



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

## ROZPRAWA DOKTORSKA

Mgr inż. Marcin Michał Sińczuk

Środowiskowa Pracownia Nowych Zastosowań Diagnostycznych  
Jądrowego Rezonansu Magnetycznego  
CNS Lab

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

Promotor: prof. dr hab. inż. Piotr Bogorodzki



## Podziękowania

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

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

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

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

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

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



# Streszczenie

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

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

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

# Abstract

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

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

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

# Spis Treści

<b>Streszczenie</b> .....	<b>5</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>6</b>
<b>Spis Treści</b> .....	<b>7</b>
<b>I. Wprowadzenie i studia literaturowe</b> .....	<b>8</b>
1. Wstęp.....	8
2. Spektroskopia Rezonansu Magnetycznego (MRS).....	11
2.1. Podstawy spektroskopii rezonansu magnetycznego.....	11
2.2. Widmo spektroskopii NMR.....	19
2.3. Techniki MRS w badaniach in-vivo.....	24
2.4. Tłumienie sygnału wody.....	26
2.5. Korekta pola magnetycznego.....	29
2.6. Archiwizacja danych w systemie MR.....	31
2.7. Jakość i przetwarzanie widma MRS.....	32
2.8. Zastosowania kliniczne spektroskopii rezonansu magnetycznego.....	34
3. Termometria spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRSt).....	40
3.1. Termoregulacja.....	40
3.2. Przegląd literatury.....	41
3.3. Podsumowanie i zasady działania.....	52
<b>II. Badania własne</b> .....	<b>57</b>
4. Techniki i metody badawcze.....	58
4.1. Aplikacja TermoM do obróbki i analizy widm MRS w technice MRSt.....	58
4.2. Opracowanie fantomu i procedury kalibracyjnej do bezwzględnego pomiaru temperatury.....	64
4.2.1. Projekt Fantomu MRS.....	64
4.2.2. Opis zastosowanej procedury kalibracyjnej.....	65
4.3. Pomiar temperatury mózgu in vivo.....	70
4.3.1. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę.....	70
4.3.2. Pomiar temperatury w zmianach nowotworowych.....	72
5. Wyniki badań własnych.....	75
5.1. Przetwarzanie i analiza danych z fantomu MRS.....	75
5.2. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę mózgu.....	82
5.3. Pomiar temperatury zmian nowotworowych mózgu.....	91
6. Podsumowanie i wnioski końcowe.....	98
<b>Bibliografia</b> .....	<b>101</b>
<b>Załączniki</b> .....	<b>110</b>
Załącznik A. Dane do rozdziału 5.1.....	110
Załącznik B. Dane do rozdziału 5.2.....	112
Załącznik C. Dane do rozdziału 5.3.....	121
<b>Wykaz użytych skrótów</b> .....	<b>122</b>
<b>Wykaz użytych symboli</b> .....	<b>124</b>
<b>Spis Rysunków</b> .....	<b>126</b>
<b>Spis Tabel</b> .....	<b>130</b>

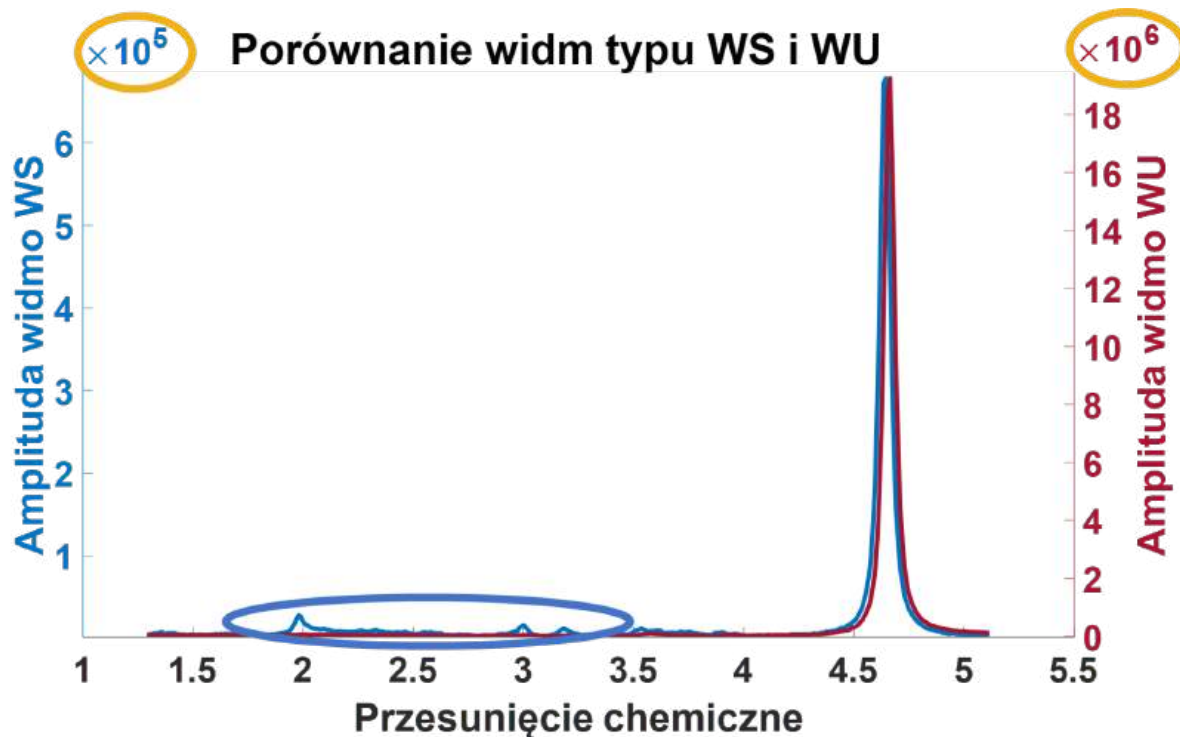
# I. Wprowadzenie i studia literaturowe

## 1. Wstęp

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

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

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



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

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

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

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

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

**Dodatkowo celami niniejszej pracy było:**

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

## 2. Spektroskopia Rezonansu Magnetycznego (MRS)

### 2.1. Podstawy spektroskopii rezonansu magnetycznego

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

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

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

Izotopy posiadające niezerowy jądrowy moment magnetyczny oddziałują z zewnętrznym polem magnetycznym. Powiązana energia potencjalna ( $E$ ) jest równa iloczynowi momentu magnetycznego ( $\vec{\mu}$ ) i przyłożonego zewnętrznego pola magnetycznego ( $\vec{B}_0$ ), co można opisać wzorem (1):

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0, \quad (1)$$

gdzie:

$E$  – energia potencjalna [J],

$\vec{\mu}$  – moment magnetyczny [ $\frac{\text{J}}{\text{T}}$ ],

$\vec{B}_0$  – zewnętrzne pole magnetyczne [T].

Wielkość jądrowego momentu magnetycznego ( $\mu$ ) zależy od wewnętrznego spinowego momentu pędu ( $S$ ) oraz współczynnika żyromagnetycznego ( $\gamma$ ) jak opisano we wzorze (2):

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

gdzie:

$\mu$  – jądrowy moment magnetyczny [ $\frac{J}{T}$ ],

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

$S$  – spinowy moment pędu [ $J \cdot s$ ].

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

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

gdzie:

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

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

$q$  – ładunek elektryczny cząstki [C],

$m$  – masa cząstki [kg].

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

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

gdzie:

$E$  – energia potencjalna [J],

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

$S$  – spinowy moment pędu [ $J \cdot s$ ],

$B_0$  – zewnętrzne pole magnetyczne [T].

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

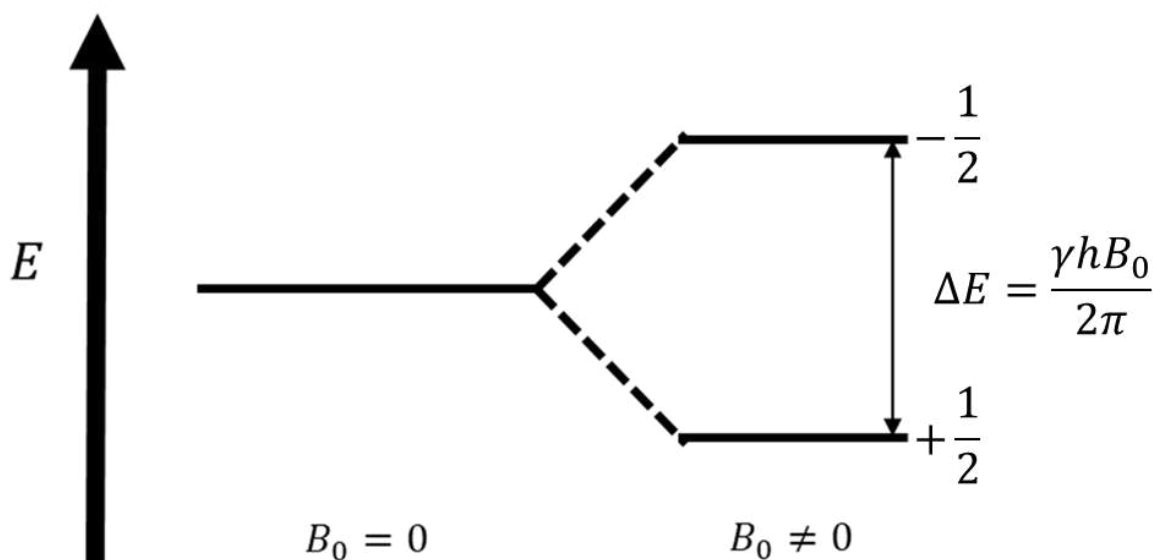
$$S = \frac{Ih}{2\pi}, \quad (5)$$

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

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

gdzie  $\mu_z$  jest składową  $\mu$  wzdłuż osi  $Z$ .

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



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

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

$$E = -\gamma m B_0 \frac{h}{2\pi}, m_I = -I, \dots, +I \quad (7)$$

gdzie:

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

$m_I$  — magnetyczna liczba kwantowa,  $m_I = -I, \dots, +I$ ,

$I$  — spinowa liczba kwantowa,

$B_0$  — indukcja zewnętrznego pola magnetycznego [T],

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

Energia promieniowania elektromagnetycznego potrzebnego do wzbudzenia przejścia między poziomami energetycznymi jest równa dokładnie różnicy energii pomiędzy stanami kwantowymi (w przypadku protonów, którego  $I = \frac{1}{2}$ , możliwe są dwie wartości

$m_I = \pm \frac{1}{2}$ ):

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

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

gdzie:

$\nu_0$  — częstotliwość rezonansowa [Hz]

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

$B_0$  — indukcja zewnętrznego pola magnetycznego [T],

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

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

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

gdzie:

$\omega_0$  — częstotliwość Larmora [Hz],

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

$B_0$  — indukcja zewnętrznego pola magnetycznego [T].

Przy powszechnie stosowanych indukcjach pola magnetycznego dostępnych obecnie dla spektroskopii MR in vivo ( $\approx 1$  do 7 Tesli) większość jąder magnetycznych rezonuje w obszarze widma elektromagnetycznego o wysokich częstotliwościach (np.  $\approx 42$ -300 MHz dla protonów). W klinicznych badaniach MRS najczęściej stosuje się magnesy (1,5T i 3,0T), odpowiadające częstotliwościom rezonansowym odpowiednio 64 i 128 MHz.

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

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

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

gdzie:

$\omega_0$  — jest zmodyfikowaną częstotliwością Larmora [Hz]

$B_0$  — stałe pole magnetyczne [T],

$\sigma$  — współczynnik ekranowania,

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

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

Ponieważ zarówno bariera energetyczna między poziomami energetycznymi jąder, jak i natężenie lokalnych pól magnetycznych, zależą od wielkości  $B_0$ , nie jest możliwe przedstawienie położenia sygnałów rezonansowych na widmie za pomocą bezwzględnych wartości częstotliwości (lub długości fali) absorbowanego promieniowania elektromagnetycznego. Taka prezentacja widm skutkowałaby różnymi wynikami w zależności od wartości indukcji pola magnetycznego w danym eksperymencie. To z kolei utrudniałoby porównywanie wyników eksperymentów przeprowadzanych w różnych

laboratoriach. Dlatego w spektroskopii NMR stosuje się podejście względne. W analizie widma dla określonego jądra atomowego wprowadza się substancję wzorcową, której sygnał rezonansowy stanowi punkt odniesienia (punkt 0) na skali. Położenie sygnałów rezonansowych próbki jest następnie określane względem sygnału rezonansowego wzorca, co umożliwia jednolite porównywanie wyników pomiarów między różnymi laboratoriami. Widmo może być wyświetlane z częstotliwościami bezwzględными w hercach [Hz] lub z przesunięciami częstotliwości w stosunku do omawianego wcześniej wzorca w następujący sposób:

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

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

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

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

Wielkość sygnału NMR zależy od sumy niezrównoważonych momentów magnetycznych w całej populacji spinów. Wektor namagnesowania, będący sumą wektorową wszystkich momentów magnetycznych w próbce, określa maksymalną amplitudę sygnału możliwą do uzyskania w eksperymencie NMR.

$$\mathbf{M} = \sum_{i=1}^N \boldsymbol{\mu}_i, \quad (13)$$

gdzie:

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

$N$  — liczba spinów (jąder) w próbce,

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

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

$$P_{góra} = \frac{N_{góra}}{N_{góra} + N_{dół}}, \quad P_{dół} = \frac{N_{dół}}{N_{góra} + N_{dół}}, \quad (14)$$

$$N_{góra} = e^{\frac{-E_{góra}}{k_B T}} = e^{\frac{\gamma \hbar B_0}{2k_B T}}, \quad N_{dół} = e^{\frac{-E_{dół}}{k_B T}} = e^{-\frac{\gamma \hbar B_0}{2k_B T}} \quad (15)$$

gdzie:

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

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

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

$B_0$  — wartość zewnętrznego pola magnetycznego [T],

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

$T$  — absolutna temperatura spinów [K],

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

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

$$\langle \mu \rangle = \frac{\gamma \hbar}{2} (P_{góra} - P_{dół}) = \frac{\gamma^2 \hbar^2 B_0}{4k_B T}, \quad (16)$$

$$M = N \frac{\gamma^2 \hbar^2 B_0}{4k_B T}, \quad (17)$$

gdzie:

M — wypadkowy moment magnetyczny [ $\frac{J}{T}$ ]

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

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

N — liczba spinów,

$B_0$  — stała indukcja pola magnetycznego [T],

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

T — absolutna temperatura spinów [K].

Z powyższego wzoru (17) wynika, że jedynym praktycznym sposobem na zwiększenie wypadkowego momentu magnetycznego w próbce in vivo jest zwiększenie indukcji pola magnetycznego  $B_0$ .

## 2.2. Widmo spektroskopii NMR

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

$$S(t) = -\frac{\partial}{\partial t} (\vec{B}_1 \cdot \vec{M}_0), \quad (18)$$

gdzie :

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

$\vec{M}_0$  — rozkład magnetyzacji wewnątrz cewki w równowadze termodynamicznej przy określonej temperaturze  $T$  zgodne ze wzorem (17).

