit je nadřazen jinému, event. současnému neurotopickému deficitu. Dále se jedná o 3 po operaci hemiplegické pacienty, 4 pacienty s těžkou hemiparézou a 3 s těžkou pooperační fatickou poruchou. Poslední je pacientka s GBM a pooperační hemianopsií podmíněnou ischemií arteria cerebri posterior, nikoli resekci

nádoru v kalkaninní oblasti. Po operacích nízkostupňových gliomů (LGG) jsme neznamenali trvalý neurologický deficit, byt u jedné pacientky přetrvával těžký syndrom suplementární motorické oblasti (fatická porucha, hemiparéza) po dobu jednoho měsíce po operaci a u další pacientky po resekci LGG v oblasti limbického systému byla popsána výrazná krátkodobá změna psychického ladění.

Likvorové depo bylo diagnostikováno a léčeno celkem po 35 operacích (13 %), v 7 případech (20 %) s nutností revize, v 8 případech (23 %) bylo řešeno přechodným zavedením lumbální drenáže, v 10 případech (29 %) kompresí a punkcemi a po stejném počtu operací pouhou kompresí. Infekční

komplikace jsme řešili po 19 operacích (7 %), v 11 případech s nutností revize operačního pole (58 %) pro osteomyelitidu kostní plochéky nebo absces.

Tři pacienti (1 %) během hospitalizace v naší nemocnici časně po operaci zemřeli, 140 pacientů (52 %) odešlo po operaci přímo domů či do péče rodinného příslušníka (91 % pacientů bylo propuštěno mezi 2.–10. dnem, průměrně za 6,6 dne (obr. 3). Ostatní pak byli přeloženi k následné hospitalizaci na jiné oddělení. Maximální doba hospitalizace na našem pracovišti byla 26 dní po operaci, a to u pacienta po resekcí recidivy GBM s nutností řešení pooperační epilepsie a likvorového děpa.

Následná léčba u pacientů s gliomy vyššího stupně malignity

Primooperací vysokostupňového gliomu podstoupilo celkem 115 pacientů (43 %), z toho 101 pacientů s GBM (88 %). Celkem 68 % pacientů s HGG zahájilo adjuvantní zevní radioterapii, 88 % z nich ji dokončilo v plánované dávce. Celkem 40 % pacientů po operaci HGG pak zahájilo následnou adjuvantní chemoterapii a 76 % z nich absolvovalo alespoň čtyři cykly. Celkem tedy plnou onkologickou terapii podstoupilo 30 % pacientů s nově diagnostikovaným HGG. V podskupině 18 pacientů, kteří byli indikováni pouze k biopsii, která verifikovala diagnózu HGG (19 biopsií; 1x opakovaně pro nevytěžnost), dokončilo adjuvantní zevní radioterapii 5 pacientů (28 %) a žádný z nich nedokončil čtyři cykly následné chemoterapie. Obr. 4 znázorňuje tato data v rozdělení na jednotlivé roky stanovení diagnózy. Medián doby do zahájení radioterapie byl 46 dní po operaci (IQR 36–54 dní; rozmezí 23–84 dní – u pacientky, která prodělala závažnou operační komplikaci s hemiplegií). U pacientů po resekcii se jednalo o medián 47 dní (IQR 37–53 dní) a u pacientů po biopsii o medián 37 dní (IQR 33–57 dní). V podskupině pacientů léčených Stuppovým režimem byl medián doby do zahájení radioterapie 45 dní (IQR 37–51 dní).

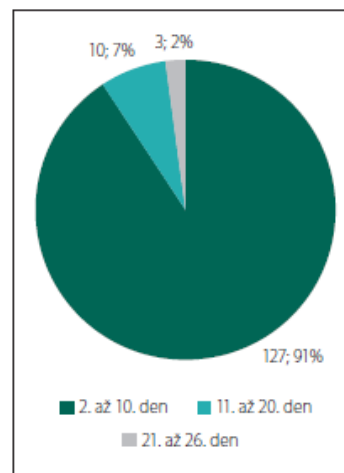
Při mediánu sledování 22 měsíců byl medián celkového přežití (median overall survival; mOS) souboru pacientů s GBM 8,8 měsíce (95% CI 2,2–13,4 měsíce). Odhad jednoletého celkového přežití u pacientů s GBM byl 44 %, dvouletého celkového přežití 16 %. Pacienti schopní léčby Stuppovým režimem měli signifikantně delší celkové přežití než pacienti, kteří tuto léčbu neabsolvovali (mOS 22,6 vs. 4,3 měsíce, $p < 0,001$). Signifikantní rozdíl byl také při srovnání cel-

kového přežití dle rozsahu operace (mOS 12,4 měsíce po resekcii vs. 4 měsíce po biopsii, $p < 0,001$). Mladší pacienti (≤ 60 let) měli signifikantně delší celkové přežití (mOS 19,4 vs. 5,1 měsíce, $p < 0,001$). Čas do zahájení radioterapie neměl v našem souboru vliv na celkové přežití. V podskupině pacientů léčených dle Stuppova režimu (medián doby do zahájení radioterapie 45 dnů) bylo celkové přežití srovnatelné u pacientů s delší dobou do zahájení (> 45 dnů; mOS 22,6 měsíců, 95% CI 16,9–28,3) a u pacientů s kratší dobou (≤ 45 dnů; mOS 23,4 měsíců, 95% CI 11,1–35,7; $p = 0,37$). Kaplan-Meierovy křivky odhadu přežití těchto analyzovaných pacientů s GBM jsou prezentovány v obr. 5.

Po všech operacích pro HGG (155 pacientů vč. operacích recidiv) byl pacient klinicky a graficky sledován na neurochirurgické ambulanci v 63 % případů, v ostatních případech se již pacient po operaci ke kontrole nikdy nedostavil.

Diskuze

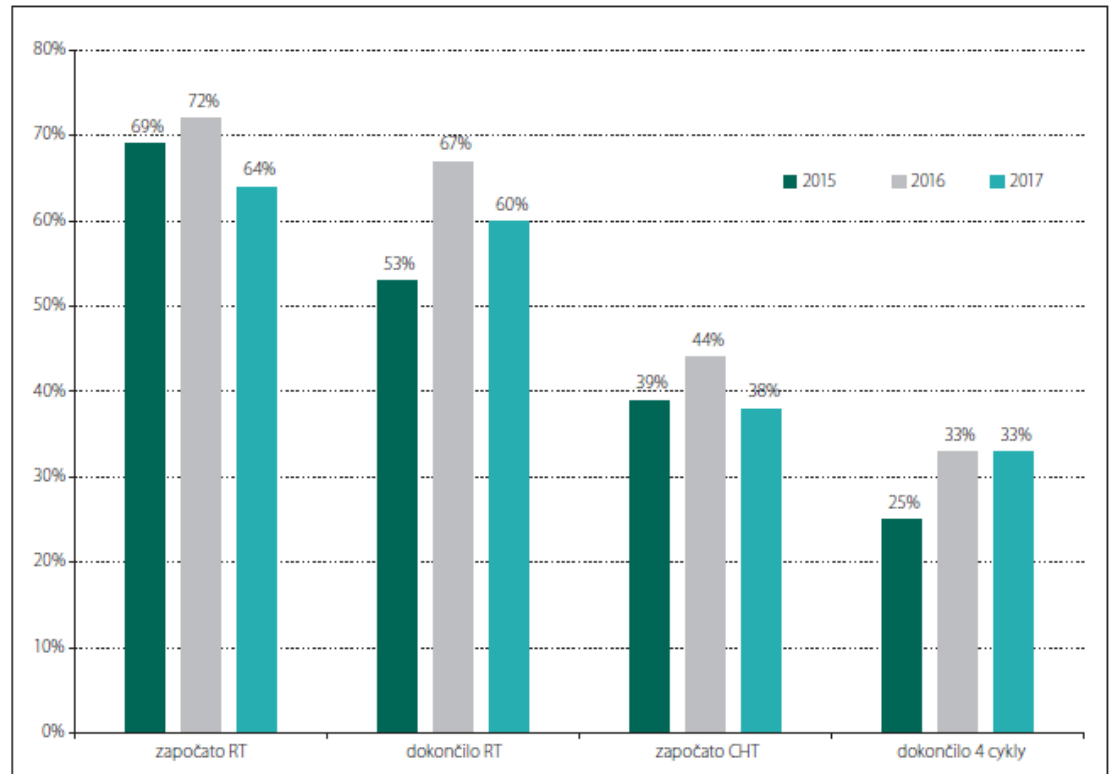
V této retrospektivní analýze konsektivní série 270 operací intrinsických mozkových nádorů operovaných na jednom pracovišti jsme pozorovali těžkou pooperační morbiditu pouze u 6,7 % pacientů a mortalitu 1 %, což jsou údaje srovnatelné s analýzami jiných velkých souborů pacientů [13–15]. Ani v jediném případě se nejednalo o pacienta operovaného pro LGG. Zvláště v této skupině pacientů s relativně dobrou prognózou je nutné klást důraz na bezpečnost prováděného operačního výkonu s cílem minimalizace rizika neurologického deficitu po operaci. Prezentovaná analýza hodnocení vlastních výsledků se zaměřením na nežádoucí účinky neurochirurgického výkonu poskytuje cennou zpětnou vazbu a umožňuje identifikaci event. systematických nedostatků v komplexní neurochirurgické léčbě nejen u onkologických pacientů. Za důležitou součást tohoto komplexního přístupu považujeme také nutnost organizačního zajištění následné onkologické terapie u nově diagnostikovaných pacientů s GBM, kteří tvoří zdaleka nejpočetnější skupinu operovaných pacientů (51,5 % ze všech operací v našem souboru). Rovněž v případě operací mozkových metastáz je nutná brzká reference na radioterapeutické pracoviště vzhledem k nově etablované cílené stereotaktické radioterapii na oblast poresekcího lůžka, která je v současné době po metastazektomií preferována v porovnání s celomozkovým ozářením [16,17].



Obr. 3. Doba pobytu na neurochirurgickém oddělení (hospitalizační dny po operaci) u pacientů propuštěných přímo domů ($n = 140$).

Fig. 3. Length of stay at the neurosurgical ward (in-patient days after the surgery) in patients discharged directly home ($N = 140$).