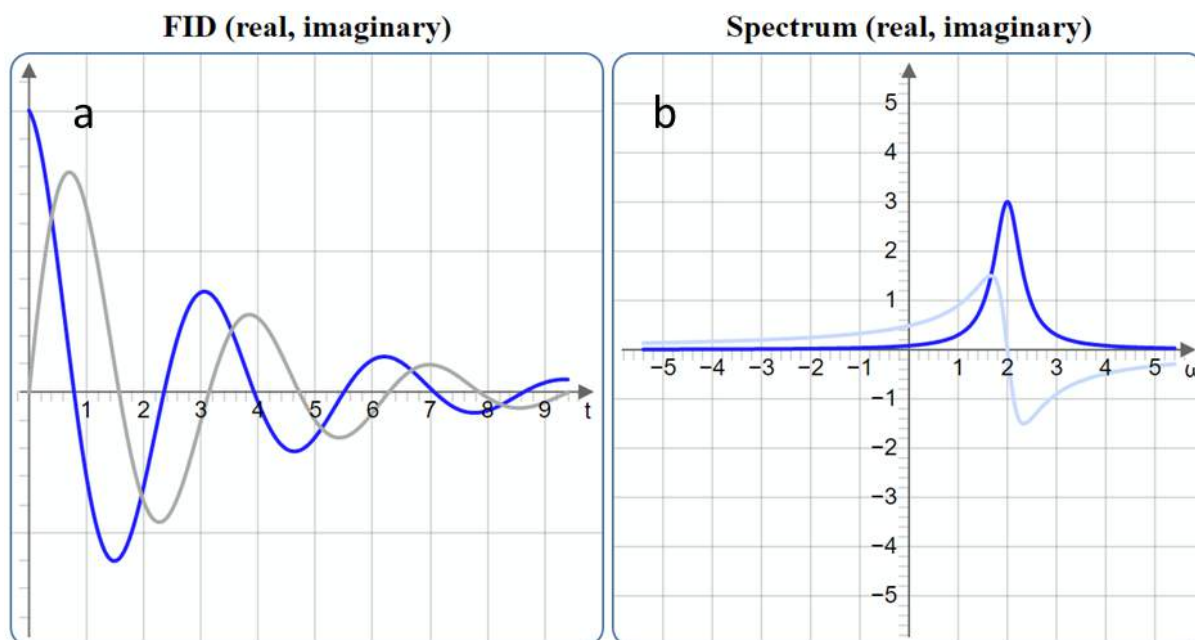
Dla próbki o objętości  $V_s$  w równowadze termodynamicznej siła elektromagnetyczna indukowana przez dany rozkład magnetyzacji składa się tylko z z-towej składowej magnetyzacji  $\vec{M}_0 = M(x, y, z) = M(0, 0, \frac{N\gamma^2 \hbar^2 B_0}{4kT})$  i określa ją wzór:

$$S(t) = -\int_{V_s} \frac{\partial}{\partial t} (\vec{B}_1 \cdot \vec{M}_0) d\vec{r}, \quad (19)$$

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

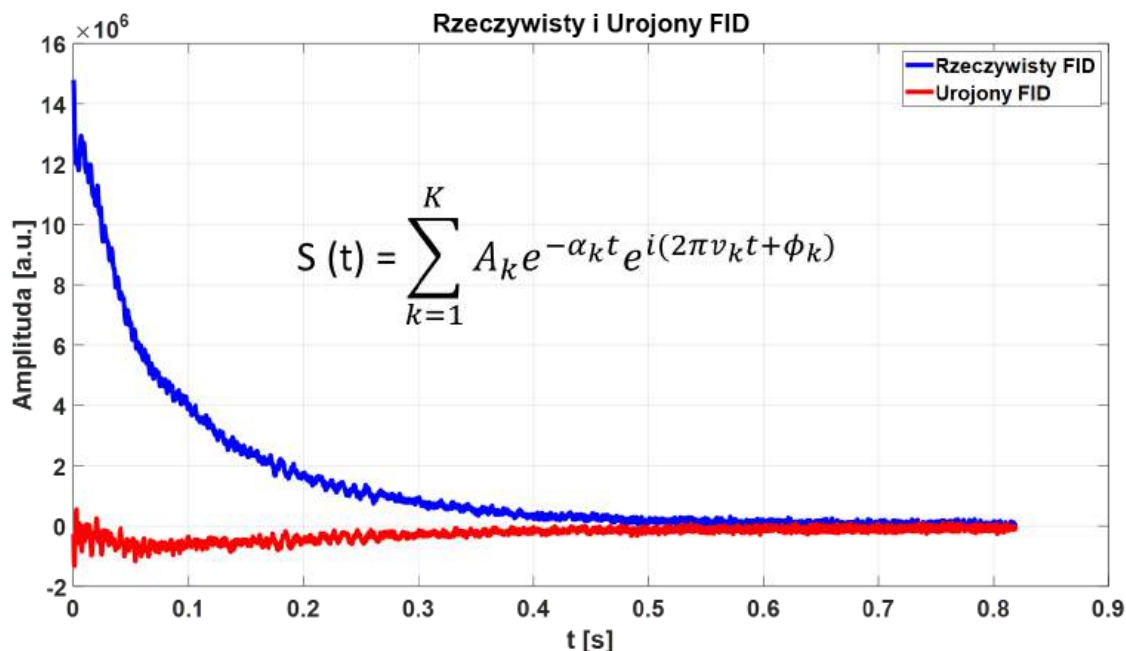
$$S(t) = \sum_{k=1}^K A_k \exp(-\alpha_k t) \exp[i(2\pi\nu_k t + \phi_k)], \quad (20)$$

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



Rysunek 3. Przykład dwóch sygnałów w dziedzinie czasu (a) i częstotliwości (b). Wykres (a) przedstawia sygnał w dziedzinie czasu (FID), gdzie linia niebieska reprezentuje składową rzeczywistą, a linia szara składową urojoną. Wykres (b) przedstawia widmo w dziedzinie częstotliwości, z którego wynika, że sygnał składa się z jednego piksu położonego na częstotliwości 2, niebieska linia oznacza składową rzeczywistą widma, a jasnoniebieska składową urojoną. Źródło: [https://resources.drcmr.dk/www/Docs/fid\\_spec\\_1peak.html](https://resources.drcmr.dk/www/Docs/fid_spec_1peak.html).

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



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

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

$$\mathcal{F}\{S(t)\} = F(v') = \int_{-\infty}^{\infty} f(t)e^{-i2\pi v't} dt, \quad (21)$$

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

$$S(v') = \mathcal{F}\{S(t)\}, \quad (22)$$

gdzie:

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

$S(t)$  — sygnał w dziedzinie czasu,

$\mathcal{F}\{\bullet\}$  — operator transformaty Fouriera zdefiniowany we wzorze (21).

Zakładając, że sygnał ze wzoru (20) pojawia się wraz z początkiem akwizycji w chwili  $t=0$ , to:

$$S(v') = \int_0^{\infty} A_k \exp(i\phi_k) \exp\{-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')t\} dt = \quad (23)$$

$$S(v') = \left| \frac{A_k \exp(i\phi_k) \exp\{-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')t\}}{-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')} \right| = \frac{A_k \exp(i\phi_k)}{-\alpha_k + i2\pi(v_k - v')}, \quad (24)$$

$$S(v') = \exp(i\phi_k) [R(v') + I(v')], \quad (25)$$

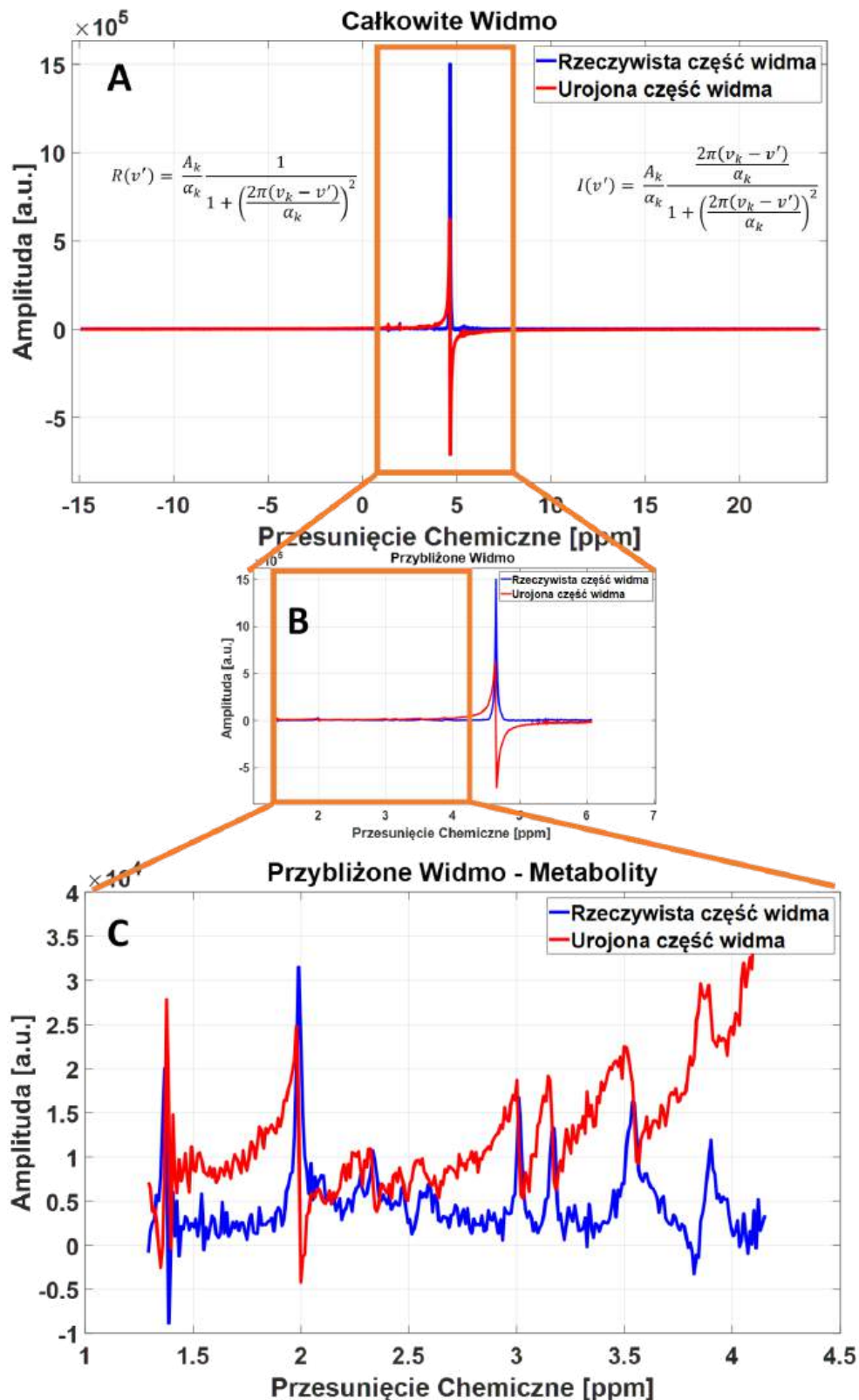
$$R(v') = \frac{A_k}{\alpha_k} \frac{1}{1 + \left(\frac{2\pi(v_k - v')}{\alpha_k}\right)^2}, \quad (26)$$

$$I(v') = \frac{A_k}{\alpha_k} \frac{\frac{2\pi(v_k - v')}{\alpha_k}}{1 + \left(\frac{2\pi(v_k - v')}{\alpha_k}\right)^2}, \quad (27)$$

$R(v')$  i  $I(v')$  to odpowiednio rzeczywista i urojona część zespolonej linii Lorentza. W konsekwencji  $\exp(i\phi_k)$  jest współczynnikiem fazy, który modyfikuje kombinację części rzeczywistych i urojonych w pojawiającym się widmie. W praktyce, aby uzyskać kanoniczny

kształt linii Lorentza w widmie rzeczywistym, stosuje się korektę zwaną fazowaniem zerowego rzędu z empirycznie wyprowadzonym  $\exp(-i\phi_k)$ .

Widmo uzyskane dzięki transformacji Fouriera przedstawia charakterystyczne piki rezonansowe, z których każdy odpowiada określonej grupie jąder atomowych obecnych w próbce (np. używając  $^1\text{H-MRS}$  zbieramy dane z grup wodorowych). Położenie pików na osi częstotliwości bezpośrednio odzwierciedla skład chemiczny tkanek lub substancji, ponieważ różne związki chemiczne charakteryzują się specyficznymi częstotliwościami rezonansowymi. Amplituda poszczególnych pików jest proporcjonalna do liczby jąder generujących dany rezonans, co umożliwia ilościową analizę składu próbki. Przechodząc z dziedziny czasu do dziedziny częstotliwości, badacze mogą identyfikować konkretne związki chemiczne, analizować ich stężenia oraz uzyskiwać informacje o strukturze i otoczeniu atomów w badanej próbce (Rysunek 5).



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

### 2.3. Techniki MRS w badaniach *in-vivo*

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

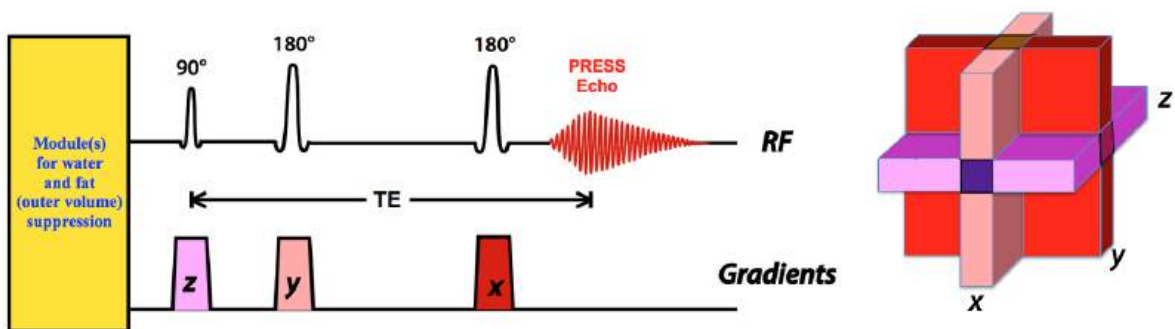
Podstawowy eksperyment MRS polega na wzbudzeniu jąder za pomocą impulsu radiowego (RF) oraz akwizycji generowanego sygnału. Po wzbudzeniu sygnał stopniowo zanika, z powodu statycznych i dynamicznych niejednorodności pola magnetycznego. Wpływ statycznych niejednorodności można złagodzić, stosując impuls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

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

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

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

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



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

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

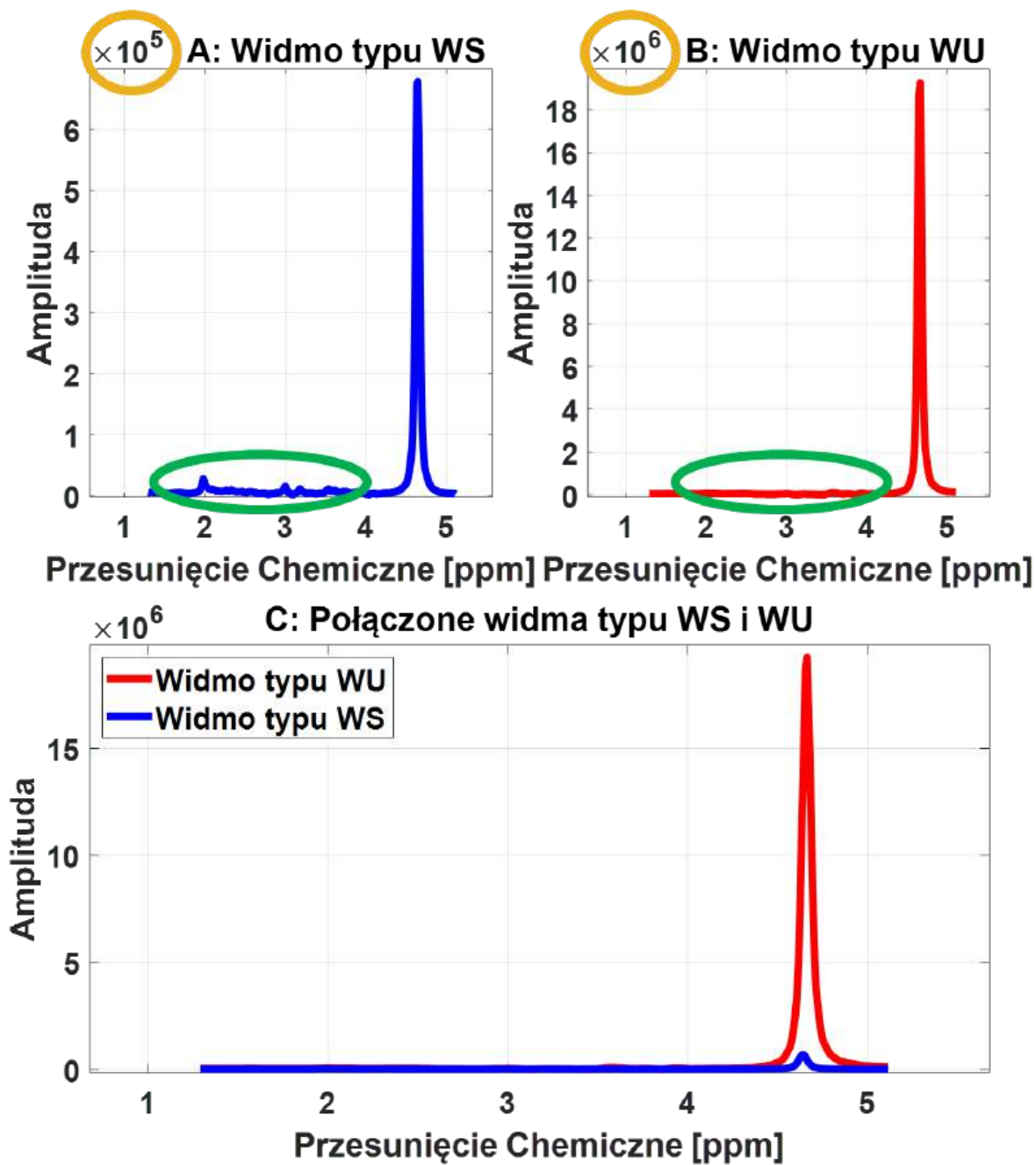
- Czas echa (TE): możliwie najkrótszy (zazwyczaj 30ms).
- Czas repetycji (TR): 1,5s w skanerach 1,5T i 2,0s w skanerach 3T.
- Zaleca się stosowanie co najmniej 1024 zespolonych punktów zebranych przy szerokości spektralnej widma 2 kHz.
- Liczba uśrednień i wielkość woksela:
  - 128 uśrednień zebranych z woksela 15x15x15 mm<sup>3</sup> w skanerach 3T.
  - 64 uśrednień zebranych z woksela 20x20x20 mm<sup>3</sup> w skanerach 3T.
  - 256 uśrednień zebranych z woksela 15x15x15 mm<sup>3</sup> w skanerach 1,5T.
  - 128 uśrednień zebranych z woksela 20x20x20 mm<sup>3</sup> w skanerach 1,5T.

## 2.4. Tłumienie sygnału wody

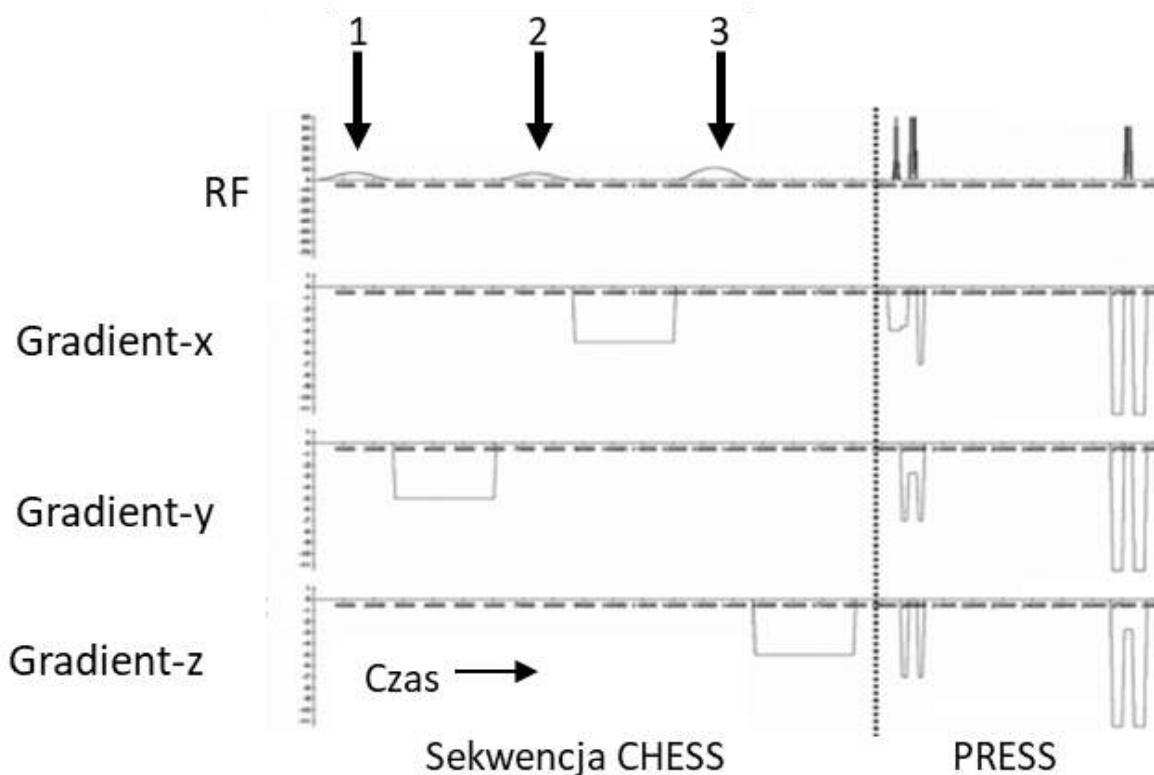
Stężenia metabolitów w mózgu są rzędu 10 mmol lub mniej, podczas gdy stężenie protonów wody w korze mózgowej sięga około 80 mol. Różnica ta, sięgająca trzech rzędów wielkości, stanowi istotne wyzwanie analityczne. Dominujący sygnał pochodzący od protonów wody skutecznie maskuje sygnały metabolitów, co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

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

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



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



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

## 2.5. Korekta pola magnetycznego

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

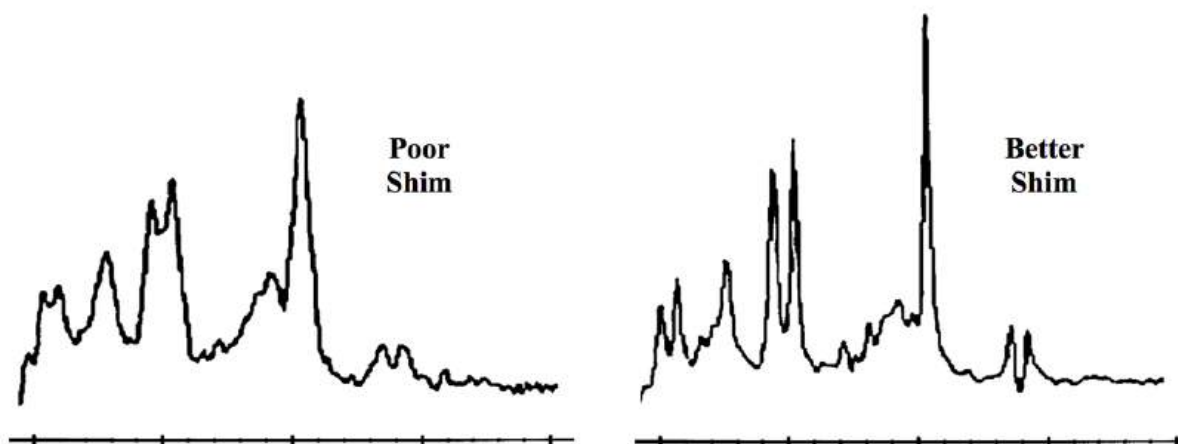
Wszystkie te czynniki zakłócające prowadzą do niejednorodnego pola magnetycznego, co skutkuje szerokimi pikami, które trudno odseparować od siebie. Niska rozdzielczość pików utrudnia ich ilościową analizę, czyniąc ją niewiarygodną [27]. Zalety MRS wynikają z precyzyjnej ilościowej analizy metabolitów,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

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

Aby skorygować niejednorodności pola, stosuje się specjalne cewki korekcyjne, które w zależności od źródła problemu mogą kompensować pole magnetyczne magnezu, sondy lub próbki [28].

Proces korekcji polega na poprawie rozdzielczości sygnału poprzez wyrównanie jednorodności pola magnetycznego w obszarze woksela. Można to osiągnąć poprzez otoczenie próbki cewkami korekcyjnymi, z których każda generuje niewielkie pole magnetyczne o profilu przestrzennym, które może kompensować niejednorodności głównego pola magnetycznego. Regulacja prądu przepływającego przez każdą z cewek pozwala osiągnąć pożądaną jednorodność pola. Cewki klasyfikuje się na podstawie profili pola, jakie generują. Na przykład cewki oznaczone jako **x**, **y** i **z** mogą wytwarzać zmienne pola magnetyczne w odpowiednich kierunkach. Korekcja może być przeprowadzana automatycznie lub ręcznie [29-33].

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



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

## 2.6. Archiwizacja danych w systemie MR

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

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

## 2.7. Jakość i przetwarzanie widma MRS

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

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

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

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

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

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

## 2.8. Zastosowania kliniczne spektroskopii rezonansu magnetycznego

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

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

Czułość jąder wodoru jest dodatkowo zwiększona ze względu na korzystne czasy relaksacji metabolitów oraz obecność licznych protonów w ważnych metabolitach poprzez ich rezonanse wynikające z grup funkcyjnych, takich jak grupy metylowe ( $\text{CH}_3$ ). Aby technika  $^1\text{H}$ -MRS mogła być stosowana *in vivo*, opracowano techniki supresji wody i lipidów, które eliminują ich znacznie silniejsze sygnały, przy jednoczesnym zachowywaniu sygnałów metabolitów w zakresie milimolowym. Ponadto konieczne było również zapewnienie odpowiedniej jednorodności pola magnetycznego oraz wystarczającego natężenia, by uzyskać rozdzielczość umożliwiającą wykrycie stosunkowo niskich różnic w przesunięciach chemicznych protonów ( $\sim 10$  ppm).

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

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

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

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

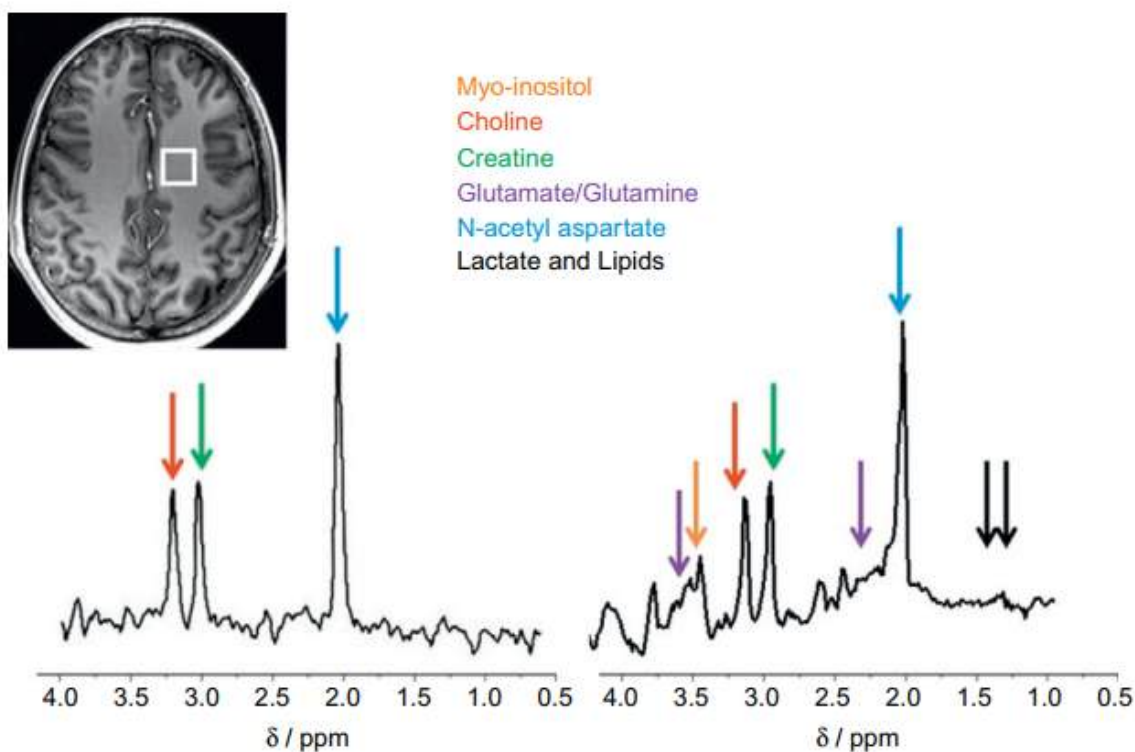
STEAM [60–63] wykorzystuje trzy impulsy o kącie 90 stopni i wykrywa stymulowane echo z objętości przecinanej przez wszystkie trzy impulsy, natomiast PRESS [64] używa jednego impulsu 90-stopniowego i dwóch impulsów 180-stopniowych (Rys. 8), aby wykrywać echo spinowe z wybranej objętości. W obu sekwencjach sygnały z obszarów poza pożądanym wokselem są eliminowane za pomocą gradientów kruszących [60]. W typowych badaniach wielkość woksela stosowana dla 1H-MRS mózgu wynosiła 8 cm<sup>3</sup>.