Průměrnou dobu 46 dní do zahájení pooperační radioterapie nově diagnostikovaných GBM nelze v této prezentované autoevaluaci považovat za optimální a identifikace této doby představuje konkrétní příklad významu rigorózních systematických autoevaluačních procesů na každém pracovišti. K zajištění a udržení benefitu dobře provedeného operačního výkonu je tak nutné na našem pracovišti optimalizovat referování pacientů k následné léčbě onkologické. Možností může být také využití současných video-telekonferenčních technologií, resp. rozvíjející se oblasti telemedicíny již úspěšně testované v pediatričké neuroonkologii [18,19]. Nicméně otázka optimální doby do zahájení pooperační radioterapie GBM je dále kontroverzní, neboť v odborné literatuře nalézáme protichůdná doporučení. Ani v našem souboru pacientů léčených dle Stuppova režimu nebyl rozdíl v celkovém přežití při dichotomickém rozdělení pacientů dle mediánové hodnoty doby do zahájení radioterapie (45 dní) – mOS 22,6 vs. 23,4 měsíců. Např. Do et al na retrospektivní studii 182 pacientů s GBM ukázali, že riziko úmrtí se zvyšovalo během každého dne čekání na onkologickou léčbu o 2 % [20]. Novozélandaně Irwin et al shodně u 172 pacientů popisují 8,9% riziko úmrtí zvyšující se každým týdnem zpoždění radio-



Obr. 4. Procentuální rozložení pacientů s primodiagnózou vysokostupňového gliomu, kteří v jednotlivých letech 2015, 2016 a 2017 započali, resp. dokončili adjuvantní radioterapii a též započali, resp. dokončili čtyři cykly adjuvantní chemoterapie.

2015 (36 pacientů) – 25/19/14/9 pacientů; 2016 (36 pacientů) – 26/24/16/12 pacientů; 2017 (43 pacientů) – 28/26/16/14 pacientů

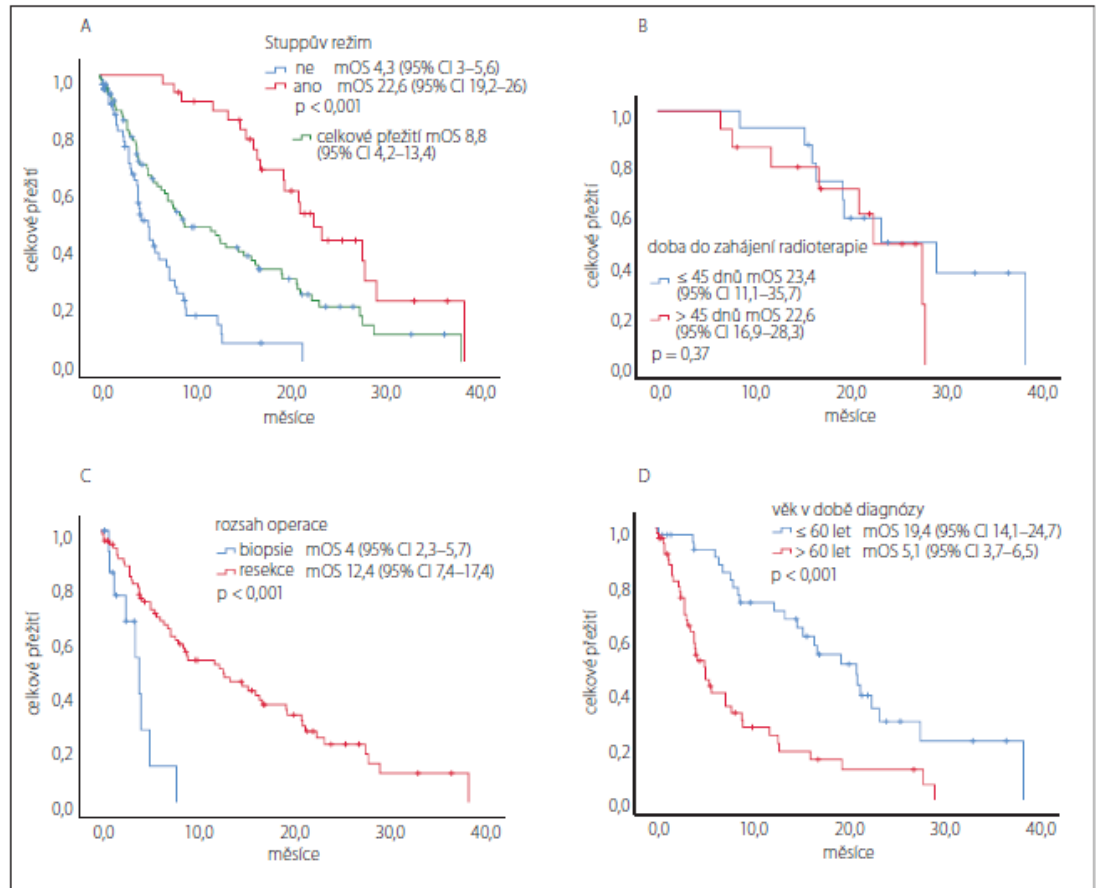
Proportion of patients with a primary diagnosis of high grade glioma who in particular years 2015, 2016 and 2017 started, and finished respectively adjuvant radiotherapy and also started, and completed respectively four cycles of adjuvant chemotherapy.

2015 (36 patients) – 25/19/14/9 patients; 2016 (36 patients) – 26/24/16/12 patients; 2017 (43 patients) – 28/26/16/14 patients

terapie [21]. Nicméně je nutné vzít v potaz bias daná postponováním radioterapie u pacientů s pooperačními komplikacemi či u těch ve špatném stavu, což mohlo způsobit horší léčebné výsledky v této podskupině pacientů s pooperačními komplikacemi vedoucími k oddálení startu adjuvantní onkologické léčby. Na druhou stranu jiné práce, např. Blumethalova analýza 2 855 pacientů s GBM [22], neprokázaly horší dobu přežití, pokud byla radioterapie zahájena za 6 týdnů po histologické verifikaci nádoru. Naopak nejkratší interval (< 2 týdny) oproti nejdélšímu (> 4 týdny) vykazoval zhoršení výsledků, což může být vysvětleno např. tím, že přetrvávající hypoxie v edému může zmenšovat radiosenzitivitu nádorových buněk, nebo tím, že dochází k suboptimálnímu zacílení ozářovaného objemu tkáně při nedo-

statečně kolabované postresekční dutině (případně při následných posunech mozkové tkáně při resorbci, event. pooperačního pneumocefalu) [22]. Horší léčebné výsledky při brzkém zahájení radioterapie mohly být také dány selekčním bias pacientů po pouhé biopsii (tedy v prognosticky špatné skupině), kdy je obecná snaha ozářit tyto pacienty co nejdříve, tzv. přednostně. V naší podskupině 18 pacientů po biopsii GBM byl medián doby do zahájení radioterapie 37 dní, což je méně než medián 47 dní u pacientů po resekčním výkonu (malý počet pacientů s biopsií znemožňuje validní statistické vyjádření significance tohoto rozdílu). Soubor zahrnující standardní terapii temozolomidem publikovali Sun et al [23] v retrospektivní studii celkové skupiny 218 pacientů s GBM, u které prodleva až více než 42 dní byla negativním

faktorem pro celkové přežití pacienta. Celkem 42 dní je obvykle také maximální možná doba zahájení adjuvantní terapie v prospektivních klinických hodnoceních nových léčiv u GBM. Zmiňovaná bias redukovali ve své retrospektivní multicentrické studii Louvel et al [24], kde byli všichni analyzovaní pacienti (léčení v letech 2005–2011) po radikální nebo parciální resekci a podstoupili plnou onkologickou léčbu dle Stuppova protokolu [12]. Medián celkového přežití byl 19,7 měsíce při mediánu přežití bez progresu 10,3 měsíce. Medián doby do zahájení konkomitantní chemoradioterapie 1,5 měsíce (75% kvartil dokonce 2,2 měsíce) nebyl významný v univariátní ani multivariátní analýze faktorů ovlivňujících parametry přežití. Tento výsledek byl potvrzen i v obou skupinách pacientů léčených/neléčených lokálními



Obr. 5. Kaplan-Meierovy odhady celkového přežití při rozdělení pacientů s glioblastomem: (A) dle absolvované onkologické léčby, s podskupinou pacientů léčených dle Stuppova režimu; (B) dle doby do zahájení radioterapie po operaci; (C) dle rozsahu operace a (D) dle věku v době diagnózy.

Fig. 5. Kaplan-Meier estimates of the overall survival after distribution of the patients with glioblastoma according to: (A) the completed oncological treatment with a subgroup of patients treated according to the Stupp protocol; (B) the period of initiation of radiotherapy after surgery; (C) extent of the resection; (D) age at diagnosis.

carmustinovými tabletami, tak i v obou skupinách rozdílné radikality výkonu.

Nicméně v případě vysokostupňových gliomů se jednoznačně jedná o biologicky výrazně agresivní onemocnění a adjuvantní léčba by neměla být zbytečně oddalována. V pooperační péči tak nelze opomíjet ani lokální problém ve formě likvorového podkožního depa, které může rekonvalescenci prodloužit i zkomplikovat, pokud si vynutí revizi či dojde k sekundárnímu infikování depa či vznikne meningitida cestou lumbální drenáže. I při nekomplikovaném průběhu je vznik depa pro pacienta nepřijemný nebo může prodloužit dobu hospitalizace. Dle

analýzy národní americké databáze však musí být délka hospitalizace nutně parametrem poukazujícím na kvalitu daného pracoviště. Dassenbrock et al [13] provedli analýzu 11 510 pacientů, u nichž byla střední doba hospitalizace 4 dny (rozsah středního kvartálu 3–8 dní) a z nichž 27,7 % (3 185 pacientů) bylo hospitalizováno déle než 8 dní. Ovšem nezávislémi faktory, které predikovaly prodlouženou dobu hospitalizace, byly věk > 70 let, příslušnost k afroamerickému a hispánskému etniku, hodnota skóre American Society of Anesthesiologists > 3 , částečná nebo úplná funkční závislost, inzulín-dependentní diabetes mellitus, he-

matologické komorbidity (např. předoperační antikoagulační léčba) a předoperační hypoalbuminémie. Tyto tzv. péči neovlivnitelné faktory představovaly 22% variabilitu doby hospitalizace, zatímco pooperační komplikace (např. plicní embolizace, pneumonie a infekce močového traktu) se na této podílely pouze 7 %. Tento závěr nekoreluje s předchozími analýzami kardiokirurgických a jiných oborů, kde výrazné prodloužení doby hospitalizace přicházelo na vrub pooperačním komplikacím [25–27]. Ve své práci Dassenbrock et al [13] dokonce navrhuji předoperační 10stupňové skórování pravděpodobnosti prodloužené hospitali-

zace po operativě mozkových nádorů, a to zejména vzhledem k tlaku na minimalizaci doby pobytu v nemocnici ze strany poskytovatelů a plátců zdravotní péče v USA. Retrospektivní skórování našich pacientů dle této škály bude předmětem plánované sekundární analýzy, vč. univariační a multivariační analýzy faktorů ovlivňujících délku hospitalizace, resp. četnost pooperačních komplikací s možností modifikace 10stupeňového skórování se zohledněním lokálních podmínek v ČR.