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

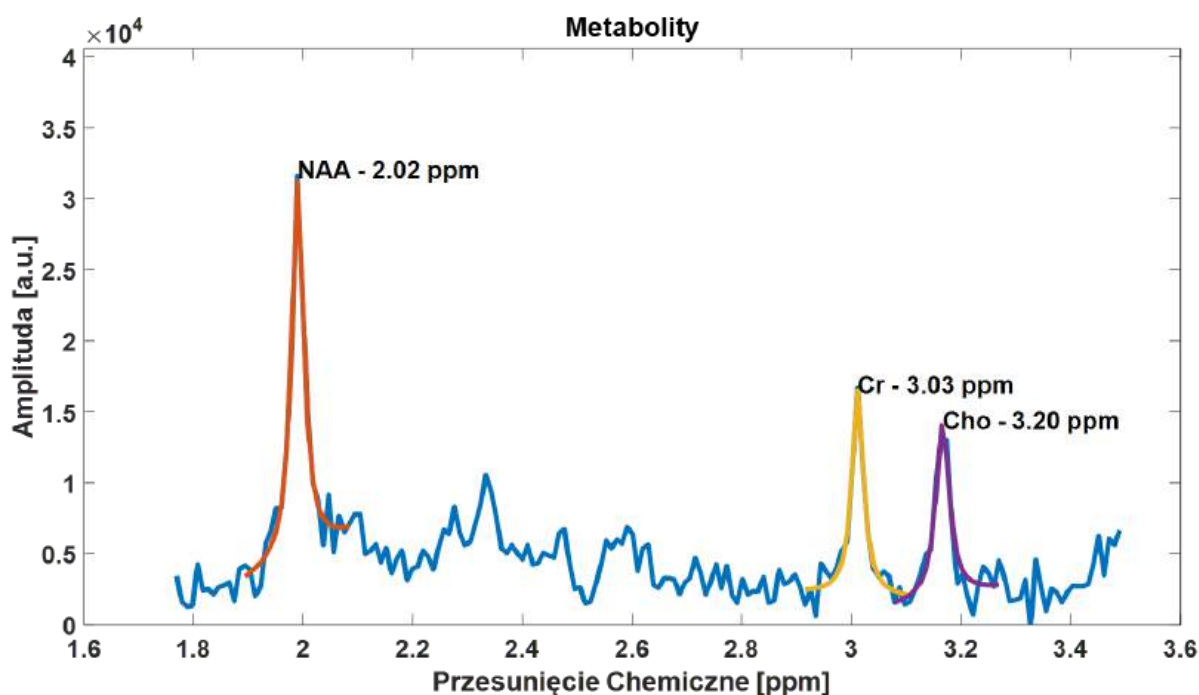
Dalszy rozwój spektroskopii MRS, szczególnie bardziej zaawansowanych technik lokalizacyjnych, otwiera nowe możliwości w diagnostyce klinicznej. Dzięki coraz większej precyzji i czułości, MRS pozwala na dokładniejsze monitorowanie zmian biochemicznych w

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

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



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



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

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

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

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

- **Kreatyna** - Rezonans metylowy kreatyny (Cre) pojawia się przy 3,03 ppm (Rysunek 11 oznaczenie kolorem żółtym) i tworzy złożony pik składający się zarówno z kreatyny jak i fosfokreatyny. Oba te związki uczestniczą w metabolizmie energetycznym za pośrednictwem reakcji katalizowanej przez kinazę kreatynowej, generując ATP. W wielu widmach obserwuje się również drugi rezonans pochodzący od grupy CH<sub>2</sub> kreatyny, przy 3,91 ppm, pod warunkiem, że nie został on nasycony impulsami tłumiącymi wodę. Badania In vitro pokazują, że komórki glejowe zawierają dwu- do czterokrotnie wyższe stężenie kreatyny niż neurony [78]. Kreatyna wykazuje także znaczne zróżnicowanie regionalne. W istocie białej występuje na niższym poziomie niż w istocie szarej w zdrowym dorosłym mózgu, natomiast w mózdzku poziomy Cre są znacznie wyższe niż w obszarach nadnamiotowych [79]. Ponieważ kreatyna jest syntetyzowana w wątrobie i transportowana do mózgu, przewlekłe choroby wątroby mogą prowadzić do obniżenia jej stężenia w mózgu [80]. Istnieje również rzadka grupa schorzeń, charakteryzujących się całkowitym niedoborem kreatyny w mózgu. Niedobór może być wynikiem braku jej syntezy w wątrobie, co jest spowodowane niedoborem transferazy metylu guanidyno octanu (GAMT) albo może wynikać z upośledzonego transportu kreatyny do mózgu [81-83].
- **Cholina** - Sygnał choliny (Cho) pojawia się przy 3,20 ppm (Rysunek 11 - oznaczenie kolorem fioletowym) i tworzy złożony pik, wynikający z obecności grup trimetyloaminowych (-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) w glicerofosfocholinie (GPC), fosfocholinie (PC) oraz w niewielkich ilościach w wolnej cholinie. Związki te odgrywają istotną rolę w syntezie i degradacji błon komórkowych, a ich podwyższenie często sugeruje stan chorobowy, charakteryzujący się zwiększoną wymianą błon komórkowych, jak w przypadku chorób nowotworowych. Badania wykazują, że komórki glejowe mają wysoki poziom Cho [84, 85]. Podwyższenie choliny obserwuje się również w przebiegu patologicznych procesów demielinizacyjnych [86], co może wynikać z degradacji fosfolipidów mieliny do GPC lub być związane z stanem zapalnym [87]. Podwyższony poziom choliny jest charakterystyczny dla wielu typów nowotworów, w tym guzów mózgu o wysokim stopniu złośliwości (o ile nie są martwicze), a także nowotworów prostaty, piersi, głowy, szyi oraz innych guzów. Szczególnie w przypadku transformacji nowotworowej obserwuje się wzrost stężenia fosfocholino-

względem GPC[88]. Niskie poziomy choliny w mózgu są natomiast związane z encefalopatią wątrobową [89]. Istnieją również dowody sugerujące, że poziom choliny w mózgu można modulować przez jej spożycie w diecie [90]. W obu przypadkach zmienione poziomy choliny mogą wynikać ze zmienionego (zmniejszonego lub powiększonego) transportu ogólnoustrojowego Cho do mózgu. Cho wykazuje ponadto regionalne zróżnicowanie w mózgu - jej poziomy są zwykle wyższe w istocie białej niż szarej, choć obszary takie jak wzgórze, podwzgórze i kora wyspowa również wykazują wysokie poziomy Choliny w zdrowym mózgu.

## 3. Termometria spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRSt)

### 3.1. Termoregulacja

Jak zostało to wspomniane we Wstępie, temperatura jest ważnym parametrem homeostatycznym organizmów żywych, gdyż jej regulacja odgrywa istotną rolę w fizjologii, odpowiadając za stabilizację temperatury wewnętrznej ciała mimo znacznych wahań temperatury otoczenia. Termoregulacja u człowieka jest złożonym, wielopoziomowym procesem, który polega na utrzymaniu stałej temperatury wewnętrznej na około 37°C. Ośrodkiem zajmującym się kontrolą termoregulacji jest podwzgórze - określany czasami potocznie jako termostat organizmu. Sygnały do podwzgórza docierają zarówno z obwodowych (np. w skórze), jak i centralnych (np. w naczyniach krwionośnych) receptorów termicznych. W odpowiedzi na sygnały o zwiększeniu lub zmniejszeniu temperatury ciała podwzgórze wysyła odpowiedź do efektorów termoregulacji w celu powrotu temperatury ciała do homeostazy. Efektory termoregulacji obejmują rozszerzenie naczyń skórnych, pocenie w przypadku podwyższonej temperatury, a także drżenie mięśniowe, skurcz naczyń, termogeneza metaboliczna oraz adaptacje metaboliczne i behawioralne w przypadku zmniejszonej temperatury [91].

W neurologii i medycynie kontrola temperatury ma istotne znaczenie ze względu na silną zależność wielu procesów patologicznych od temperatury (metabolizm, zapalenie, stres oksydacyjny). W medycynie kluczowym okazało się zastosowanie kontrolowanej hipotermii zwłaszcza w leczeniu noworodków z niedotlenieniem okołoporodowym [92] oraz ma ugruntowaną pozycję jako metoda neuroprotekcyjna stosowana u pacjentów po zatrzymaniu krążenia [93]. Jednocześnie dane dotyczące szerokiego stosowania hipotermii w urazach czaszkowo-mózgowych czy w udarze niedokrwiennym pozostają niejednoznaczne i wymagają selekcji pacjentów oraz optymalizacji parametrów (docelowa temperatura, czas trwania, tempo chłodzenia/ogrzewania i sposób chłodzenia). Przeglądy metodologiczne i narracyjne podkreślają korzyści biologiczne obniżenia temperatury mózgowej, ale także ryzyko powikłań i potrzebę dalszych badań randomizowanych w określonych populacjach chorych neurologicznie [94]. W klasycznych badaniach nad kontrolą temperatury do mierzenia jej stosuje się zazwyczaj termometry, które mierzą temperaturę w jamie ustnej, odbycie, bębunku jak i po pachą [95], ponieważ większość metod dostępnych do pomiaru temperatur wewnątrz pacjenta jest niestety inwazyjna. Dlatego tak ważne jest znalezienie metody, która pozwoliłaby na nieinwazyjną kontrolę temperatury wewnątrz ludzkiego ciała.

W sporcie manipulacja temperaturą służy zarówno poprawie wydolności w warunkach ciepłych (pre-cooling i per-cooling), jak i adaptacjom związanym z regeneracją i aklimatyzacją cieplną. Pasywne ekspozycje cieplne, takie jak regularne sesje w suchej saunie, bywają stosowane jako element programów regeneracyjnych [96,97]. W tych badaniach oprócz klasycznych termometrów rektalnych stosuje się też często termopary (czujniki temperatury umieszczane na skórze) lub termowizję podczerwieni, pozwalające na ocenę temperatury powierzchniowej.

Na tle przedstawionego tła fizjologicznego, klinicznego i aplikacyjnego wyraźnie widać, że jednym z kluczowych wyzwań pozostaje wiarygodny, nieinwazyjny pomiar temperatury mózgu *in vivo*. W kolejnych rozdziałach szczegółowo omówiona zostanie termometria z wykorzystaniem spektroskopii rezonansu magnetycznego – technika stanowiąca główny przedmiot niniejszej rozprawy i potencjalnie pozwalająca wypełnić tę lukę pomiarową.

### 3.2. Przegląd literatury

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

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

W 1995 roku Corbett i współpracownicy [6] przeprowadzili badania mające na celu ocenę potencjału wykorzystania różnicy przesunięcia chemicznego między sygnałami pików wody i N-acetyloasparagianu (W-NAA) do nieinwazyjnego pomiaru temperatury mózgu. Widma  $^1\text{H}$ -MRS uzyskano w polu magnetycznym 4,7 T przy użyciu cewki powierzchniowej. Eksperymenty na fantomach wykazały liniowy spadek różnicy przesunięcia chemicznego W-NAA wraz ze wzrostem temperatury (14 - 45°C) oraz brak wpływu zmiany pH (5,5 - 7,6) na tę zależność. Obecność białka (80 - 100 mg/ml) miała minimalny wpływ na parametry pomiaru. W badaniach *in vivo* badano temperatury mózgu ośmiu świń w zakresie temperatur od 23°C do 40°C w różnych stanach: neutralnym, hipotermii, niedokrwienia, stanu po niedokrwieniu oraz po śmierci. Porównania 61 pomiarów temperatur uzyskanych metodą MRSt z wynikami uzyskanymi za pomocą sondy optycznej umieszczonej na głębokości 1 cm w korze mózgowej wykazały doskonałą liniową zgodność (nachylenie =  $1,00 \pm 0,03$ ,  $r^2 = 0,96$ ). Autorzy wnioskowali końcowo, że spektroskopia  $^1\text{H}$  NMR jest praktycznym i precyzyjnym narzędziem do nieinwazyjnego pomiaru temperatury mózgu, z dokładnością wyższą niż  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

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

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

W 2006 roku Rachel Katz-Brull i współpracownicy [98] przeprowadzili badanie mające na celu analizę zmian temperatury i metabolizmu w pierwszorzędowej korze wzrokowej podczas wizualnej stymulacji, wykorzystując spektroskopię MRS, fMRI i MRI w skanerze 3T. Eksperyment obejmował dziewięciu zdrowych ochotników, którzy poddani byli 32-sekundowym blokom stymulacji wzrokowej. Do pomiaru temperatury zastosowano funkcje kalibracyjną opracowaną przez Cady'ego [7]. Autorzy odnotowali marginalnie istotny wzrost lokalnej temperatury kory wzrokowej o  $0,1^{\circ}\text{C}$  ( $p = 0,09$ ), co było sprzeczne z wcześniejszymi przewidywaniami o jej obniżeniu. Dodatkowo analiza stężeń metabolitów, takich jak mleczan, glutaminian czy cholina, nie wykazała znaczących zmian, co utrudniło interpretację procesów metabolicznych. Wyniki porównano z modelem równowagi termicznej, podkreślając rolę przepływu krwi w regulacji temperatury mózgu. Badanie dostarczyło cennych danych na temat procesów neuronalnych, jednocześnie wskazując na ograniczenia w interpretacji zależności między aktywacją neuronalną a zmianami temperatury i metabolizmu.

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

W 2008 roku Shiloh i współautorzy [12] przeprowadzili badanie oceniające temperaturę mózgu u pacjentów ze schizofrenią przy użyciu techniki MRSt. W badaniu uczestniczyło dziewięciu pacjentów ze schizofrenią i dziesięciu zdrowych ochotników, a pomiary temperatury wykonano w obszarach czołowym, potylicznym i wzgórza. Funkcja kalibracyjna do pomiaru temperatury pochodziła z badania Cady z 1995 roku [7]. U pacjentów ze schizofrenią stwierdzono wyraźnie wyższy gradient temperatury potyliczno-czołowej ( $1,27^{\circ}\text{C}$  vs.  $0,18^{\circ}\text{C}$  u osób zdrowych;  $p = 0,032$ ). Różnica temperatur między korą czołową a wzrokową wyniosła  $1,27^{\circ}\text{C}$  ( $p = 0,025$ ), co wskazywało na odmienną termoregulację w schizofrenii. Zaobserwowano także trend sugerujący związek między

gradientem temperatury a nasileniem objawów psychopatologicznych mierzonych skalą PANSS, choć nie osiągnął on istotności statystycznej. Wyniki badania podkreśliły wartość techniki MRS jako nieinwazyjnej metody monitorowania zmian temperatury mózgu w kontekście zaburzeń psychicznych.

W 2008 roku Zhu i współpracownicy [99] opublikowali badanie, które skoncentrowało się na doskonaleniu technik kalibracyjnych w termometrii MRS do pomiarów temperatury mózgu *in vivo*. Praca dostarczyła najbardziej precyzyjnej wówczas oceny zależności między częstotliwością rezonansu wody a temperaturą mózgu. Eksperymenty przeprowadzono na trzech szczurach, wykorzystując skaner MRI o wysokim polu magnetycznym (11,74 T) i spektroskopię MR opartą na sekwencji LASER. Podczas badania szczury umieszczono w łóżkach wodnych, a ich temperatura ciała i mózgu były monitorowane za pomocą chirurgicznie wszczepionych sond. Temperatura była stopniowo obniżana z 37,5°C do około 30°C w ciągu około 2,5 godziny. Widma MRS uzyskane w trakcie eksperymentu zostały poddane analizie z zastosowaniem trzech metod szacowania częstotliwości rezonansu wody oraz metabolitów: N-acetyloasparagianu (NAA), kreatyny i choliny, które pełniły funkcję wewnętrznych odniesień niezależnych od temperatury. Wyniki wykazały, że modelowanie widm w dziedzinie częstotliwościowej za pomocą krzywych Lorentza zapewniło najwyższą dokładność w określeniu zależności między częstotliwością rezonansu wody a temperaturą. Na tej podstawie opracowano trzy funkcje kalibracyjne dla liniowych zależności pomiędzy różnicami przesunięcia chemicznego pików wody i metabolitów (NAA, kreatyny i choliny) a temperaturą (Tabela 1), które zostaną szerzej opisane w rozdziale 3.2.. Autorzy szczegółowo omówili potencjalne źródła błędów w szacowaniu temperatury, wskazując, że największym ograniczeniem była precyzja w określaniu częstotliwości rezonansowych pików metabolitów, opisane szerzej w rozdziale 3.2. Badanie pokazało, że przy polu magnetycznym 3T możliwe jest uzyskanie dokładności szacowania temperatury na poziomie około 0,5°C, podczas gdy zastosowanie silniejszego pola (11,74 T) pozwalało na osiągnięcie znacznie wyższej precyzji, z błędem wynoszącym jedynie około 0,1°C. Wyniki te stanowiły istotny krok w kierunku bardziej precyzyjnych i wiarygodnych pomiarów temperatury mózgu *in vivo*.

Covaciu i współautorzy w 2010 [100] kalibrowali technikę MRSt za pomocą fantomów wodnych, badając przesunięcia chemiczne woda–NAA, woda–Cho i woda–Cre w zakresie temperatur 3°C–43°C. Pomiarzy przeprowadzono na skanerze 1,5T (Philips) na 18 zdrowych ochotnikach, analizując wksel w płacie ciemieniowym. Średnie temperatury mózgu wyniosły: T\_Cho 38,1°C, T\_Cre 38,0°C, T\_NAA 38,3°C, przewyższając temperaturę ciała (36,9°C,  $p < 0,0001$ ). Nie stwierdzono istotnej korelacji między temperaturą mózgu a ciała ( $r = 0,420$ ,  $p > 0,08$ ). Autorzy podkreślili, że MRSt z kalibracją fantomową jest dokładną

metodą pomiaru temperatury mózgu, a jej rozwój może wspierać diagnostykę i monitorowanie terapii pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi.

W 2010 roku Cady i współpracownicy [11] przeprowadzili badania dotyczące pomiaru temperatury mózgu w kontekście udarów i urazów. Autorzy podkreślili, że w przypadkach niedotlenienia podczas porodu, hipotermia może poprawić rokowania noworodków, jednak skuteczna terapia wymaga precyzyjnej informacji o lokalnej temperaturze mózgu. Autorzy wskazali, że N-acetyloasparaginian (NAA) jest kluczowym odniesieniem w MRS, choć jego stężenie może ulegać zmianom w wyniku patologii lub niedojrzałości mózgu. Aby zwiększyć dokładność pomiarów, zaproponowali metodę ważonego uśredniania amplitud (AWC) z wykorzystaniem NAA, choliny (Cho) i kreatyny (Cr) jako odniesień opisany dokładniej w rozdziale 3.2. Badania kalibracyjne przeprowadzone zostały na uśpionych prosiątach w 7T skanerze w temperaturze od 39°C do 30°C kontrolowanej za pomocą termometru doustnego. Badania in vivo przeprowadzone zostały na 13 noworodkach na skanerze 2.4T z wokselem umieszczonym w regionie wzgórza (Thal) i potyliczno-ciemieniowym (OP). Przy pomiarach temperatury zastosowano wyznaczone w badaniu funkcje kalibracyjne korzystające z różnic pomiędzy przesunięciem chemicznym pików wody w referencji do wybranych metabolitów. Następnie korzystając z tych wyników wykonano pomiar temperatury metodą AWC przy pomocy trzech sposobów ważenia: bez ważenia (N), ważeniem amplitudą (A) i kwadratem amplitudy ( $A^2$ ). Aby zasymulować ciężkie niedotlenienie okołoporodowe, amplitudy ACho, ACre i ANAA zostały zmniejszone odpowiednio o 34%, 14% i 28%. Dzięki temu oceniono odporność T-AWC na zmiany stężenia i relaksacji wynikające z niedotlenienia. Wyniki pokazały, że metoda ważonego uśredniania AWC była bardziej precyzyjna niż stosowanie pojedynczych referencji (NAA, Cho, Cre). Spośród zastosowanych wag, najniższe odchylenia standardowe (SD) osiągnięto przy ważeniu kwadratem amplitudy ( $A^2$ ). Podsumowując autorzy wnioskują, że metoda uśredniania AWC, szczególnie przy ważeniu kwadratem amplitudy (TAWC, $A^2$ ), znacząco poprawia precyzję pomiarów termometrii mózgu i wykazuje odporność na czynniki patologiczne. Badanie potwierdza jej przydatność w monitorowaniu temperatury mózgu noworodków podczas terapii hipotermii.

W 2014 roku Babourina-Brooks i współpracownicy [15] opublikowali badanie dotyczące wykorzystania termometrii 1H-MRS do monitorowania urazów mózgu, hipotermii i guzów mózgu, zwracając uwagę na niewystarczająco zbadane zastosowanie tej metody w diagnostyce guzów mózgu. Badacze stwierdzili, że częstotliwość rezonansu protonów wody (PRF) może być zależna od różnych czynników mikrośrodowiskowych, takich jak wymiana protonów z makrocząsteczkami czy stężenie jonów, co może wpływać na dokładność pomiaru. W badaniu przeanalizowano dane MRS z przypadków guzów mózgu u dzieci, obejmujące glejaki, rdzeniaki oraz próbki kontrolne zdrowych mózgow, rejestrowane za

pomocą skanera 1,5T. Wyniki pokazały, że średnie wartości PRF były wyższe dla rdzeniaków niż glejaków, a PRF dla glejaków był niższy w porównaniu do grupy kontrolnej. Zauważono, że pozorna temperatura w glejakach była o około 1,5°C wyższa niż w rdzeniakach oraz o około 0,7°C wyższa niż w zdrowym mózgu. Badanie wskazuje na potencjał wykorzystania PRF wody jako narzędzia w precyzyjnej diagnostyce guzów mózgu u dzieci, choć autorzy zauważają, że przesunięcia PRF mogą być również wynikiem zmian mikrostrukturalnych i innych parametrów, co wymaga dalszych badań.

W 2015 roku Rango i współpracownicy [101] przeprowadzili badanie mające na celu replikację eksperymentu Katz-Brulla z 2006 roku [98], analizując temperaturę mózgu w korze wzrokowej podczas jej aktywacji. Badaniem objęto 20 zdrowych ochotników korzystając z 1,5T skanera MR do pomiarów spektroskopowych. Woksel badany umieszczony został wzdłuż bruzdy kalkarynowej oraz w prawym środku półowalnym. Dane zbierano w trzech etapach: w spoczynku, podczas stymulacji wzrokowej oraz po jej zakończeniu. Do pomiarów temperatury wykorzystano dwie niezależne funkcje kalibracyjne opracowanych przez Corbetta [4] i Zhu [99]. U uczestników badania zaobserwowano, że w trakcie aktywacji temperatura mózgu początkowo pozostawała stabilna, a następnie spadała o 0,20°C, po czym wzrastała o 0,60°C po zakończeniu stymulacji. Zmiany te były związane z dynamicznymi procesami metabolicznymi, gdzie przepływ krwi wracał do normy zaraz po aktywacji, ale metabolizm tlenu i glukozy utrzymywał się na podwyższonym poziomie. Badanie wykazało, że zmiany temperatury mózgu w wyniku aktywacji mają kluczowe znaczenie dla jego funkcji biochemicznych i fizjologicznych. Wyniki wskazują, że stabilność temperatury mózgu jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania neuronów, a jej zmiany mogą mieć znaczenie w kontekście chorób takich jak stwardnienie rozsiane czy padaczka.

Artykuł Babourina-Brooks i współpracowników [102] z 2015 roku prezentuje możliwości zastosowania termometrii MRS w diagnostyce urazów i guzów mózgu, podkreślając wyzwania związane z kalibracją temperatury wynikające z czynników niezależnych od samej temperatury. Badacze skupili się na analizie wpływu stężenia białek i jonów na dokładność kalibracji w polu magnetycznym o natężeniu 3T. Eksperymenty przeprowadzono z użyciem fantomów, kontrolując ich temperaturę za pomocą cyrkulacji wody i zamrażania związków organicznych oraz dokonując pomiarów za pomocą sondy fluoro-optycznej. Wyniki wykazały, że wzrost stężenia albuminy surowicy wołowej (BSA) obniża temperaturę o 0,2°C na procent zawartości, natomiast wzrost stężenia jonów o 50 mM powoduje jej wzrost o 0,5°C. Porównanie z wcześniejszymi badaniami w polu 1,5T ujawniło różnice w krzywych kalibracyjnych, szczególnie przy roztworach zawierających 10% BSA, podkreślając wpływ wartości pola magnetycznego na wyniki. Autorzy konkludują, że termometria MRS, dzięki zdolności do precyzyjnego obrazowania temperatury i

mikrośrodowiska tkankowego, ma potencjał do rozwoju nowych metod diagnostycznych w neurologii.

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

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

W 2019 roku Verius i współpracownicy [103] opublikowali badanie, którego celem było podkreślenie znaczenia kalibracji w termometrii MRS dla precyzyjnego pomiaru temperatury mózgu oraz oceny potencjalnych zastosowań tej metody w praktyce klinicznej. Eksperyment przeprowadzono na skanerze 3T firmy Siemens, wykorzystując sekwencję spektroskopii pojedynczego woksela PRESS. Badanie składało się z dwóch etapów: kalibracji *in vitro* oraz pomiarów *in vivo* na zdrowych ochotnikach. W ramach kalibracji *in vitro* zastosowano fantom z kontrolowaną temperaturą, zawierający metabolity takie jak N-acetyloasparagian (NAA), kreatyna (Cr), protony metylowe kreatyny (Cr2),

dimetylosilapentanowy kwas sulfonowy (DSS) oraz mrówczan sodu (NaFor). Pomiaru in vivo wykonano na grupie 30 zdrowych ochotników, dokonując spektroskopii w trzech lokalizacjach mózgu: w prawej i lewej półkuli oraz na poziomie robaka mózdzku. Obliczenia temperatury oparto na korelacyjnych zależnościach pomiędzy wodą a metabolitami: NAA, Cre i Cr2. Dla porównania wykorzystano również funkcje kalibracyjne opracowane w badaniach takich autorów jak Covaciu [100], Cady [7] czy Corbetta [6,8]. Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem współczynnika korelacji Pearsona, aby ocenić zależność między przesunięciami chemicznymi wody i metabolitów a zmierzonymi temperaturami. Pomiaru kalibracyjne wykazały wysokie współczynniki korelacji dla NAA ( $0,9975 \pm 0,0609$ ), Cre ( $-0,9979 \pm 0,0621$ ), Cr2 ( $-0,9973 \pm 0,0577$ ), DSS ( $-0,9976 \pm 0,0615$ ) i NaFor ( $-0,8132 \pm 2,348$ ). Średnia temperatura mózgu, obliczona na podstawie funkcji korelacyjnych, wynosiła  $37,78 \pm 1,447^{\circ}\text{C}$ , podczas gdy średnia temperatura błony bębenkowej wyniosła  $36,83 \pm 0,2456^{\circ}\text{C}$ . Wartości temperatur uzyskane przy użyciu funkcji kalibracyjnych innych badaczy różniły się średnio o ponad  $1^{\circ}\text{C}$ . Wyniki badania podkreślają kluczową rolę dokładnych pomiarów kalibracyjnych w termometrii MRS. Autorzy zwracają uwagę, że brak kalibracji lub błędy w obróbce danych mogą znacząco obniżyć precyzję pomiarów temperatury, co wymaga szczególnej ostrożności przy interpretacji wyników. Zdaniem badaczy, konieczne są dalsze prace nad rozwojem tej metody, aby mogła zostać zaadaptowana do zastosowań klinicznych.

Artykuł naukowy opublikowany przez Dong i współautorów w 2022 roku [104] przedstawia analizę różnych metod pomiaru temperatury za pomocą termometrii MRS. Główne założenie artykułu koncentruje się podobnie do tej pracy na porównaniu dwóch podejść: wykorzystania widm z nietłumionym sygnałem wody (FW od ang. Full Water, typu WU) oraz widm z częściowo tłumionym sygnałem wody (PW od ang. Partial Water, typu WS). Celem badania było określenie, które z tych podejść prowadzi do mniejszych błędów w ocenie temperatury tkanek, co ma znaczenie w zastosowaniach klinicznych. Badanie przeprowadzono na grupie 26 uczestników przy użyciu skanera 3-T GE, stosując spektroskopię pojedynczego woksela. Każdy pacjent uczestniczył w pięciu 13-minutowych sesjach MRS, w trakcie których rejestrowano dwa rodzaje widm: bez tłumienia sygnału wody typu WU oraz 64 widm z częściowym tłumieniem sygnału wody typu WS. Analiza obejmowała pomiar różnic częstotliwości przesunięcia chemicznego pomiędzy różnymi kombinacjami sygnałów: pików wody z widma typu WU, pików wody z widm typu WS, uśrednionych sygnałów wody (W\_AV) przy użyciu N-acetyloasparagianu (NAA) jako metabolitu referencyjnego. W celu oceny dokładności pomiarów autorzy skupili się na analizie zmienności zarówno wewnątrzosobniczej, jak i międzyosobniczej. Wyniki wykazały, że największe błędy pomiarowe występowały w przypadku porównań częstotliwości przesunięcia chemicznego pomiędzy widmami WS i WU, co wynikało z wpływu tłumienia

wody na przesunięcia częstotliwości. Stwierdzono, że różnice częstotliwości między drugim WU (WU2) a pierwszym WS (WS1) były istotnie większe niż między dwoma WU lub dwoma WS, co wskazuje na niską stabilność WS jako punktu odniesienia w pomiarach temperatury. Średnia zmienność wewnątrzsobnicza WU2 - WS1 była nawet 4,7 razy większa niż w przypadku WU2 - WS1. Co więcej, błędy w obliczaniu temperatury na podstawie częstotliwości WS były 2,5 razy większe niż w metodach wykorzystujących uśrednione sygnały wodne. Dodatkowym odkryciem była nieoczekiwana "skokowa" zmiana częstotliwości pomiędzy WU i WS sugerująca możliwość wpływu nagrzewania gradientów i tłumienia wody na sygnał w widmie. Analiza wykazała, że efekt ten prowadzi do błędów rzędu 0,83°C w zależności od wybranej metody pomiaru. Autorzy podkreślają, że aby uzyskać najwyższą precyzję, należy stosować techniki umożliwiające jednoczesną rejestrację pełnego sygnału wodnego i metabolitu referencyjnego w jednym widmie. Wnioski płynące z pracy mają duże znaczenie dla dalszego rozwoju nieinwazyjnych metod termometrii MRI, wskazując na konieczność starannego doboru technik akwizycji sygnału wodnego w kontekście klinicznym i badawczym.

Kolejna praca naukowa przez Dong i in. z 2022 roku [105] omawia zastosowanie spektroskopii protonowego rezonansu magnetycznego ( $^1\text{H}$ -MRS) do pomiaru temperatury w mózgu. W szczególności koncentruje się na wykorzystaniu wielu pików odniesienia i proponuje optymalne współczynniki ważenia w celu poprawy dokładności i precyzji pomiarów temperatury. Artykuł rozpoczyna się od podkreślenia zalet uśredniania temperatur mierzonych z więcej niż jednego pików odniesienia. Takie podejście może zwiększyć odtwarzalność (precyzję) pomiaru. Autorzy wprowadzają takie pojęcia jak szum równoważny i stosunek sygnału do szumu w kontekście pomiaru częstotliwości, a także pojęcie częstotliwości względnej, która umożliwia łączenie różnych pików w widmie w celu poprawy precyzji pomiaru częstotliwości. Opierając się na tych koncepcjach, artykuł wyprowadza teoretycznie optymalny współczynnik wagowy i sugeruje empiryczny współczynnik wagowy dla średniej ważonej temperatur mierzonych z trzech odniesień: singletów NAA (N-acetyloasparaginian), Cre (kreatyna) i Cho (cholina) w widmie  $^1\text{H}$  MR. Autorzy oceniają działanie tych dwóch współczynników wagowych, porównując błędy pomiaru temperatury z błędami uzyskanymi z poszczególnych referencji. Błędy definiuje się jako odchylenia standardowe w powtarzanych pomiarach lub w badaniach przeprowadzonych metodą Monte Carlo. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych zarówno na danych fantomowych (sztucznych), jak i in vivo (żywa tkanka) pokazują, że zarówno proponowane teoretyczne, jak i empiryczne współczynniki ważenia przewyższają dwa wcześniej sugerowane współczynniki ważenia, jak również użycie samych indywidualnych odniesień. Jednak artykuł ujawnia również, że wydajność współczynników wagowych różni się w zależności od konkretnych warunków eksperymentalnych. W eksperymentach z fantomami z

poszerzeniem linii o 4 lub 10 Hz teoretyczny współczynnik wagowy działa lepiej, podczas gdy empiryczny współczynnik wagowy okazuje się lepszy w innych testach powtarzanych i testach Monte Carlo przeprowadzonych na danych fantomowych i in vivo. Podsumowując, w artykule przedstawiono nowe współczynniki ważenia, które poprawiają powtarzalność pomiaru temperatury w mózgu za pomocą termometrii opartej na 1H-MRS. Proponowane współczynniki wykazują lepszą wydajność w porównaniu z wcześniej sugerowanymi współczynnikami ważenia i indywidualnymi pomiarami referencyjnymi, oferując potencjalny postęp w technikach pomiaru temperatury do badań neurologicznych i zastosowań klinicznych.