Mortalita souboru v naší nemocnici činila 1 %, což je prakticky identické s dalším hodnocením stejného autora [28], které posuzuje znovupřijetí pacienta k rehospitalizaci v rámci pooperačních komplikací v souboru 9 656 pacientů po operaci mozkového nádoru. Slabinou naší práce danou absencí centrálního registru je nemožnost hodnocení event. 30denní mortality po překladi pacienta, která dle práce citovaného autora může být relativně vysoká – dosahovala 69,7 % (n = 223) oproti mortalitě během iniciační hospitalizace: 30,3 % (n = 97), tzn. 1 % stejně jako v našem souboru. Každopádně opakovaný příjem pacienta na primární pracoviště, stejně jako v případě doby hospitalizace, byl dán spíše vstupními charakteristikami pacientů a není v této publikaci doporučen jako hodnotící kritérium posuzování kvality péče.

Práce Bergerovy skupiny [14] opírající se o velký soubor 62 514 pacientů operovaných s maligním gliomem během 10 let v USA (2000–2009) si klade za cíl hodnotit výsledky operací ve vztahu k „zatížení“ (case-load) dané nemocnice či neurochirurga. Mortalita ve stejné nemocnici, kde proběhla operace, dosahuje v průměru 2,6 %, po biopsii 1,9 %, po resekcii 5 %. Přímou domů je po operaci směřováno 74,5 % pacientů, celková míra komplikací je 19,8 %, neurologických 14,9 %. V porovnání s naším souborem je také naprosto odlišné proporcionální zastoupení typů jednotlivých výkonů; jehlová biopsie 56,2 %, otevřená biopsie, event. partiální resekce 23,6 %, resekce 12,5 %, lobektomie 7,7 %. Práce nehodnotí ani nekomentuje z našeho pohledu velice vysokou frekvenci jehlových biopsií, dle našich dat je šance pacienta na dokončení radioterapie po biopsii HGG výrazně nižší než po resekcijním výkonu (v našem souboru 60 vs. 28 %). Ve srovnání s těmito daty stojí za vyzdvíhnutí dosavadní úroveň péče o neuroonkologické pacienty v ČR. Rovněž celkové přežití v naší kohortě pacientů léčených Stuppovým režimem je

srovnatelné s literárními údaji. Neaktuálnější data pro srovnání jsou léčebné výsledky kontrolního ramene studie EF-14, publikované v prosinci 2017 (studie fáze III hodnotící efekt léčby nově diagnostikovaných GBM pomocí systému Optune [Novocure, St. Helier, Jersey, Velká Británie]) [29]. Medián celkového přežití pacientů z kontrolního ramene (Stuppův režim bez Optune) byl 19,7 měsíců od stanovení diagnózy [29], což je rozmezí 95% CI odhadu mediánu celkového přežití našich pacientů léčených Stuppovým režimem (95% CI 19,2–26,0 měsíce). Medián celkového přežití v našem souboru (22,6 měsíce) je dokonce nad 95% CI ze zmiňované aktuální studie EF-14 (95% CI kontrolního ramene 17,7–22,1 měsíce [29]), do které byli dokonce randomizováni pouze pacienti bez brzké progresse po ukončení chemoradioterapie, kteří jsou ale zahrnuti do našeho neselektovaného souboru pacientů.

Závěr

Autoevaluace vlastních výsledků je nedílnou součástí komplexní neurochirurgické péče. V našem souboru jsme pozorovali celkově nízkou pooperační morbiditu srovnatelnou s literárními údaji. Léčebné výsledky HGG jsou srovnatelné s aktuálními reporty celkového přežití GBM. Potvrdili jsme známé pozitivní prognostické faktory přežití pacientů s GBM, jako jsou léčba Stuppovým režimem (medián celkového přežití 22,6 měsíce), rozsah operace nebo věk v době diagnózy. Doba do zahájení radioterapie po operaci GBM neměla v našem souboru vliv na celkové přežití. Poukazujeme na dobrou úroveň domácí neuroonkologie, která však nesmí klesat z důvodů osobního, společenského a ekonomického profitu jednotlivých poskytovatelů zdravotní péče. Tato dosavadní úroveň je dle našeho názoru z velké části dána entuziazmem a snahou poskytnout maximum péče danému pacientovi lékařem neuroonkologického týmu. Aby nedocházelo k tříštění této péče, odkládání a nesystematičnosti onkologické léčby, je dle našeho názoru nutná těsná lokální provázanost všech složek daného centra v rámci daného regionu.

Literatura

1. Louis DN, Perry A, Reifenberger G et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131(6): 803–820. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
2. Chaichana KL, Jusue-Torres I, Navarro-Ramirez R et al. Establishing percent resection and residual volume thresholds affecting survival and recurrence for patients with

- newly diagnosed intracranial glioblastoma. *Neuro Oncol* 2014; 16(1): 113–122. doi: 10.1093/neuonc/not137.
3. Grabowski MM, Recinos PF, Nowacki AS et al. Residual tumor volume versus extent of resection: predictors of survival after surgery for glioblastoma. *J Neurosurg* 2014; 121(5): 1115–1123. doi: 10.3171/2014.7.JNS132449.
4. Lacroix M, Abi-Said D, Fourney DR et al. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival. *J Neurosurg* 2001; 95(2): 190–198.
5. McGirt MJ, Mukherjee D, Chaichana KL et al. Association of surgically acquired motor and language deficits on overall survival after resection of glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 2009; 65(3): 463–470. doi: 10.1227/01.NEU.0000349763.42238.E9.
6. Berghoff AS, Brastianos PK. Toward precision medicine in brain metastases. *Semin Neurol* 2018; 38(1): 95–103. doi: 10.1055/s-0038-1627469.
7. Bartoš R, Třebický F, Malucelli A et al. Volumetrické vyhodnocení efektu následné onkologické léčby (radioterapie a chemoterapie) při inoperabilní progresi či významném reziduu nízkostupňového gliomu. *Cesk Slov Neurol N* 2014; 77(110(2)): 216–222.
8. Brock S, Saleh C, Zekaj E et al. How to compare clinical results of different neurosurgical centers? Is a classification of complications in neurosurgery necessary for this purpose? *Surg Neurol Int* 2016; 7 (Suppl 20): S565–S569. doi: 10.4103/snl.snl.424.17.
9. Broggi M, Zattera C, Ferrolli P. How to compare outcomes and complications in neurosurgery: We must make the mission possible! *Surg Neurol Int* 2018; 9: 65. doi: 10.4103/snl.snl.424.17.
10. Bartoš R, Němcová V, Radovnický T et al. Gliomy limbického a paralingvického systému, technika a výsledky resekcí. *Cesk Slov Neurol N* 2016; 79(112(2)): 131–147. doi: 10.14735/amcsmn2016131.
11. Stupp R, Hegi ME, Mason WP et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009; 10(5): 459–466. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7.
12. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 987–996. doi: 10.1056/NEJMoa043330.
13. Dasenbrock HH, Liu XX, Devine CA et al. Length of hospital stay after craniotomy for tumor: a National Surgical Quality Improvement Program analysis. *Neurosurg Focus* 2015; 39(6): E12. doi: 10.3171/2015.10.FOCUS15386.
14. Trinh VT, Davies JM, Berger MS. Surgery for primary supratentorial brain tumors in the United States, 2000–2009: effect of provider and hospital caseload on complication rates. *J Neurosurg* 2015; 122(2): 280–296. doi: 10.3171/2014.9.JNS131648.
15. Senders JT, Muskens IS, Cote DJ et al. Thirty-day outcomes after craniotomy for primary malignant brain tumors: a National Surgical Quality Improvement Program analysis. *Neurosurgery* 2018; 83(6): 1249–1259. doi: 10.1093/neuros/nyy001.
16. Mahajan A, Ahmed S, McAleer MF et al. Post-operative stereotactic radiosurgery versus observation for completely resected brain metastases: a single-centre, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18(8): 1040–1048. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30414-X.
17. Brown PD, Ballman KV, Cerhan JH et al. Postoperative stereotactic radiosurgery compared with whole brain radiotherapy for resected metastatic brain disease (NCT01107777/CEG3): a multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18(8): 1049–1060. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30441-2.
18. Amayiri N, Swaldan M, Aburmeileh N et al. Video-teleconferencing in pediatric neuro-oncology: ten

years of experience. *J Glob Oncol* 2018; 4: 1–7. doi: 10.1200/JGO.2016.008276.

19. Qaddoumi I, Mansour A, Musharbash A et al. Impact of telemedicine on pediatric neuro-oncology in a developing country: the Jordanian-Canadian experience. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48(1): 39–43. doi: 10.1002/pbc.21085.

20. Do V, Gebski V, Barton MB. The effect of waiting for radiotherapy for grade III/IV gliomas. *Radiother Oncol* 2000; 57(2): 131–136.

21. Irwin C, Hunn M, Purdie G et al. Delay in radiotherapy shortens survival in patients with high grade glioma. *J Neurooncol* 2007; 85(3): 339–343. doi: 10.1007/s11060-007-9426-z.

22. Blumenthal DT, Won M, Mehta MP et al. Short delay in initiation of radiotherapy may not affect outcome of patients with glioblastoma: a secondary analysis from the

radiation therapy oncology group database. *J Clin Oncol* 2009; 27(5): 733–739. doi: 10.1200/JCO.2008.18.9035.

23. Sun MZ, Oh T, Ivan ME et al. Survival impact of time to initiation of chemoradiotherapy after resection of newly diagnosed glioblastoma. *J Neurosurg* 2015; 122(5): 1144–1150. doi: 10.3171/2014.9.JNS14193.

24. Louvel G, Metellus P, Noel G et al. Delaying standard combined chemoradiotherapy after surgical resection does not impact survival in newly diagnosed glioblastoma patients. *Radiother Oncol* 2016; 118(1): 9–15. doi: 10.1016/j.radonc.2016.01.001.

25. Hannan EL, Racz MJ, Walford G et al. Predictors of readmission for complications of coronary artery bypass graft surgery. *JAMA* 2003; 290(6): 773–780. doi: 10.1001/jama.290.6.773.

26. Hannan EL, Zhong Y, Lahey SJ et al. 30-day readmissions after coronary artery bypass graft surgery

in New York state. *JACC Cardiovasc Interv* 2011; 4(5): 569–576. doi: 10.1016/j.jcin.2011.01.010.