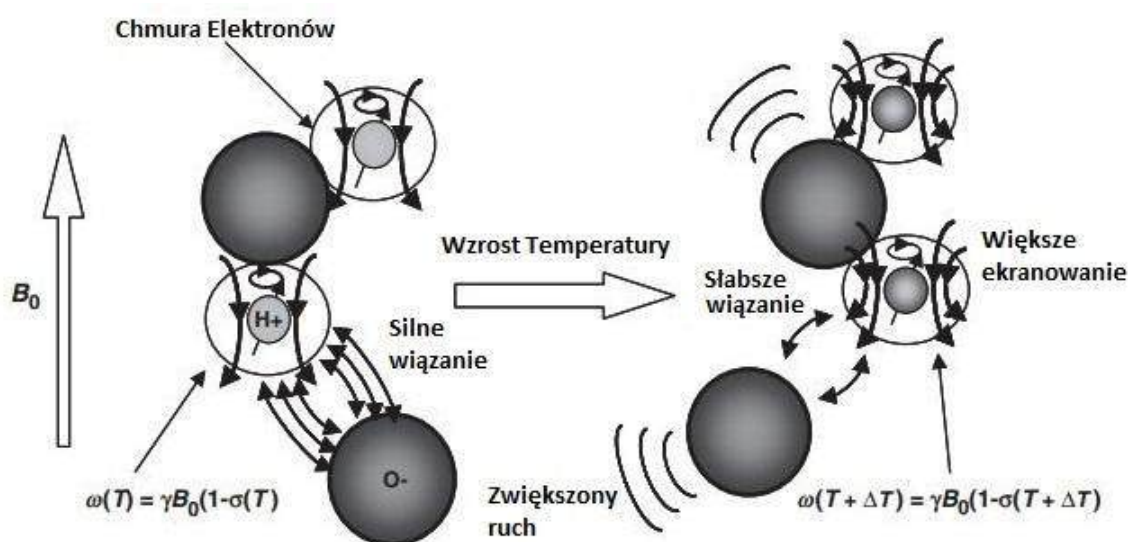
**Tabela 1.** Przegląd współczynników kalibracyjnych MRSt wyznaczonych przez innych badaczy. Z zaznaczeniem metabolitu (NAA, Cre lub Cho) użytego w odniesieniu do przesunięcia chemicznego pików wody. W tabeli pokazano wzór funkcji liniowej, gdzie temperatura (T) wyznaczana jest za pomocą iloczynu nachylenia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

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

Mózg szczura in vivo [99]	Cho	11,74	-106,08 (2,07)	192,5 (5,1)	0,98
Fantom - Woda, GPC (25mM), Cre (50mM), NAA (50mM), pH 7,2 [100]	NAA	1,5	-97,134 (0,726)	296,068 (2,055)	0,99
Fantom - Woda, GPC (25mM), Cre (50mM), NAA (50mM), pH 7,2 [100]	Cr	1,5	-94,768 (0,741)	193,291 (1,326)	0,99
Fantom - Woda, GPC (25mM), Cre (50mM), NAA (50mM), pH 7,2 [100]	Cho	1,5	-100,813 (0,986)	184,470 (1,574)	0,99
Mózg prosiaka [11]	NAA	7	-92,2	282,0	0,97
Mózg prosiaka [11]	Cr	7	-99	190,0	0,96
Mózg prosiaka [11]	Cho	7	-88,7	166,4	0,98
Fantom - Woda, NAA (50mM), Cr(50mM) [103]	NAA	3	-104,746	314,967	0,99
Fantom - Woda, NAA (50mM), Cr(50mM) [103]	Cr	3	-102,249	204,816	0,99

### 3.3. Podsumowanie i zasady działania

Zależność przesunięcia chemicznego od temperatury zachodzi dla związków posiadających wiązania wodorowe [5]. W tkankach biologicznych najwięcej protonów uczestniczących w takich wiązaniach znajduje się w wodzie. Fizyczna zasada zależności przesunięcia chemicznego w związkach wody od temperatury jest pokazana na rysunku 12 [106].



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

Częstotliwość rezonansowa protonów w temperaturze  $T$  jest określona przez:

- indukcję pola magnetycznego  $B_0$ ,
- efekt osłonowy  $\sigma$  spowodowany przez prądy wywołane przez chmurę elektronów, która ekranuje przed zewnętrznym polem.

Wraz ze wzrostem temperatury wzrasta ruch cząsteczek wody, zniekształcając, wydłużając i/lub zrywając wiązania wodorowe w cząsteczkach co sprawia, że chmura elektronowa jest mniej związana przez wiązania elektronowe niż w niższych temperaturach. Tłumienie wiązań wodorowych wzbudza większy prąd w chmurach elektronowych, wzmacniając efekt ekranowania. W rezultacie częstotliwość rezonansowa protonów w wodzie będzie mniejsza. Ta zmiana częstotliwości wraz z temperaturą może być znormalizowana w formie przesunięcia chemicznego lub przesunięcia termalnego [108]. W badaniach zostało określone, że współczynnik temperaturowy przesunięcia chemicznego w czystej wodzie wynosi  $-0,01 \text{ ppm}/^\circ\text{C}$ . [5]

Na podstawie informacji zawartych w powyższym rozdziale zależność między temperaturą a przesunięciem chemicznym protonów wody można modelować. Jeśli w

obserwowanym przez nas regionie znajduje się jakiś związek niebędący wodą, wystarczająco niewrażliwy na temperaturę, może on być wykorzystany jako wewnętrzna referencja do mierzenia częstotliwości rezonansowej protonów w wodzie. Opierając się na pracach Corbetta [6], Zhu [99], Covaciu [100], Cady'ego [7,11] czy Veriusa [103] możemy określić, że najczęściej stosowanymi związkami wykorzystywanymi jako wewnętrzne odnośniki są NAA, kreatyna i cholina.

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

$$\delta_{W-R} = \frac{\omega_W(T) - \omega_R(T)}{\omega_R(T)} \cdot 10^6 \approx \frac{\omega_W(T) - \omega_R(T)}{\omega_{RF}(T)} \cdot 10^6 \approx (-\sigma_W(T) + \sigma_R) \cdot 10^6, \quad (28)$$

$$\omega_W(T) = \gamma B_0 (1 - \sigma_W(T) + \chi(T)), \quad (29)$$

$$\omega_R(T) = \gamma B_0 (1 - \sigma_R + \chi(T)), \quad (30)$$

gdzie:

$\delta_{W-R}$  [ppm] – zależne od temperatury przesunięcie chemiczne,

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

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

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

$\gamma \left[ \frac{Hz}{T} \right]$  – współczynnik żyromagnetyczny,

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

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

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

$$T = \frac{\delta_{W-R}}{a} + \beta, \quad (31)$$

Zmiana temperatury  $\Delta T [^\circ C]$  może być oznaczona równaniem:

$$\Delta T = \frac{\delta_{W-R}}{a}, \quad (32)$$

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

$$\Delta\delta_W [ppm] = \frac{\omega_w(T) - \omega_w(T_R)}{\omega_w(T_R)} * 10^6 \approx \frac{\omega_w(T) - \omega_w(T_R)}{\omega_{RF}} * 10^6, \quad (33)$$

$$\approx \left( -\sigma_W(T) + \sigma_W(T_R) + \chi(T) - \chi(T_R) \right) * 10^6, \quad (34)$$

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

$$\Delta T = \frac{\Delta\delta_W}{a}, \quad (35)$$

W przypadku, kiedy w widmie znajduje się sygnał referencyjny, możemy wykonać pomiary absolutnej temperatury poprzez najpierw sporządzenie danych kalibracyjnych, z których można uzyskać współczynniki liniowe  $\alpha \left[ \frac{^\circ C}{ppm} \right]$ , zdefiniowany jako  $\alpha = \frac{1}{a}$  i  $\beta [^\circ C]$ . Sporządzenie danych kalibracyjnych wykonuje się najczęściej na temperaturowo kontrolowanych fantomach jak pokazały ostatnie badania wykonane przez Covaciu [100] czy Verius [103]. Następnie poprzez zmierzenie przesunięcia chemicznego sygnałów wody  $\delta_W [ppm]$  i sygnału referencyjnego  $\delta_R [ppm]$  możemy wykonać pomiar absolutny temperatury według wzoru:

$$T(^\circ C) = \alpha \cdot \delta_{W-M} + \beta, \quad (36)$$

gdzie:

$\alpha$  — nachylenie krzywej regresji [ $^\circ C/ppm$ ],

$\beta$  — punkt przecięcia linii regresji [ $^\circ C$ ],

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

Do obliczenia wartości temperatury zostanie wykorzystany wzór z badań Zhu [99], gdzie wzór 36 przekształcić trzeba na wzór wykorzystywany przez Zhu [99]:

$$T(^{\circ}C) = T_{ref} + \alpha \cdot (\delta_{W-M} - F0_{ref}), \quad (37)$$

gdzie:

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

$\alpha$  to nachylenie krzywej regresji ze wzoru (36) [ $^{\circ}C/ppm$ ],

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

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

W celu przekształcenia wzoru 36 w 37, należało przekształcić wyraz wolny  $\beta$  ze wzoru 36 w  $T_{ref}$  i  $F0_{ref}$ :

$$\beta = T - \alpha \cdot \delta_{W-M}, \quad (38)$$

Zakładając, że po wykonaniu kalibracji, ustalona zostanie temperatura referencyjna to  $T = T_{ref}$ , A zostanie takie same, a przekształci się w  $\delta_{W-M} = F0_{ref}$  i po podstawieniu wyrazu wolnego  $\beta$  do wzoru 36 otrzymamy wzór 37.

Korzystając z badań Zhu [99] i Dong [105] niepewność temperatury mierzonej przy pomocy wzoru 37 zostanie obliczona za pomocą wzoru:

$$uT(^{\circ}C) = \sqrt{(uT_{ref})^2 + (\alpha \cdot \sqrt{u\delta_{W-M}^2 + uF0_{ref}^2})^2 + ((\delta_{W-M} - F0_{ref}) \cdot u\alpha)^2}, \quad (39)$$

gdzie:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

$$T_{AWC} (^{\circ}C) = \frac{T_{Cho} A_{Cho}^2 + T_{Cre} A_{Cre}^2 + T_{NAA} A_{NAA}^2}{A_{Cho}^2 + A_{Cre}^2 + A_{NAA}^2}, \quad (40)$$

gdzie:

- $T_{Cho}$ ,  $T_{Cre}$ ,  $T_{NAA}$  — to temperatury wyznaczone przy pomocy wzoru 37 metodą używając odpowiednio danych z widma WS i WU [ $^{\circ}C$ ],
- $A_{Cho}$ ,  $A_{Cre}$ ,  $A_{NAA}$  — to amplitudy pików NAA, Cre i Cho pochodzących z widma typu WS.

Podobnie jak dla wzoru 37 obliczenia niepewności pomiaru temperatury uśrednionej z wzoru 40 będzie wynosić:

$$uT_{AWC} = \sqrt{\sum_i \left( \frac{A_i^2}{\sum_j A_j^2} uT_i \right)^2 + \sum_i \left( \frac{2A_i(T_i \sum_j A_j^2 - \sum_j A_j^2 T_j A_j^2)}{(\sum_j A_j^2)^2} uA_i \right)^2}, \quad (41)$$

gdzie:

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

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

$uT_i$  — niepewności pomiarów temperatury wyznaczone wzorem 39,

$T_i$  — to temperatury wyznaczone wzorem 37 używając odpowiednio danych z widma

WS lub WU [ $^{\circ}C$ ], z NAA, Cre i Cho jako metabolitami referencyjnymi.

## II. Badania własne

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

Badania własne zawarte w pracy doktorskiej składają się z kilku etapów. Pierwszym etapem było zaprojektowanie i implementacja oprogramowania do analizy i obróbki danych spektroskopowych opisane w rozdziale 4.1. Aby móc skorzystać z metody termometrii MRS wspomnianej w rozdziale 3 do pomiarów temperatury mózgu in vivo, należało przeprowadzić badania kalibracyjne, które inspirowane były poprzednimi badaniami nad kalibracją w termometrii MRS wykonanych przez Zhu [99], Covaciu [100], Cady'ego [11] czy Veriusa [103], opisane w rozdziale 4.2. Kolejnym etapem opisanym w rozdziale 4.3 był wybór technik i metod badawczych wykorzystanych w trakcie realizowania tej pracy doktorskiej. Następnie niniejsza praca doktorska przedstawia realizację dwóch projektów badawczych przeprowadzonych w pracowni, których dane spektroskopowe posłużyły do pomiarów temperatury mózgu in vivo. Pierwszy projekt, inspirowany badaniami Katz-Brulla [98] i Rango [101], dotyczy wpływu długotrwałych badań czynnościowych na temperaturę mózgu. Drugi, opierający się na pracach Cady'ego [11], Barbouriny-Brooks [15,102] oraz Sone [16], analizuje wpływ zmian w mózgu na jego temperaturę. Rozdział 5 przedstawia wyniki przeprowadzonych badań. A rozdział 6 obejmuje dyskusję i podsumowanie wyników otrzymanych w rozdziale 5.

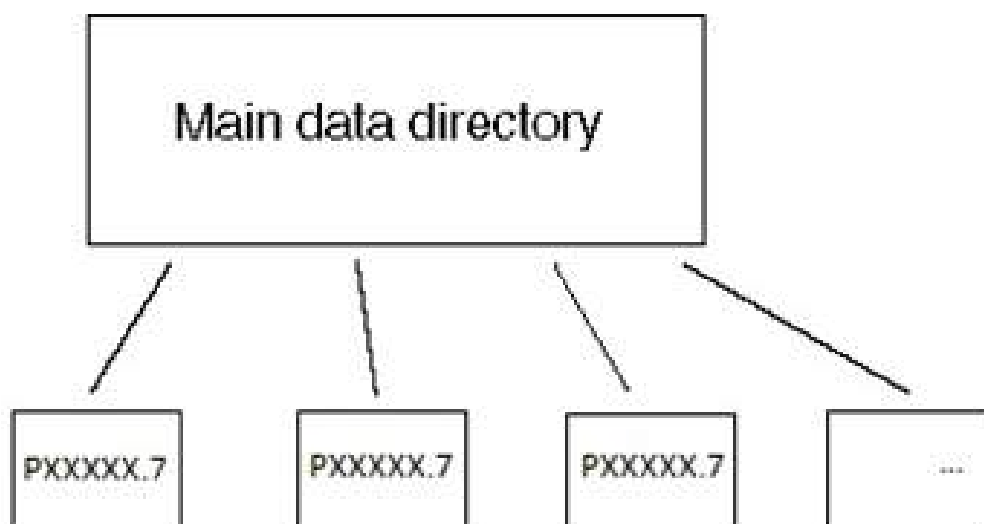
Wszystkie badania przeprowadzono z wykorzystaniem sekwencji PRESS, która - jak wspomniano w rozdziale 2.3. - składa się z dwóch etapów. Pierwszy to sekwencja kalibracyjna, w trakcie której rejestrowane jest nietłumione widmo typu WU. Sygnał ten zazwyczaj wykorzystywany jest jedynie na etapie wstępnej obróbki danych i nie bierze udziału w pomiarze stężeń metabolitów ani dalszej analizie danych. Drugi etap to akwizycja danych diagnostycznych typu WS, której wyniki stanowią kluczowy element analizy MRS. Widmo uzyskane na tym etapie pozwala na identyfikację sygnałów metabolitów, co umożliwia pomiar ich stężenia w badanym wokselu. Obserwując rosnące zainteresowanie nad wykorzystaniem widma typu WU do pomiaru temperatury (Dong [104]) w niniejszej pracy doktorskiej postanowiono wykorzystać oba widma w celu pomiaru temperatury metodą MRSt.