27. Hendren S, Morris AM, Zhang W et al. Early discharge and hospital readmission after colectomy for cancer. *Dis Colon Rectum* 2011; 54(11): 1362–1367. doi: 10.1097/DCR.0b013e31822b72d3.

28. Dasenbrock HH, Yan SC, Smith TR et al. Readmission after craniotomy for tumor: a national surgical quality improvement program analysis. *Neurosurgery* 2017; 80(4): 551–562. doi: 10.1093/neuros/nyw062.

29. Stupp R, Taillibert S, Kanner A et al. Treating fields plus maintenance temozolomide vs maintenance temozolomide alone on survival in patients with glioblastoma: a randomized clinical trial. *JAMA* 2017; 318(23): 2306–2316. doi: 10.1001/jama.2017.18718.

Poděkování partnerům České neurologické společnosti



platinoví partneři



zlatý partner



stříbrný partner

Quantitative MR imaging and spectroscopy of brain tumours: a step forward?

Dita Wagnerova · Vit Herynek · Alberto Malucelli ·
Monika Dezortova · Josef Vymazal · Dusan Urgosik ·
Martin Syrucek · Filip Jiru · Antonin Skoch ·
Robert Bartos · Martin Sames · Milan Hajek

Received: 5 January 2012 / Accepted: 9 April 2012
© European Society of Radiology 2012

Abstract

Objectives A prospective quantitative MR study of brain tumours was performed to show the potential of combining different MR techniques to distinguish various disease processes in routine clinical practice.

Methods Twenty-three patients with various intracranial tumours before treatment (diagnosis confirmed by a biopsy) and 59 healthy subjects were examined on a 3-T system by conventional MR imaging, 1H spectroscopic imaging, diffusion tensor imaging and T2 relaxometry. Metabolic concentrations and their ratios, T2 relaxation times and mean

diffusivities were calculated and correlated on a pixel-by-pixel basis and compared to control data.

Results Different tumour types and different localisations revealed specific patterns of correlations between metabolic concentrations and mean diffusivity or T2 relaxation times. The patterns distinguish given tissue states in the examined area: healthy tissue, tissue infiltrated by tumour, active tumour, oedema infiltrated by tumour, oedema, etc. This method is able to describe the complexity of a highly heterogeneous tissue in the tumour and its vicinity, and determines crucial parameters for tissue differentiation.

Conclusions A combination of different MR parameters on a pixel-by-pixel basis in individual patients enables better identification of the tumour type, direction of proliferation and assessment of the tumour extension.

Key Points

- *Magnetic resonance offers many different methods of examining the brain.*
- *A combination of quantitative MR parameters helps distinguish different brain lesions*
- *Different tumour types revealed specific correlation patterns amongst different MR parameters*
- *The correlation patterns reflect highly heterogeneous complex tissue within tumours*

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00330-012-2502-6) contains supplementary material, which is available to authorized users.

D. Wagnerova (✉) · V. Herynek · M. Dezortova · F. Jiru ·
A. Skoch · M. Hajek
Department of Diagnostic and Interventional Radiology,
Institute for Clinical and Experimental Medicine,
Videnska 1958/9,
140 21 Prague, Czech Republic
e-mail: diwa@medicon.cz

A. Malucelli · R. Bartos · M. Sames
Department of Neurosurgery,
JE Purkyne University and Masaryk Hospital,
Usti nad Labem, Czech Republic

J. Vymazal
Department of Radiology, Na Homolce Hospital,
Prague, Czech Republic

D. Urgosik
Stereotactic and Radiation Neurosurgery, Na Homolce Hospital,
Prague, Czech Republic

M. Syrucek
Department of Pathology, Na Homolce Hospital,
Prague, Czech Republic

Keywords Tumour · 1H-MR spectroscopy · MR
diffusometry · T2 relaxometry · Correlations

Abbreviations and acronyms

Cho	choline-containing compounds
Cr	total creatine
CSF	cerebrospinal fluid
DTI	diffusion tensor imaging

GM	grey matter
Ins	inositol
Lac	lactate
MD	mean diffusivity
MM + Lip	macromolecules and lipids
MR	magnetic resonance
MRI	magnetic resonance imaging
NAA	N-acetyl aspartate and N-acetylaspartylglutamate
ROI	region of interest
SI	spectroscopic imaging
SNR	signal-to-noise ratio
T2	T2 relaxation times
TE	echo time
WM	white matter

Introduction

Magnetic resonance imaging (MRI) is the method of first choice in diagnosing brain tumours. Nevertheless, a lack of specificity in distinguishing tumour types and their grades is a major drawback.

Proton magnetic resonance spectroscopic imaging (SI) non-invasively provides information on spatial distribution of metabolic changes in human brain tumours. Specific metabolic features of tissue changes have been found; however, no metabolic change represents a unique pattern of a particular tumour type, especially because of the spatial heterogeneity of the tumour. Primary tumours are characterised by a decreased concentration of N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate (NAA), creatine and phosphocreatine (Cr), and elevated choline compounds (Cho), and (in astrocytomas) inositol (Ins) [1–8]. Elevated lactate (Lac) and lipids (Lip) are features of necrosis. A peritumoral oedema is characterised by a lower concentration of all metabolites. These spectroscopic findings were confirmed by histopathological data [9–11].

Mean diffusivity (MD), calculated from the diffusion tensor imaging (DTI), has been used to distinguish a tumour from a bacterial abscess, to increase the specificity of lymphoma (LYM) detection or to diagnose an acute ischemia. Regions of low cellularity related to high extracellular space (cyst, necrosis, oedema) exhibit high MD, while high cellularity areas (low extracellular space) show low MD [12, 13].

A combination of different diagnostic methods may provide more precise information on the nature and extent of the lesion in patients with intracranial tumours. Especially the conjunction of SI, DTI, perfusion and T1 and T2 relaxometry (T1, T2, respectively) is very promising, since they provide complementary pieces of information: spectroscopy

reveals metabolic changes in the tissue, whereas diffusion, perfusion and relaxometry reflect the tissue structure. Coregistration of these images and their subsequent correlations based on multivoxel methods are primarily used to assess the tumour extent [14–19], as they have a potential to distinguish between pathological states (tumour, oedema, necrosis) and healthy tissue. A significant correlation on a pixel-by-pixel basis between Cho and MD measured at 1.5 T has been found in individual patients with high-grade gliomas (HGG). However, the results in patients with low-grade gliomas (LGG) have been ambiguous: both positive and inverse Cho-MD correlations have been reported [14, 16, 20].

At present, no study has involved diffusion, relaxation, spectroscopic and histological data based on a pixel-by-pixel image processing at 3 T in individual patients. As specific correlations can provide additional information about the tissue state, we decided to perform a prospective quantitative MR study of patients suffering from brain tumours to validate these techniques and demonstrate their potential use in the clinical routine.

Materials and methods

Patients

Twenty-three patients (mean age: 51.8 ± 14.2 years) with a diagnosis of an intracranial tumour were divided into three groups: 12 patients with LGG, 7 patients with HGG and 4 patients with LYM. None of the patients underwent any tumour treatment before the MR examination. An image-guided stereotactic biopsy of 18 patients was performed within 2 days after the spectroscopic examination. Localisation of the biopsy specimen was determined by an experienced neurosurgeon according to his judgment. The diagnosis of five patients was assessed from the open-frame navigated biopsy during lesion resection (for details, see Table 1).

Control data

Fifty-nine healthy subjects (mean age: 34.3 ± 13.4 years) carefully interviewed to exclude any diseases affecting the obtained data were included in this study as controls.

Because of age and spatial dependency of MR parameters, the control group was divided into several subgroups according to their age (five age subgroups: 15–17, 18–34, 35–49, 50–62 and 63–73 years) and examined region. Each subgroup consisted of 4–14 subjects. In both hemispheres we evaluated data from the following regions: the centrum semiovale, parietal, occipital, periventricular region, cerebellum, temporal lobes,

GM	grey matter
Ins	inositol
Lac	lactate
MD	mean diffusivity
MM + Lip	macromolecules and lipids
MR	magnetic resonance
MRI	magnetic resonance imaging
NAA	N-acetyl aspartate and N-acetylaspartylglutamate
ROI	region of interest
SI	spectroscopic imaging
SNR	signal-to-noise ratio
T2	T2 relaxation times
TE	echo time
WM	white matter

Introduction

Magnetic resonance imaging (MRI) is the method of first choice in diagnosing brain tumours. Nevertheless, a lack of specificity in distinguishing tumour types and their grades is a major drawback.

Proton magnetic resonance spectroscopic imaging (SI) non-invasively provides information on spatial distribution of metabolic changes in human brain tumours. Specific metabolic features of tissue changes have been found; however, no metabolic change represents a unique pattern of a particular tumour type, especially because of the spatial heterogeneity of the tumour. Primary tumours are characterised by a decreased concentration of N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate (NAA), creatine and phosphocreatine (Cr), and elevated choline compounds (Cho), and (in astrocytomas) inositol (Ins) [1–8]. Elevated lactate (Lac) and lipids (Lip) are features of necrosis. A peritumoral oedema is characterised by a lower concentration of all metabolites. These spectroscopic findings were confirmed by histopathological data [9–11].

Mean diffusivity (MD), calculated from the diffusion tensor imaging (DTI), has been used to distinguish a tumour from a bacterial abscess, to increase the specificity of lymphoma (LYM) detection or to diagnose an acute ischemia. Regions of low cellularity related to high extracellular space (cyst, necrosis, oedema) exhibit high MD, while high cellularity areas (low extracellular space) show low MD [12, 13].

A combination of different diagnostic methods may provide more precise information on the nature and extent of the lesion in patients with intracranial tumours. Especially the conjunction of SI, DTI, perfusion and T1 and T2 relaxometry (T1, T2, respectively) is very promising, since they provide complementary pieces of information: spectroscopy

reveals metabolic changes in the tissue, whereas diffusion, perfusion and relaxometry reflect the tissue structure. Coregistration of these images and their subsequent correlations based on multivoxel methods are primarily used to assess the tumour extent [14–19], as they have a potential to distinguish between pathological states (tumour, oedema, necrosis) and healthy tissue. A significant correlation on a pixel-by-pixel basis between Cho and MD measured at 1.5 T has been found in individual patients with high-grade gliomas (HGG). However, the results in patients with low-grade gliomas (LGG) have been ambiguous: both positive and inverse Cho-MD correlations have been reported [14, 16, 20].

At present, no study has involved diffusion, relaxation, spectroscopic and histological data based on a pixel-by-pixel image processing at 3 T in individual patients. As specific correlations can provide additional information about the tissue state, we decided to perform a prospective quantitative MR study of patients suffering from brain tumours to validate these techniques and demonstrate their potential use in the clinical routine.

Materials and methods

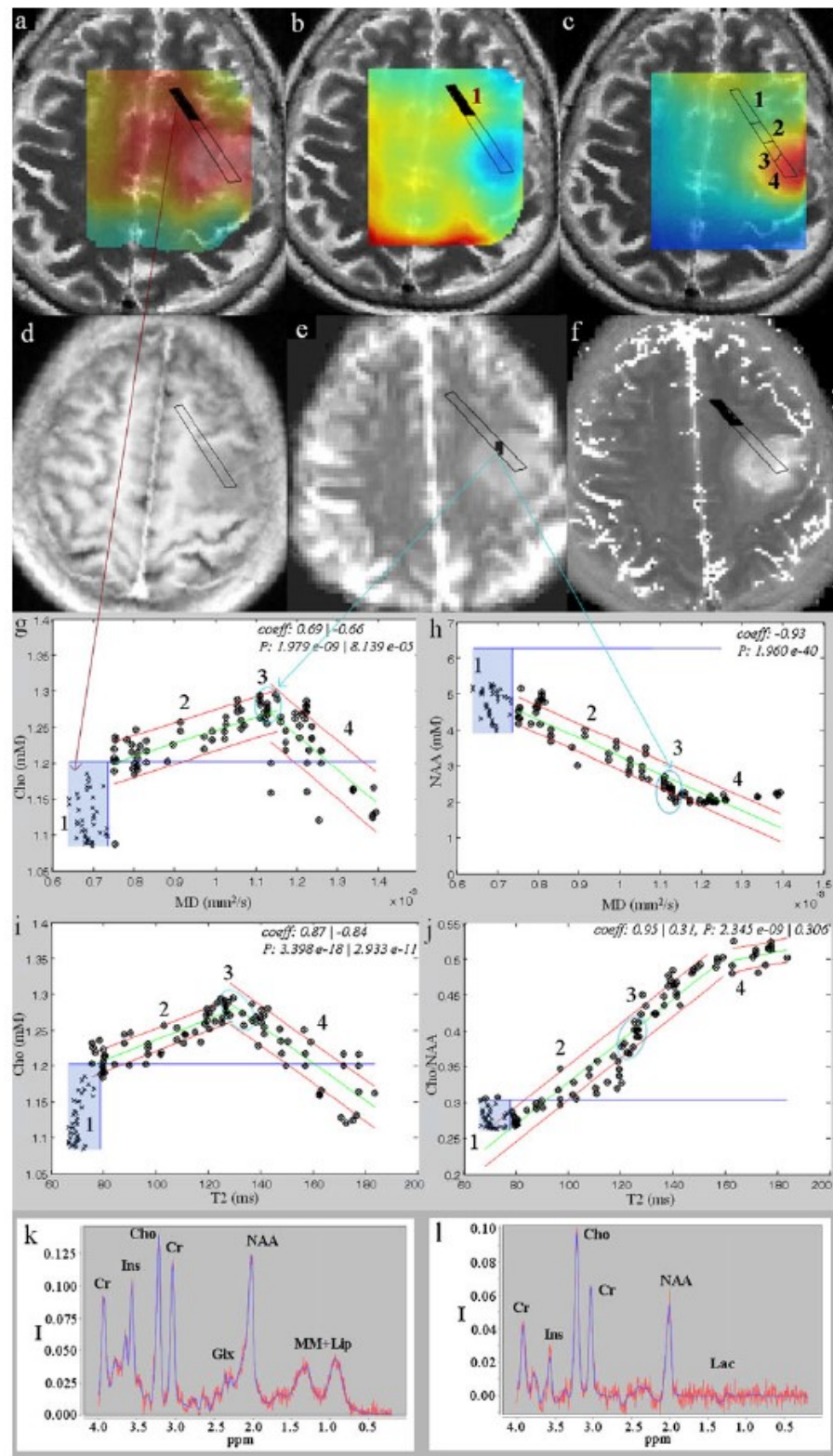
Patients

Twenty-three patients (mean age: 51.8 ± 14.2 years) with a diagnosis of an intracranial tumour were divided into three groups: 12 patients with LGG, 7 patients with HGG and 4 patients with LYM. None of the patients underwent any tumour treatment before the MR examination. An image-guided stereotactic biopsy of 18 patients was performed within 2 days after the spectroscopic examination. Localisation of the biopsy specimen was determined by an experienced neurosurgeon according to his judgment. The diagnosis of five patients was assessed from the open-frame navigated biopsy during lesion resection (for details, see Table 1).

Control data

Fifty-nine healthy subjects (mean age: 34.3 ± 13.4 years) carefully interviewed to exclude any diseases affecting the obtained data were included in this study as controls.

Because of age and spatial dependency of MR parameters, the control group was divided into several subgroups according to their age (five age subgroups: 15–17, 18–34, 35–49, 50–62 and 63–73 years) and examined region. Each subgroup consisted of 4–14 subjects. In both hemispheres we evaluated data from the following regions: the centrum semiovale, parietal, occipital, periventricular region, cerebellum, temporal lobes,



◀ **Fig. 1** An example of correlation patterns in the low grade glioma (patient no. 2). **a** A T2-weighted image merged with a Cho map. **b** NAA map. **c** Cho/NAA map. **d** Contrast-enhanced T1W image. **e** Mean diffusivity map. **f** T2 relaxation map. **g** Cho-MD correlation. **h** NAA-MD correlation. **i** Cho-T2 correlation. **j** Cho/NAA-T2 correlation. **k-l** Short TE spectrum (**k**) and long TE spectrum (**l**) from the biopsy region. **a, b, f** Black pixels inside the selected area on Cho and NAA maps, and on the T2 relaxation map correspond to the healthy tissue according to control data. **e** Black pixels on the MD map correspond to localisation of biopsy specimen. Data points indicated by a cross in the correlation plots represent an ordered pair of parameter values corresponding to one pixel in the analysed area. Blue lines determine the borders of control data (i.e., MAX values used for automatic patients' evaluation). Values corresponding to control values are visible as crosses inside the blue area and correspond to region 1 on the images. All values above the blue lines visible as crosses in circles correspond to tissue abnormalities. Region 2 represents the transition zone (the infiltrative tumour to the healthy tissue), region 3 the active tumour and region 4 the oedema infiltrated by tumour. The green lines represent the best linear fit of the data. The red lines indicate the 95 % confidence interval for the linear regression fit. Cho, choline-containing compounds; NAA, total N-acetyl aspartate; Cr, total creatine; Glx, glutamine and glutamate; Ins, myo-inositol; Lac, lactate; MM + Lip, macromolecules and lipids; T2, T2 relaxation map; MD, mean diffusivity; I, signal intensity

Control data sets for parietal, occipital and periventricular regions, the centrum semiovale and the cerebellum predominantly contained the data of the corresponding white matter (WM). For each region 15 MR parameters were evaluated.

The minimum (MIN) and maximum (MAX) values for each MR parameter and each region were assessed as a mean - standard deviation (SD) of each control data set, respectively mean + SD. These intervals represented control data used later for the semiautomatic evaluation of patients' data for each image modality [14]. These confidence intervals were highlighted in the patients' correlation plots by shading and bordering by blue lines (see ESM 2). Every point inside this interval was highlighted automatically in the evaluating images and was interpreted as representing a healthy tissue. The regions out of this confidence interval were considered as pathological.

Linear regression with 95 % confidence interval bands and the calculation of the slope were performed in all subjects only from correlation points outside the control data area. For its evaluation, the data were divided into two intervals by the highest metabolic value or the highest MD (T2 respectively). The *P*-values were computed using the statistical function *Corrcoef* in MATLAB.

Results

No significant correlation between metabolite concentrations and MD or T2 was found in any control subgroup in any region (i.e., WM, GM, globus pallidus, etc.) provided the regions were examined separately. However,

examination of a whole region of interest either invoked significant correlations or created separated clusters in correlation plots (see ESM 2). The correlation slopes did not reach the values found in the respective ROIs in patients.

We found several specific correlations for each tumour type and lesion localisation. More heterogeneous regions such as the basal ganglia, hippocampi, etc., invoked more complicated correlations with similar correlation trends as in other regions, but with additional clusters among the standard correlations. The correlation patterns for echo times TE=30 and 135 ms were similar. A summary of standard correlation patterns is schematically shown in Fig. 4; details are described in Figs. 1, 2 and 3.

Low-grade gliomas

A positive MD-T2 correlation was found in LGG (see Fig. 4D). Correlation patterns were specific for the selected directions:

1. Positive Cho-MD, Cho-T2, Ins-MD, Ins-T2 correlations (region 2) were found in one part of the plot and an inverse one (region 4) in the second part (see Figs. 1, 4A). The region above the MAX value where both correlations meet each other (region 3) represents the region of increased proliferation, i.e. active tumour. Region 1 corresponds to the healthy tissue. The positive correlation is created by the healthy tissue, tissue infiltrated by tumorous cells (region 2) and active tumour, whereas points corresponding to the necrosis, oedema, oedema infiltrated by tumour (region 4) and active tumour create the negative one. Therefore, we suppose that the correlation pattern A corresponds to the direction of the primary tumour proliferation.
2. The inverse Cho-MD or Cho-T2 correlations with Cho values partly below MAX represent the direction in which the tumour apparently does not proliferate. According to Cho values, several tissue types can be distinguished: oedema infiltrated by tumour (normal Cho), tumour/necrosis (normal or decreased Cho), cyst or necrosis (low Cho).

The other combinations of parameters are not specific for the prediction of the tumour growing direction, but specify the state of the examined tissue. We observed inverse NAA-MD, NAA-T2, Glx-MD and Glx-T2 correlations (metabolite values below MIN). Healthy GM and CSF create separate clusters in these plots (see Fig. 4B); thus, these correlations can differentiate a healthy GM and an oedema (contrary to Cho-MD and Cho-T2). Cho/Cr, Cho/NAA and Cr/NAA positively correlated with MD or T2 (values above MAX). Lac/Cr, Cr, Lac and MM + Lip correlated with neither MD nor T2.