## 4. Techniki i metody badawcze

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

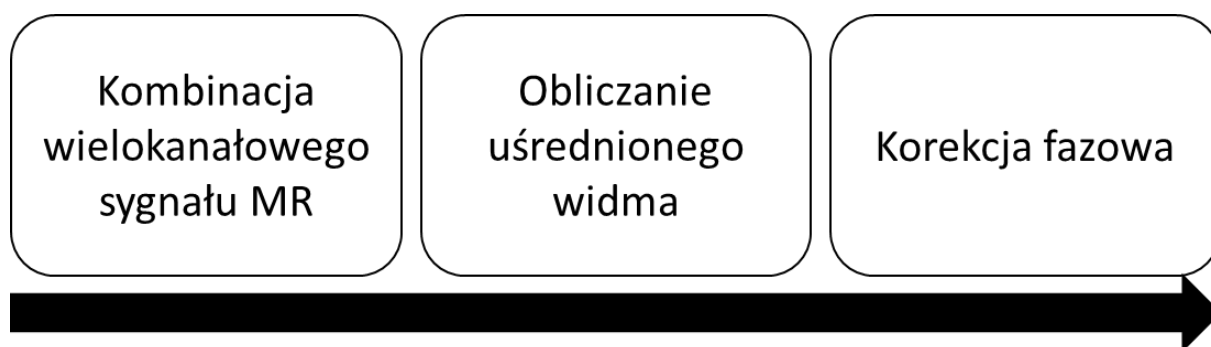
Kolejnym elementem jest wykorzystanie lokalizacji plików uzyskanych w poprzednim kroku do przeprowadzenia wstępnej obróbki spektroskopowej. Wstępna obróbka jest realizowana z użyciem następującego oprogramowania:

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

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

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

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



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

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

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

- Dane nagłówkowe opisujące pliki spektroskopowe.

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

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

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

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

$$f(\omega) = \sqrt{\frac{2}{\pi}} \cdot \frac{\Gamma - i \cdot (\omega - \omega_0)}{\Gamma^2 + (\omega - \omega_0)^2}, \quad (42)$$

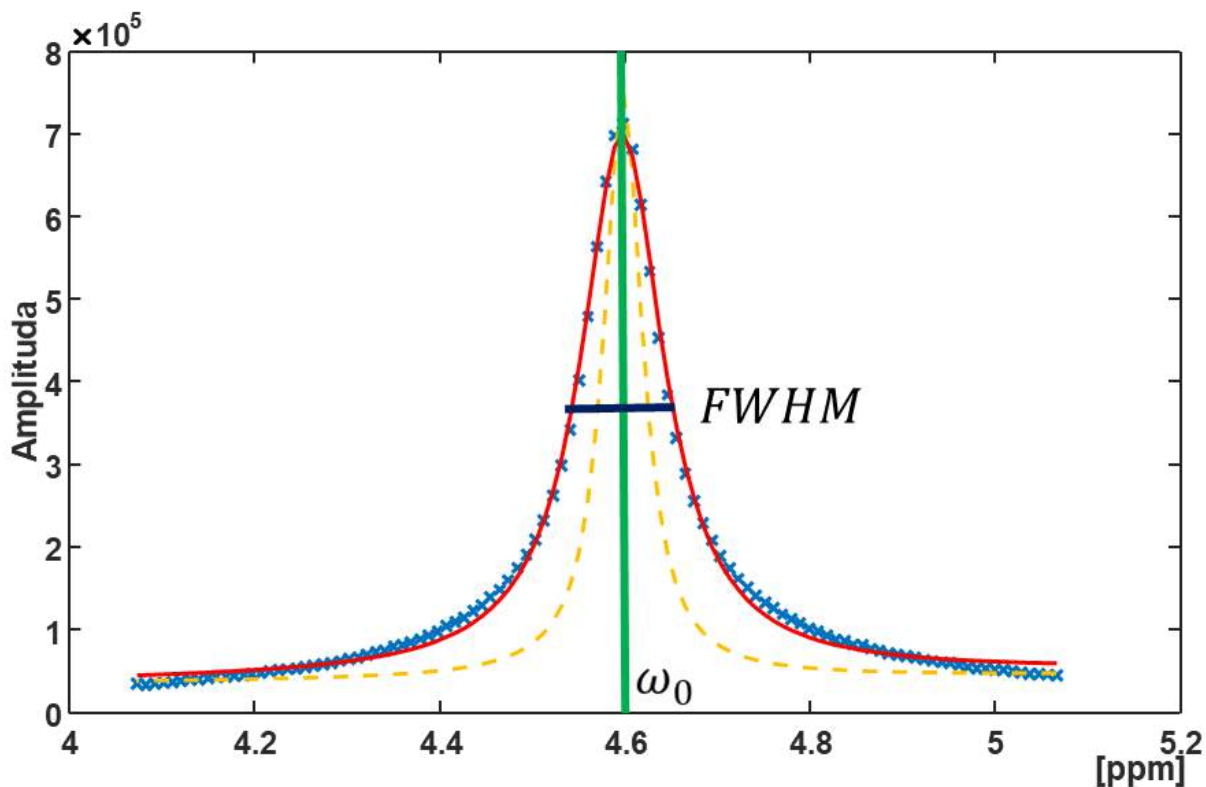
Gdzie,

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

$\omega_0$  — położenie maksimum pików [ppm],

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

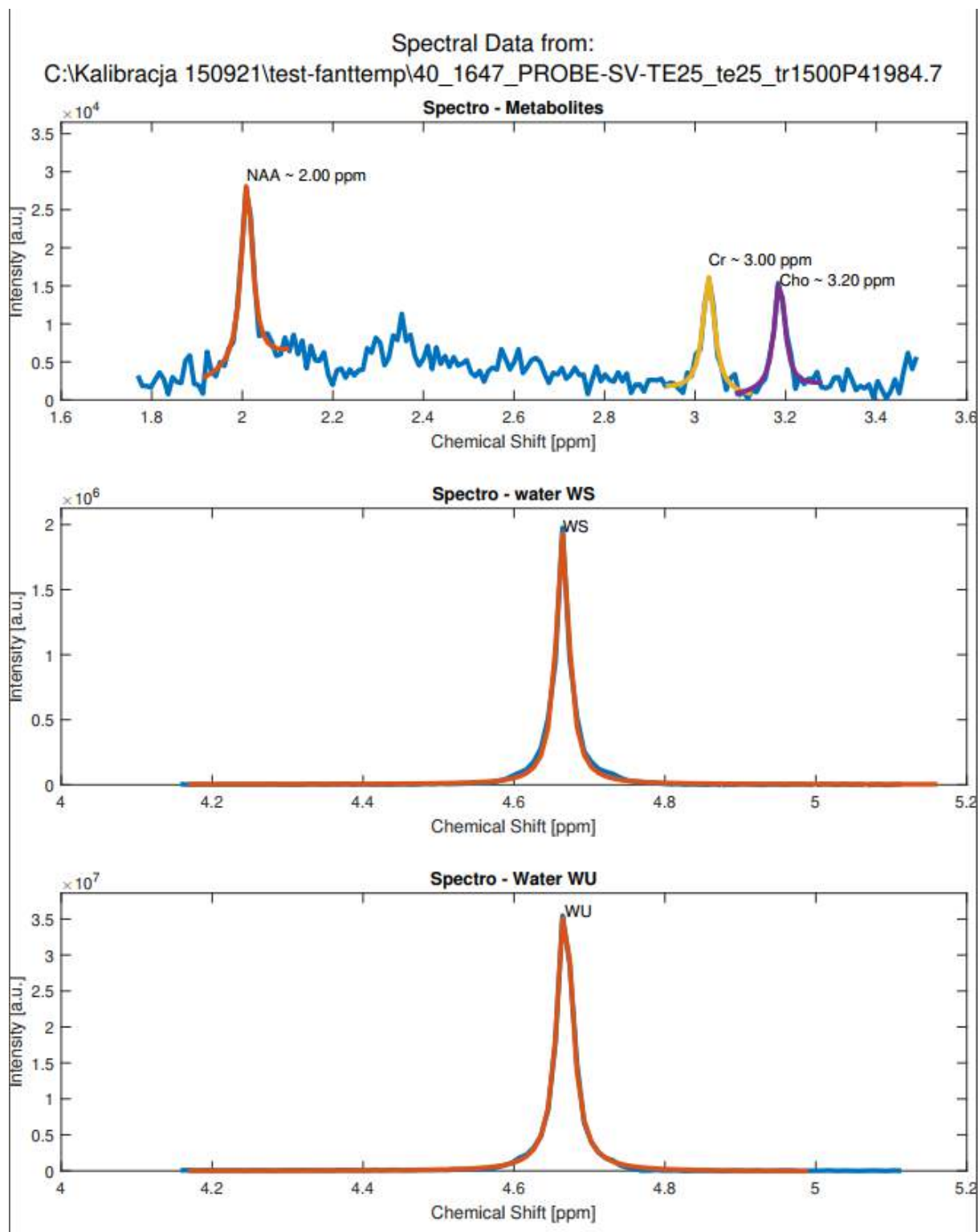
Używając nieliniowej regresji metodą najmniejszych kwadratów iteracyjnie porównujemy modelowy pik z danymi uzyskując końcowo sparametryzowaną funkcję Lorentza najlepiej dopasowaną do zgromadzonych danych (Rys. 15). Parametryzowane przez nas parametry to amplituda, położenie maksimum pików 0 oraz szerokość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



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

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

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

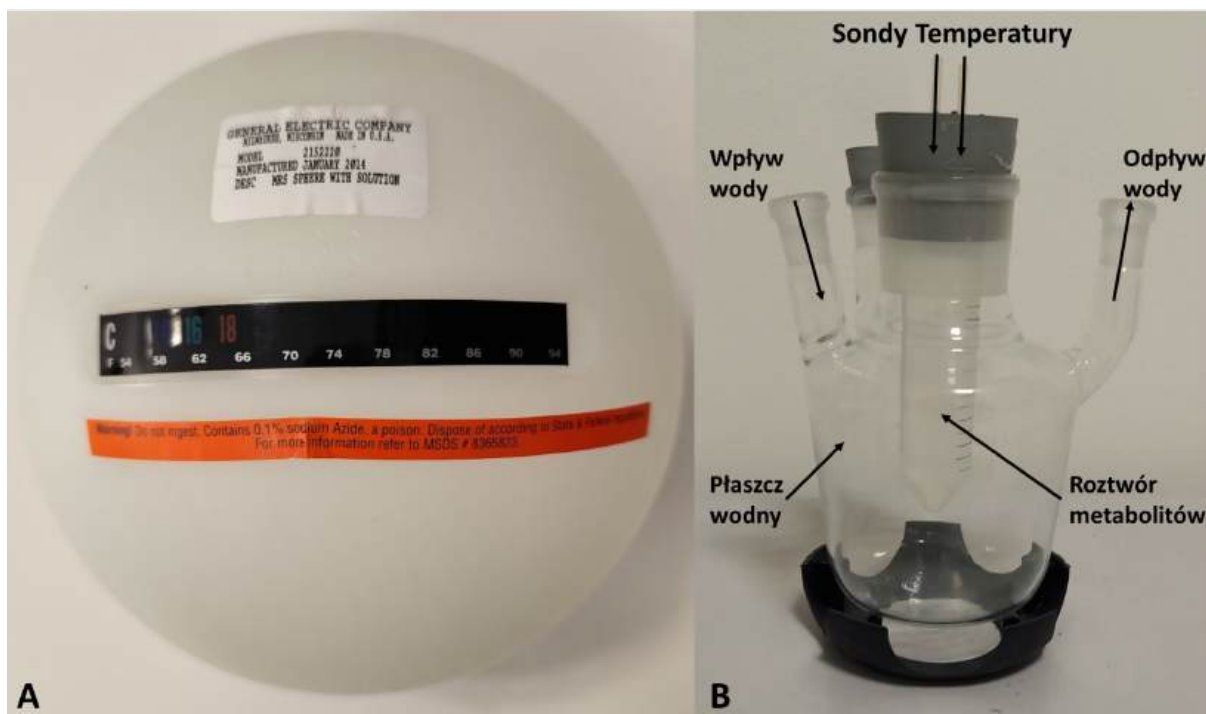


Rysunek 16. Przykładowa strona z pliku PDF pełniąca funkcję wstępnego raportu, jednocześnie stanowiąca kontrolę jakości przeprowadzonej analizy i widma uzyskanego we wcześniejszych etapach. Na tej stronie znajdują się informacje dotyczące pliku Pfile zawierającego danego widma. Przedstawione są 3 wykresy: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

## 4.2. Opracowanie fantomu i procedury kalibracyjnej do bezwzględnego pomiaru temperatury

### 4.2.1. Projekt Fantomu MRS

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



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

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

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

Próbka z roztworem jest wypełniona podstawowym roztworem zawierającym K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (72 mM), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (28 mM), TSP (1 mM), mrówczanu sodu (20 mM) w podwójnie dejonizowanej wodzie o pH równym 7,0. W roztworze rozpuszczone zostały metabolity, których stężenia można znaleźć w tabeli 2 poniżej.