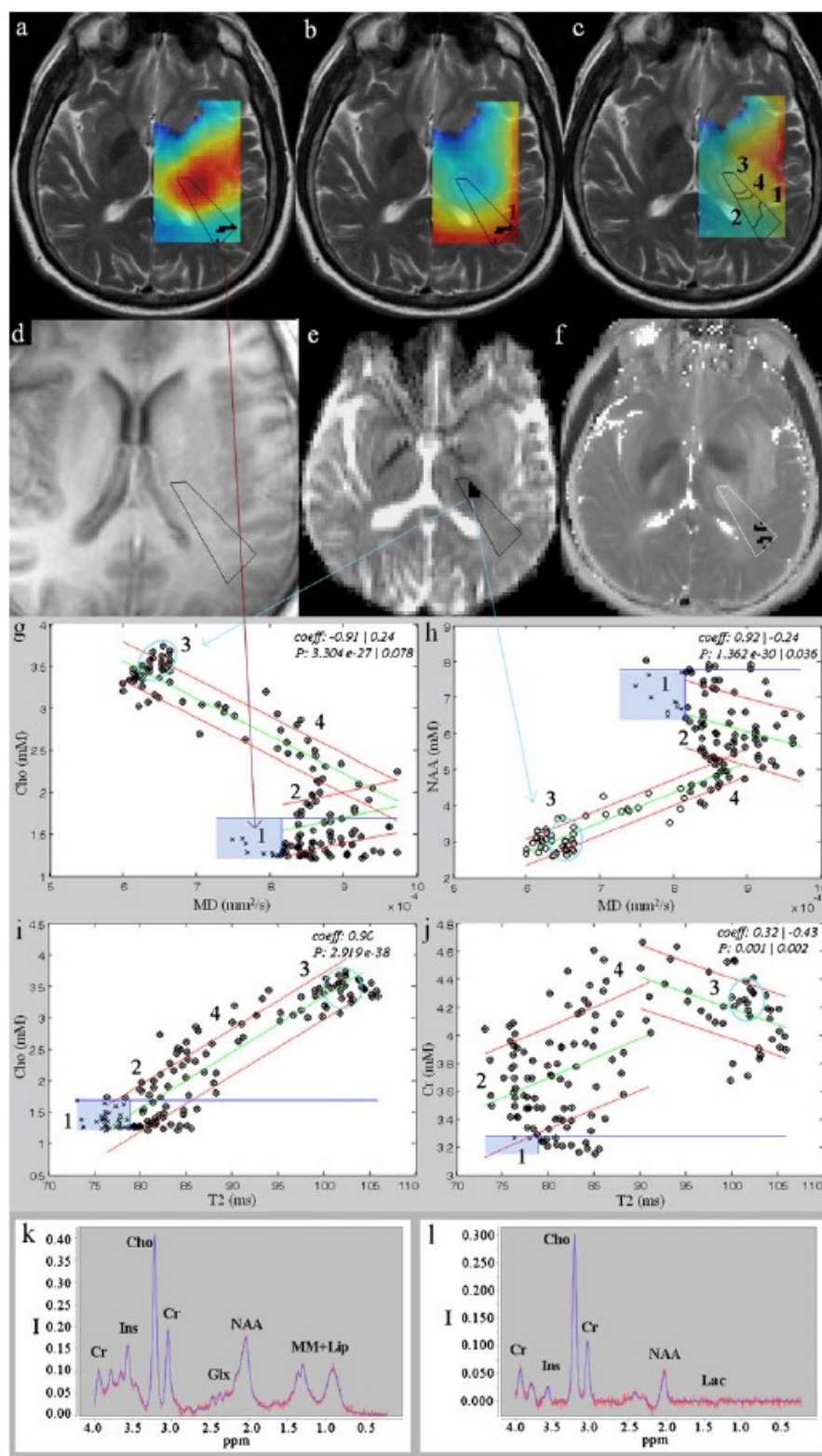


Fig. 2 An example of correlation patterns in high-grade glioma (patient no. 16). **a** A T2-weighted image merged with a Cho map. **b** NAA map. **c** Cr map. **d** Contrast-enhanced T1W image. **e** Mean diffusivity map. **f** T2 relaxation map. **g** Cho-MD correlation. **h** NAA-MD correlation. **i** Cho-T2 correlation. **j** Cr-T2 correlation. **k–l** Short TE spectrum (**k**) and long TE spectrum (**l**) from the biopsy region. **a, b, f** Black pixels inside the selected area on Cho and NAA maps and on the T2 relaxation map correspond to the healthy tissue according to control data. **e** Black pixels on the MD map correspond to localisation of biopsy specimen. Data points indicated by a cross in the correlation plots represent an ordered pair of parameter values corresponding to one pixel in the analysed area. Blue lines determine the borders of control data (i.e., MAX values used for automatic patients' evaluation). Values corresponding to control values are visible as crosses inside the blue area and correspond to region 1 on the images. All values above the blue lines visible as crosses in circles correspond to tissue abnormalities. Region 2 represents the transition zone (the infiltrative tumour to the healthy tissue), region 3 the active tumour and region 4 the oedema infiltrated by tumour. The green lines represent the best linear fit of the data. The red lines indicate the 95 % confidence interval for the linear regression fit. Cho, choline-containing compounds; NAA, total N-acetyl aspartate; Cr, total creatine; Glx, glutamine and glutamate; Ins, myo-inositol; Lac, lactate; MM + Lip, macromolecules and lipids; T2, T2 relaxation time; MD, mean diffusivity; I, signal intensity

High-grade gliomas

MRI revealed areas with an active tumour core (contrast enhancing), a dense tissue with no contrast enhancement in the proximity of the CE tumour core characterised by an inverse MD-T2 correlation caused by low MD and high T2, and a healthy tissue, oedema, oedema infiltrated by tumour, mixed tumour/necrosis and necrotic tissue characterised by a positive MD-T2 correlation. Correlation patterns depended on the tissue types in the selected direction:

1. A specific pattern (see Fig. 4E) found for Cho-MD, Ins-MD, Cho/Cr-MD, Cho/NAA-MD and Cr/NAA-MD is caused by the presence of a dense tissue with no CE in the examined area. This tissue is characterised by an inverse correlation with low MD and spectroscopic values above the MAX. A positive correlation of the other part of the plot with spectroscopic values close to control values is caused by a tissue in a transition state and a healthy tissue. Positive correlations were found for Cho-T2, Ins-T2, Cho/Cr-T2, Cho/NAA-T2 and Cr/NAA-T2 (Figs. 2, 4). A pattern similar to Cho-MD was observed for NAA-MD, but with a different origin (pattern F). The positive correlation below the MIN_NAA was caused by a dense, non-enhancing tissue, whereas the inverse one by the tissue in a transition state and by the healthy one. A simple inverse correlation below the MIN_NAA was found for NAA-T2. Cr-MD revealed a unique pattern G (Fig. 4).
2. If the dense non-enhancing tissue was not present in the examined area, pattern A (or only part of it) was found for Cho-MD, Cho-T2, Ins-MD, Ins-T2, Cho/Cr-MD, Cho/Cr-T2, Cho/NAA-MD, Cho/NAA-T2, Cr/NAA-

MD and Cr/NAA-T2. The origin of these patterns was similar to that in LGG. This tissue was further characterised by inverse NAA-MD, NAA-T2, Glx-MD and Glx-T2 correlations (below the MIN values) with separate clusters of healthy GM and CSF (as in the case of LGG). The Cho maximum above MAX represents the region of an active tumour.

Lac and MM + Lip correlated with neither MD nor T2. The Cr-T2 is not useful for tissue differentiation.

Lymphomas

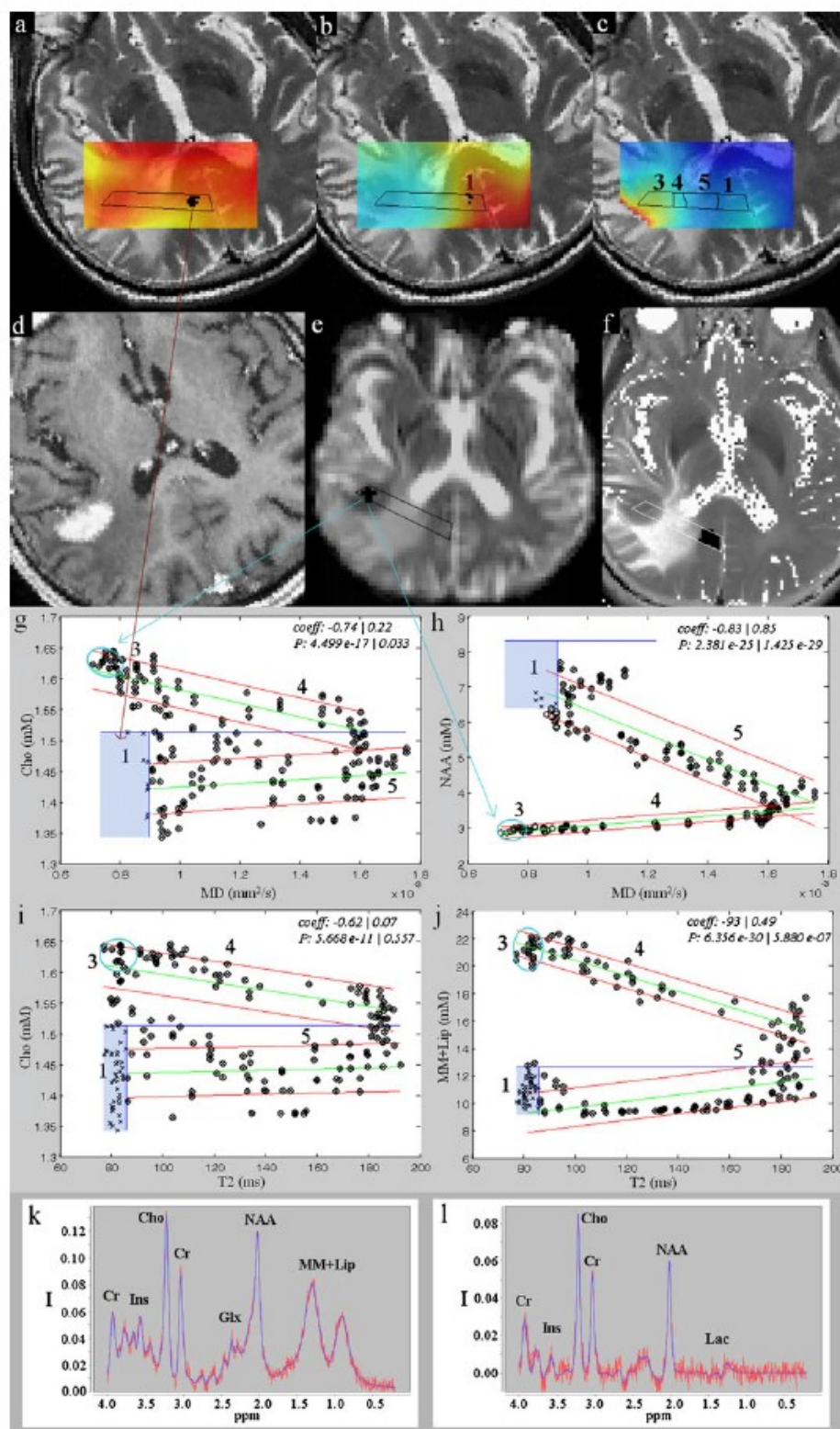
Solid dense tumours (with CE) were characterised by the positive MD-T2 correlations (see Figs. 3, 4L). Different tissues revealed similar Cho-MD, Ins-MD, Ins-T2, Glx-MD and Glx-T2 inverse correlations (pattern I, green), which may overlap; therefore, the correlations cannot be used for tissue differentiation. The tumour exhibited slightly increased Cho and Ins values, and normal Glx. Normal Cho and Ins and decreased Glx were found in the surrounding oedema. Cho-T2 correlation followed pattern I (violet, Fig. 4).

The inverse correlation (values above MAX) in one part of the plot and the positive one (values similar to the healthy tissue) in another part were found for MM + Lip-MD, MM + Lip-T2, Cho/Cr-MD, Cho/Cr-T2, Cho/NAA-MD, Cho/NAA-T2, Ins/Cr-MD, Ins/Cr-T2, Lac/Cr-MD, Lac/Cr-T2, Cr/NAA-MD and Cr/NAA-T2 (Fig. 4K). A similar behaviour but below the control MIN (pattern J) was found for NAA-MD, NAA-T2, Cr-MD and Cr-T2.

Discussion

Quantitative MRI could potentially increase the specificity of diagnosing of tumorous tissue and tumour grading. The presented semiautomatic method was based on a correlation analysis [14] that presumed that there is no correlation between different parameters in healthy controls at 1.5 T. Contrary to this, we found (at 3 T) that correlations depended on the examined region. This discrepancy is caused by lower metabolite values and higher MD and T2 in GM and CSF compared to WM at 3 T, whereas the previous study [14] revealed the same metabolite values in GM, WM and CSF. The discrimination of the tissue based on the MAX and MIN values derived predominantly from WM may fail even in healthy controls in other tissues (see ESM 1). The method is therefore reliable in WM; however, a possible contribution of GM and CSF needs to be verified by a radiologist, and the method should only be considered as semiautomatic.

The set of different correlations described above should be considered as a whole. Although these parameters often



◀ **Fig. 3** An example of correlation patterns in the lymphoma (patient no. 22). **a** A T2-weighted image merged with **a**) Cho map. **b**) NAA map. **c**) Cr map. **d**) Contrast-enhanced T1W image. **e**) Mean diffusivity map. **f**) T2 relaxation map. **g**) Cho-MD correlation. **h**) NAA-MD correlation. **i**) Cho-T2 correlation. **j**) Cr-T2 correlation. **k–l**) Short TE spectrum (**k**) and long TE spectrum (**l**) from the biopsy region. **a, b, f**) Black pixels inside the selected area on Cho and NAA maps, and on the T2 relaxation map correspond to the healthy tissue according to control data. **e**) Black pixels on the MD map correspond to localisation of biopsy specimen. Data points indicated by a cross in the correlation plots represent an ordered pair of parameter values corresponding to one pixel in the analysed area. Blue lines determine the borders of control data (i.e., MAX values used for automatic patients' evaluation). Values corresponding to control values are visible as crosses inside the blue area and correspond to region 1 on the images. All values above the blue lines visible as crosses in circles correspond to tissue abnormalities. Region 3 represents the active tumour, region 4 the oedema infiltrated by tumour and region 5 the oedema. The green lines represent the best linear fit of the data. The red lines indicate the 95 % confidence interval for the linear regression fit. Ch, choline-containing compounds; NAA, total N-acetyl aspartate; Cr, total creatine; Glx, glutamine and glutamate; Ins, myo-inositol; Lac, lactate; MM + Lip, macromolecules and lipids; T2, T2 relaxation time; MD, mean diffusivity; I, signal intensity

create complicated correlation patterns, their analysis provides unique information about the abnormal tissue. Our method is based on the fact that although tissues in different conditions may reveal similar values in individual parameters, they create separate characteristic clusters in the correlation plot that consequently enable their differentiation. For example, oedema infiltrated by tumour exhibits the same MD as oedematous tissue, but it is located in a different part of the correlation plot because of the increased choline levels caused by tumour proliferation. Conversely, tumour infiltration has the same Cho values as oedema infiltrated by tumour, but as both exhibit a different tissue structure as revealed by MD, they belong to different clusters. Previous studies reported the use of Cho-MD correlations for tissue differentiation; however, we found that even a combination of these two parameters was insufficient. The differentiation of healthy GM, CSF, tumour and oedematous tissues fails as long as only Cho-MD correlations are used. They show similar patterns, especially in LGG and LYM. This uncertainty can be overcome by using the NAA-MD, NAA-T2 correlations as NAA is significantly higher in GM than in lesions (see Fig. 4). Areas surrounding HGG may exhibit increased or unchanged Cr, and the same MD and T2 values compared to healthy GM and/or CSF. We, as well as Oh [18], hypothesise that it could be oedema infiltrated by tumour that shows the same patterns as healthy GM.

The oedematous regions were characterised by a positive MD-T2 correlation. Oedema exhibited higher relaxation values than tumorous regions (region 3 vs. 4 vs. 5 in Figs. 1, 2, 3 and 4). The increased water content in the extracellular space in those regions is the result of reactive changes of the

normal brain tissue in response to the tumour. Oh [18] concluded that quantitative T2 values may distinguish pure vasogenic oedema from infiltrative tumour, which is in agreement with our results. Only moderately increased MD and T2 values in region 2 may be caused by an emerging vasogenic oedema in response to the presence of tumorous cells (proved by increased Cho). This explanation corresponds to [17], which found normal levels of anisotropic diffusion (FA), but abnormally high isotropic diffusion (MD) in the region between the tumour mass and normal brain.

The results proved uneven tumour growth (see numbered paragraphs in Results). Correlation patterns reflect the heterogeneity of the tissue in the ROI, so the ROI should be placed to cover the tissue from the tumour centre across its vicinity as well as the distant healthy tissue. If all tissue subtypes are incorporated in the selected ROI, correlation patterns correspond to patterns in Fig. 4. When the ROI has a different size or is placed in a different direction, only part of the patterns of Fig. 4 may be observed according to the tissues involved (Figs. 1, 2 and 3).

Stereotactic biopsy independently localised in region 3 and 6 confirmed the automatic assessment of these regions as a tumorous tissue and a necrotic tumour respectively in each patient (see Figs. 1, 2 and 3).

Specific metabolic profiles characterising tumour types are known [2, 5, 15]; nevertheless, the possibility of tumour grade prediction was controversial. We discovered that different tumour types exhibit specific correlation patterns (Fig. 4). Although individual correlations cannot predict the grade of the tumour, we hypothesise that the following combinations enable their grading: Cho-MD, Cho-T2, Cho/Cr-MD, Cho/Cr-T2, Ins-MD, Ins-T2, Lac/Cr-MD and Lac/Cr-T2 for long TE; or Cho-MD, Cho-T2, Cho/Cr-MD, Cho/Cr-T2, Ins-MD, Ins-T2, MM + Lip/Cr-MD and MM + Lip/Cr-T2 for short TE.

LGG showed positive MD-T2 correlations, which means an increased extracellular space and subsequently an increased amount of free water [5, 18, 25]. A similar behaviour (increase of MD and T2) was observed in the contrast-enhanced HGG; however, in this case we suppose that an increase of MD and T2 might be caused by necrotic changes in the tissue (i.e., increased water mobility), which would correspond to the observed contrast enhancing [26].

A dense non-enhancing tissue in the proximity of HGG exhibited low MD and high T2 values, so it is characterised by different correlation patterns. We therefore hypothesise that the highly cellular tumour shrinks the extracellular space (leading to low MD) because of an increment in tumour cellularity and causes cellular swelling, leading to increased water content in the intracellular space (and an increase of T2) [27–29]. However, if an oedema occurs,

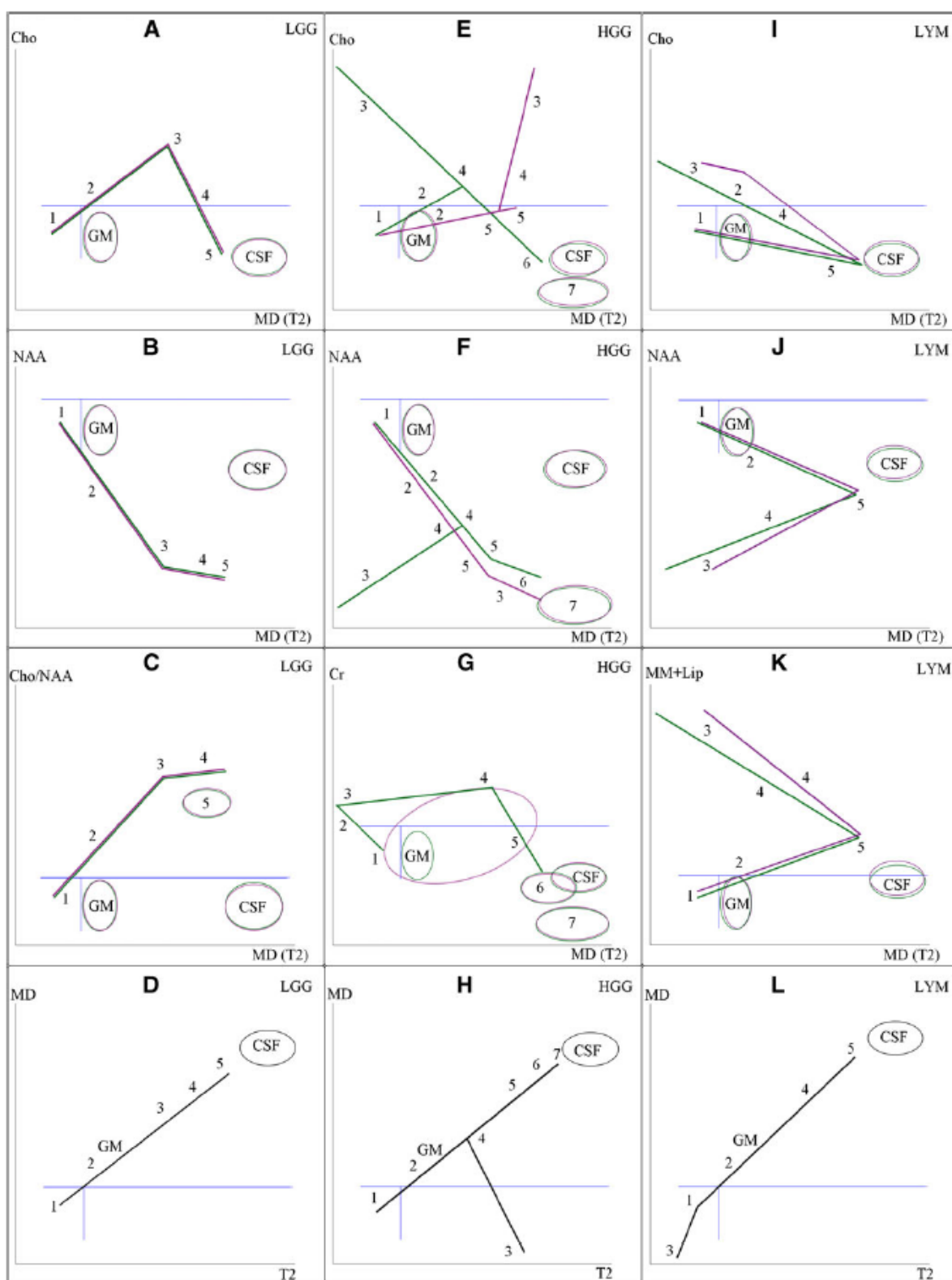


Fig. 4 Schematic correlations in low-grade gliomas (LGG), high-grade gliomas (HGG) and lymphomas (LYM). The patterns correspond to correlations in primary brain lesions in individual patients, LGG in the first column, HGG in the second column and LYM in the last column. The x-axis represents MD or T2 values, y-axis metabolite values. Blue lines determine the hypothetic borders of the control data (i.e., MAX values used for automatic patients' evaluation). Cho-MD (green), Cho-T2 (violet) correlations are in the first row, NAA-MD (green), NAA-T2 (violet) in the second row. The third row shows correlations Cho/NAA-MD (green) and Cho/NAA-T2 (violet) for LGG, Cr-MD (green) and Cr-T2 (violet) for HGG, MM+Lip-MD (green) and MM+Lip-T2 (violet) for LYM. MD-T2 correlation for all tumour types is in the last row. Region 1 corresponds to the healthy tissue, region 2 to the transition zone (infiltrative tumour), region 3 to the active tumour, region 4 to the oedema infiltrated by tumour, region 5 to the oedema, region 6 to the tumour/necrosis and region 7 to the necrosis. GM, gray matter; CSF, cerebrospinal fluid; Cho, choline-containing compounds; NAA, total N-acetyl aspartate; Cr, total creatine; MM+Lip, macromolecules and lipids; T2, T2 relaxation time; MD, mean diffusivity

decreased MD caused by putative high tumour cellularity is not observable [28].

MD lower than the MIN values and normal T2 observed in LYM could be a sign of a shrunken extracellular space and a small amount of free water [30]. Although Guo [31] observed significantly lower MD and higher cellularity in LYM compared to HGG, we found no significant differences in MD. However, they differ in Cho: More aggressive HGG exhibited high Cho values, whereas LYM revealed values similar to the healthy tissue.

Different tumour types also revealed characteristic spectroscopic profiles. High Cho and Lac, and low NAA in HGG is caused by aggressive tumour proliferation and cell and neuronal disruption, whereas slightly increased Cho and Ins and moderate NAA are signs of tumour proliferation, glial changes and decreased neuronal activity [1, 2, 5]. The LYM reveals high MM + Lip produced by free fatty acids caused by cell membrane degradation and moderately increased Cho and low NAA, which are signs of tumour proliferation and neuronal damage.

Although quantitative data analysis seems to be a promising tool, a collection of data from different MR methods is linked to a series of difficulties that may influence the results. The major problem is an unavoidable chemical shift artefact, which we minimised as described in ESM 1. Furthermore, the mathematical simulations revealed [14] that a partial volume effect can influence the slope of correlations, but cannot create them.

In conclusion, this study summarises the quantitative MR features such as metabolite levels, diffusion coefficients and relaxation times in different tumours and tissue types. We determined specific patterns of correlations between the MR parameters that differentiate basic tumours types in the white matter. Although individual parameters are not able to describe the complexity of a highly heterogeneous tissue

in the tumour and in its vicinity, we believe that a combination of different MR parameters on a pixel-by-pixel basis and their relations may help in better identification of tumour type, assessment of tumour extension, direction of proliferation and better understanding of biochemical processes inside the tumour.

Acknowledgements The study was supported by the following grant projects: IGA MZCR NS/9654-4 and MZCR 00023001IKEM.

References

- Di Costanzo A, Scarabino T, Trojsi F et al (2008) Proton MR spectroscopy of cerebral gliomas at 3 T: spatial heterogeneity, and tumour grade and extent. *Eur Radiol* 18:1727–1735
- Sibtain NA, Howe FA, Saunders DE (2007) The clinical value of proton magnetic resonance spectroscopy in adult brain tumours. *Clin Radiol* 62:109–119
- Stadlbauer A, Gruber S, Nimsky C et al (2006) Preoperative grading of gliomas by using metabolite quantification with high-spatial-resolution proton MR spectroscopic imaging. *Radiology* 238:958–969
- Majos C, Alonso J, Aguilera C et al (2003) Proton magnetic resonance spectroscopy (1 H MRS) of human brain tumours: assessment of differences between tumour types and its applicability in brain tumour categorization. *Eur Radiol* 13:582–591
- Howe FA, Barton SJ, Cudlip SA et al (2003) Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo 1 H magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med* 49:223–232
- Isobe T, Matsumura A, Anno I et al (2002) Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magn Reson Imag* 20:343–349
- Sijens PE, Oudkerk M (2002) 1 H chemical shift imaging characterization of human brain tumor and edema. *Eur Radiol* 12:2056–2061
- Fan G, Sun B, Wu Z, Guo Q, Guo Y (2004) In vivo single-voxel proton MR spectroscopy in the differentiation of high-grade gliomas and solitary metastases. *Clin Radiol* 59:77–85
- Chernov MF, Muragaki Y, Ochiai T et al (2009) Spectroscopy-supported frame-based image-guided stereotactic biopsy of parenchymal brain lesions: comparative evaluation of diagnostic yield and diagnostic accuracy. *Clin Neurol Neurosurg* 111:527–535
- Guillemin R, Menuel C, Duffau H et al (2008) Proton magnetic resonance spectroscopy predicts proliferative activity in diffuse low-grade gliomas. *J Neurooncol* 87:181–187
- McKnight TR, Lamborn KR, Love TD et al (2007) Correlation of magnetic resonance spectroscopic and growth characteristics within Grades II and III gliomas. *J Neurosurg* 106:660–666
- Rollin N, Guyotat J, Streichenberger N, Honnorat J, Tran Minh VA, Cotton F (2006) Clinical relevance of diffusion and perfusion magnetic resonance imaging in assessing intra-axial brain tumors. *Neuroradiology* 48:150–159
- Krabbe K, Gideon P, Wagn P, Hansen U, Thomsen C, Madsen F (1997) MR diffusion imaging of human intracranial tumours. *Neuroradiology* 39:483–489
- Wagnerova D, Jiru F, Dezortova M, Vargova L, Sykova E, Hajek M (2009) The correlation between 1 H MRS choline concentrations and MR diffusion trace values in human brain tumors. *Magn Reson Mater Phys* 22:19–31

15. Wagnerova D, Urgosik D, Syrucek M, Hajek M (2011) Using a combination of magnetic resonance techniques for tumor diagnosis. *Cesk Slov Neurol N* 74:150–156
16. Khayal IS, Ceawford FW, Saraswathy S et al (2008) Relationship between choline and apparent diffusion coefficient in patients with gliomas. *J Magn Reson Imaging* 27:718–725
17. Wright AJ, Fellows G, Bymes TJ et al (2009) Pattern recognition of MRSI data shows regions of glioma growth that agree with DTI markers of brain tumor infiltration. *Magn Reson Med* 62:1646–1651
18. Oh J, Cha S, Aiken AH et al (2005) Quantitative apparent diffusion coefficients and T2 relaxation times in characterizing contrast enhancing brain tumors and regions of peritumoral edema. *J Magn Reson Imaging* 21:701–708
19. Rock JP, Scapace L, Hearshen D et al (2004) Associations among magnetic resonance spectroscopy, apparent diffusion coefficients, and image-guided histopathology with special attention to radiation necrosis. *Neurosurgery* 54:1111–1117
20. Catalaa I, Henry R, Dillon WP et al (2006) Perfusion, diffusion and spectroscopy values in newly diagnosed cerebral gliomas. *NMR Biomed* 19:463–475
21. jSIPRO [computer program]. Available via <http://www.sites.google.com/site/jsiprotool/>
22. FSL [computer program]. Available via <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>
23. Herynek V, Wagnerova D, Hejlova I, Dezortova M, Hajek M (2012) Changes in the brain during long-term follow-up after liver transplantation. *J Magn Reson Imaging* 35:1332–1337
24. Jiru F, Skoch A, Klose U, Grodd W, Hajek M (2006) Error images for spectroscopic imaging by LCModel using Cramer-Rao bounds. *Magn Reson Mater Phy* 19:1–14
25. Just M, Thelen M (1988) Tissue characterization with T1, T2 and proton density values: results in 160 patients with brain tumors. *Radiology* 169:779–785
26. Kono K, Inoue Y, Nakayama K et al (2001) The role of diffusion-weighted imaging in patients with brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol* 22:1081–1088
27. Calvar JA, Meli FJ, Romero C et al (2005) Characterization of brain tumors by MRS, DWI and Ki-67 labeling index. *J Neuro-oncol* 72:273–280
28. Eis M, Els T, Hoehn-Berlage M, Hossman KA (1994) Quantitative diffusion MR imaging of cerebral tumor and edema. *Acta Neurochir* 60:344–346
29. Muti M, Aprile I, Principi M et al (2002) Study on the variations of the apparent diffusion coefficient in areas of solid tumor in high grade gliomas. *Magn Reson Imag* 20:635–641
30. Maeda M, Maier SE, Sakuma H, Ishida M, Takeda K (2006) Apparent diffusion coefficient in malignant lymphoma and carcinoma involving cavernous sinus evaluated by line scan diffusion-weighted imaging. *J Magn Reson Imaging* 24:543–548
31. Guo AC, Cummings TJ, Dash RC, Provenzale JM (2002) Lymphomas and high-grade astrocytomas: comparison of water diffusibility and histologic characteristics. *Radiology* 224:177–183