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

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

#### 4.2.2. Opis zastosowanej procedury kalibracyjnej

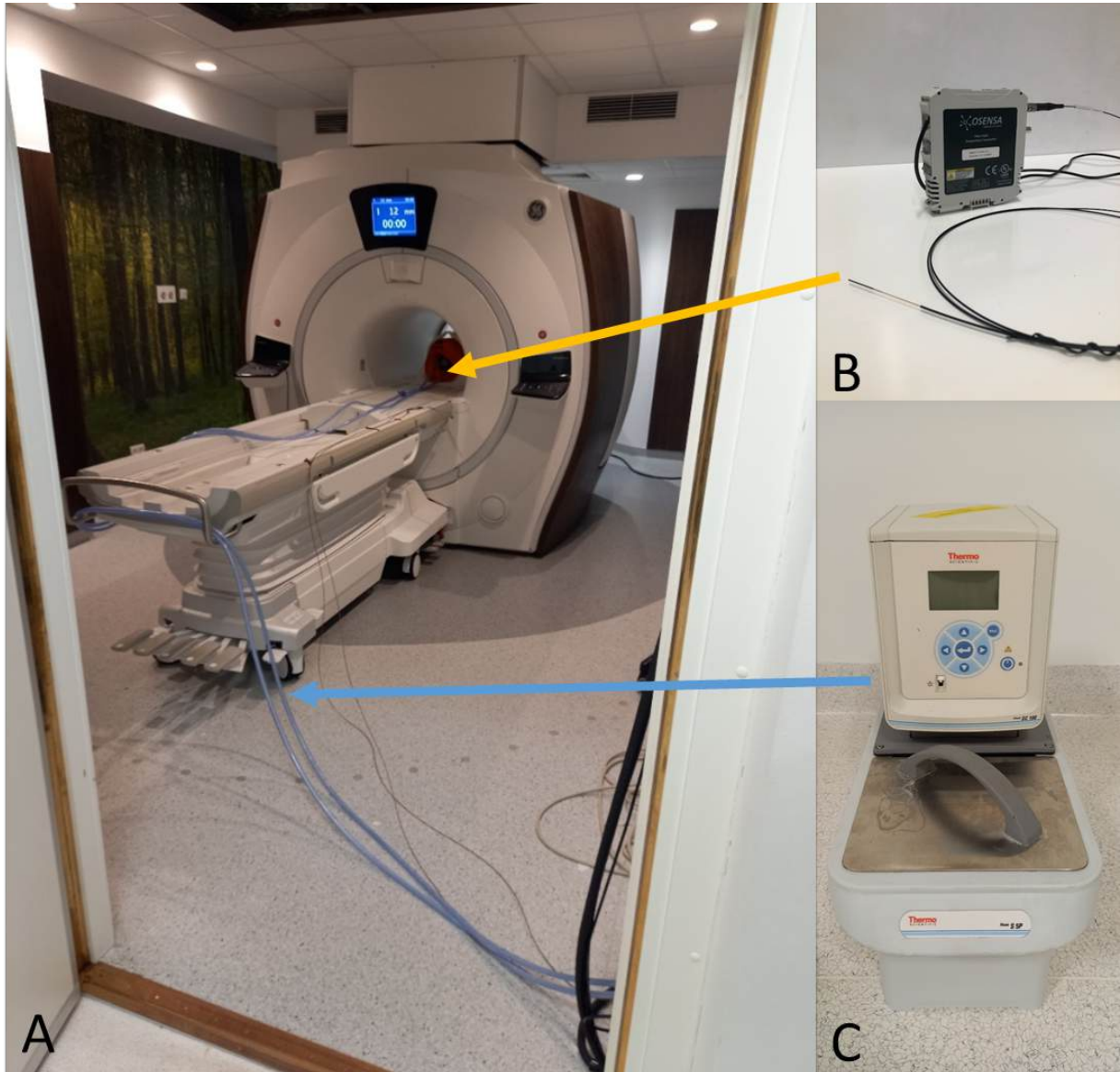
Badanie z udziałem fantomu zostało przeprowadzone używając 3T skanera MR firmy GE (GE Discovery 750w) wyposażonego w standardową 8-kanalową cewkę nadawczo-odbiorczą. Skaner znajduje się na terenie CNSLab Instytutu Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN w Warszawie. Sekwencje użyte w badaniu to:

- wysokorozdzielcza sekwencja strukturalna (Parametry: TR/TE = 6,936ms/2,968ms, macierz 256x256, woksel 1,0547 × 1,0547 × 1,2 mm<sup>3</sup>) - użyta w celu lokalizacji wokseli w późniejszych sekwencjach
- spektroskopia pojedynczego wokseli 1H-MRS PRESS (Parametry TR/TE 1500ms/30ms, pasmo danych 5kHz, 4096 punktów, NEX = 8, z 96 uśrednieniami w przypadku widm z tłumionym sygnałem wody i 16 uśrednieniami w przypadku widm z nietłumionym sygnałem wody) - użyta w celu zdobycia widm spektroskopowych typu WS i WU.

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

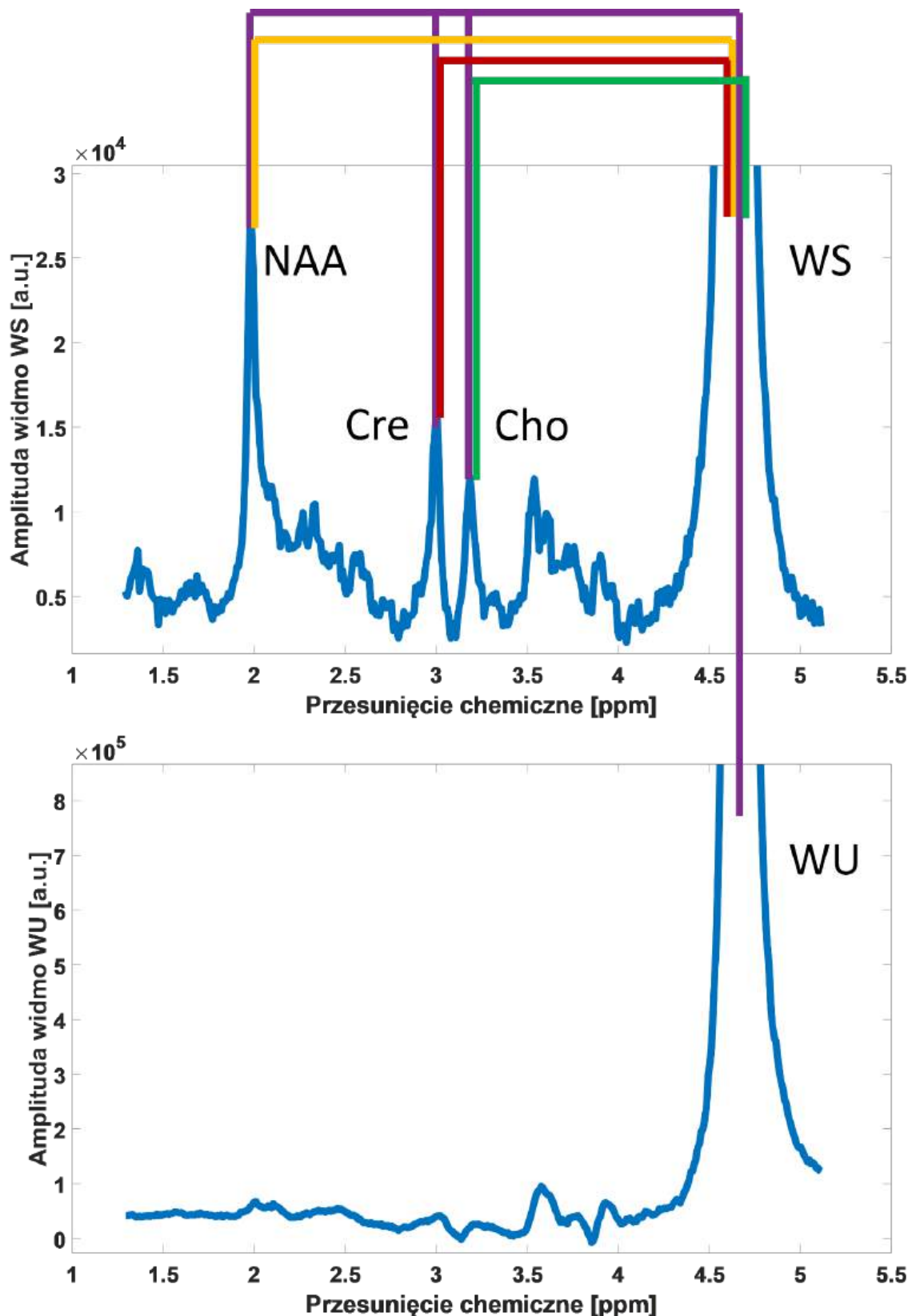
- Najpierw wykonano wysokorozdzielczą sekwencję strukturalną (opisaną w powyższym rozdziale) w celu określenia czy fantom został poprawnie umieszczony w skanerze, a także w celu poprawnego zlokalizowania woksela do pomiarów spektroskopowych.
- Woksel badany umieszczony został w środku próbki blisko światłowodowych czujników temperatury.
- Następnie uruchomiona została łaźnia wodna, która zaczęła podgrzewać wodę i transportować ją do fantomu w celu podgrzania próbki wewnątrz fantomu.
- Pomiar spektroskopowy przeprowadzono gdy roztwór wodny wewnątrz fantomu osiągał stabilną temperaturę na jedenastu różnych poziomach w zakresie od 31,5 °C do 39,5 °C. Minimum 20 minut było przeznaczonych na ustabilizowanie się temperatury na wybranym poziomie temperatury. Średnia fluktuacja temperatury podczas każdego pomiaru wynosiła zawsze nie więcej niż 0,02 °C. Aby jak najbardziej zmniejszyć dryft temperatury w fantomie cyrkulacja wody była utrzymywana przez cały czas badania w skanerze.
- Na każdym z poziomów temperaturowych wykonywanych zostało pięć pomiarów spektroskopowych (specyfikacja w rozdziale powyżej).

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



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

Przetwarzanie wstępne, dopasowanie kształtu linii oraz przetwarzanie końcowe zostały przeprowadzone za pomocą naszego autorskiego, zautomatyzowanego oprogramowania opartego na FID-A [49]. Zgodnie z najnowszym konsensusem dotyczącym przetwarzania danych MRS [109], proces przetwarzania wstępnego obejmował transformację Fouriera danych, kombinację cewek RF, uśrednianie sygnałów oraz korekcję fazową. Do dalszych analiz w pracy używano tylko pików wody, NAA, Cre i Cho. Na końcu sygnały metabolitów NAA, Cre i Cho znalezionych w widmie typu WS oraz piki wody z widm typu WS i WU zostały przetworzone wykorzystując modelowanie linii Lorentzowskich. W rezultacie otrzymano amplitudę, szerokość połówkową pików oraz położenie centrum każdego z badanych pików. Przy użyciu modelowania regresji liniowej oszacowano zależność między przesunięciem chemicznym różnic pomiędzy położeniem pików NAA, Cre i Cho z widm typu WS, a położeniem pików wody z widm WS i WU w funkcji mierzonej temperatury w fantomie (Rysunek 19). Co pozwoliło na wygenerowanie sześciu funkcji kalibracyjnych liniowej regresji.



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

## 4.3. Pomiary temperatury mózgu in vivo

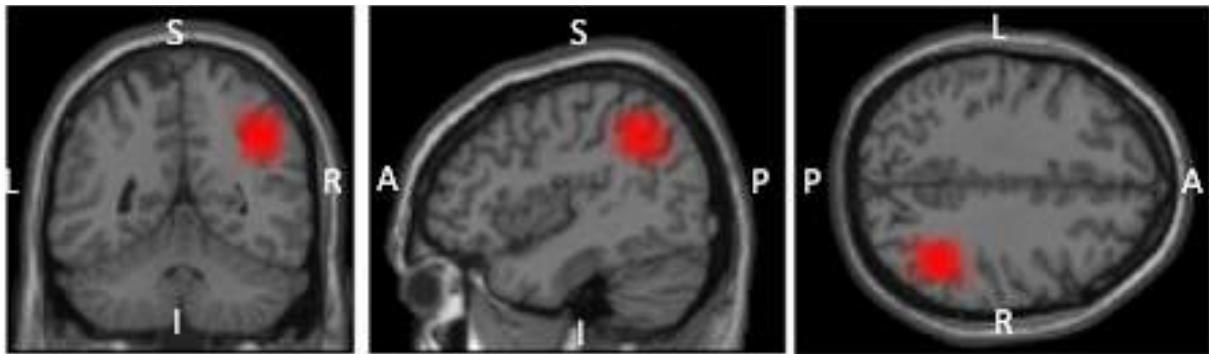
### 4.3.1. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę

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

W badaniach in vivo zostało zrekrutowanych 146 zdrowych osób dorosłych, które były praworęczne. Ich średni wiek wynosił 27,8 lat z odchyleniem standardowym (SD) 6 lat, a przedział wiekowy 18-45 lat. Spośród tych uczestników 69 stanowiły kobiety. Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami etycznymi dotyczącymi badań medycznych z udziałem ludzi i uzyskano zgodę lokalnej komisji etycznej. Wszyscy ochotnicy wyrazili świadomą zgodę po szczegółowym wyjaśnieniu procedur badania i ryzyka. Aby zapewnić bezpieczeństwo uczestnikom, przed przystąpieniem do badania w formie wywiadu weryfikowano potencjalne przeciwwskazania do badania MRI, takie jak implanty ślimakowe, fragmenty metalu w oku lub głowie oraz rozruszniki serca.

Badania in vivo wykonywane były w godzinach pomiędzy 8 a 16. Przed i po badaniu trzykrotnie rejestrowano temperaturę w prawym uchu za pomocą termometru dousznego na podczerwień (Braun ThermoScan® 3). Podczas badania osoby badane były wygodnie ułożone wewnątrz skanera, z głową umieszczoną centralnie w cewce i podpartą wyściółką i pianką, aby zminimalizować ruch w dowolnej płaszczyźnie. Badanym zapewniono zatyczki do uszu. Badanie zostało wykonane przy użyciu skanera 3-T GE (GE Discovery 750w) ze standardową 8-kanalową cewką nadawczo/odbiorczą. Temperaturę pokojową i oświetlenie utrzymywano na stałym poziomie 20,5°C (odchylenie standardowe [SD]  $\pm$  0,5°C). Strukturalną sekwencję MRI o wysokiej rozdzielczości (TR/TE = 6,936ms/2,968ms, macierz 256x256, woksel 1,0547 × 1,0547 × 1,2 mm<sup>3</sup>) uzyskano po standardowym dopasowaniu w celu poprawy lokalizacji wokseli. Widma 1H-MRS pojedynczego wokseli (PRESS) uzyskano z VOI (20 × 20 × 20 mm<sup>3</sup>) zlokalizowanego w prawym dolnym płątku ciemieniowym (rIPL). (Rys. 20) Tak duży VOI zapewniał rozsądny stosunek sygnału do

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



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

Podczas badań in vivo po pierwszej sekwencji skanowania MRS wykonano sześć funkcjonalnych skanów MRI (fMRI), stosujących sekwencję obrazowania echa planarnego ważonego gradientem T2\* (TR = 2500 ms, TE = 25 ms, woksel 3 × 3 × 3 mm<sup>3</sup>). Podczas pierwszych dwóch skanów, z którego każdy trwał 5 minut 50 sekund, badani wykonywali zadanie testujące antycypacyjną uwagę (ATT) [110], podczas gdy w ostatnich czterech skanach zadanie N-Back [111], gdzie każdy skan trwał 4 minuty i 25 sekund - łącznie skany fMRI trwały około 30 minut. Po skanach funkcjonalnych przeprowadzono drugi skan PRESS z tymi samymi parametrami.

Przeprowadzono kompleksowe przetwarzanie danych przy użyciu zaawansowanego, autorskiego oprogramowania opartego na FID-A [49] opisanego w rozdziale 5. Zgodnie z najnowszymi zaleceniami dotyczącymi przetwarzania danych MRS [109], proces przetwarzania wstępnego obejmował transformację Fouriera danych, korektę fazową, kombinację cewek RF oraz uśrednianie sygnałów. W dalszej analizie uwzględniono jedynie sygnały wody, NAA, Cre i Cho, które jako najintensywniejsze zostały wybrane spośród otrzymanych sygnałów.

Następnie, sygnały metabolitów NAA, Cre i Cho, znajdujące się w widmach typu WS, wraz z sygnałami wody z widm typu WS i WU, poddano przetwarzaniu przy użyciu modelowania linii Lorentzowskich. W wyniku tego procesu określono amplitudę, szerokość półwokułową pików oraz położenie centrum pików dla każdego z analizowanych sygnałów. W przypadku kiedy końcowe dane spektroskopowe były złej jakości osoba badana była usuwana z dalszej analizy.

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

#### 4.3.2. Pomiary temperatury w zmianach nowotworowych

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

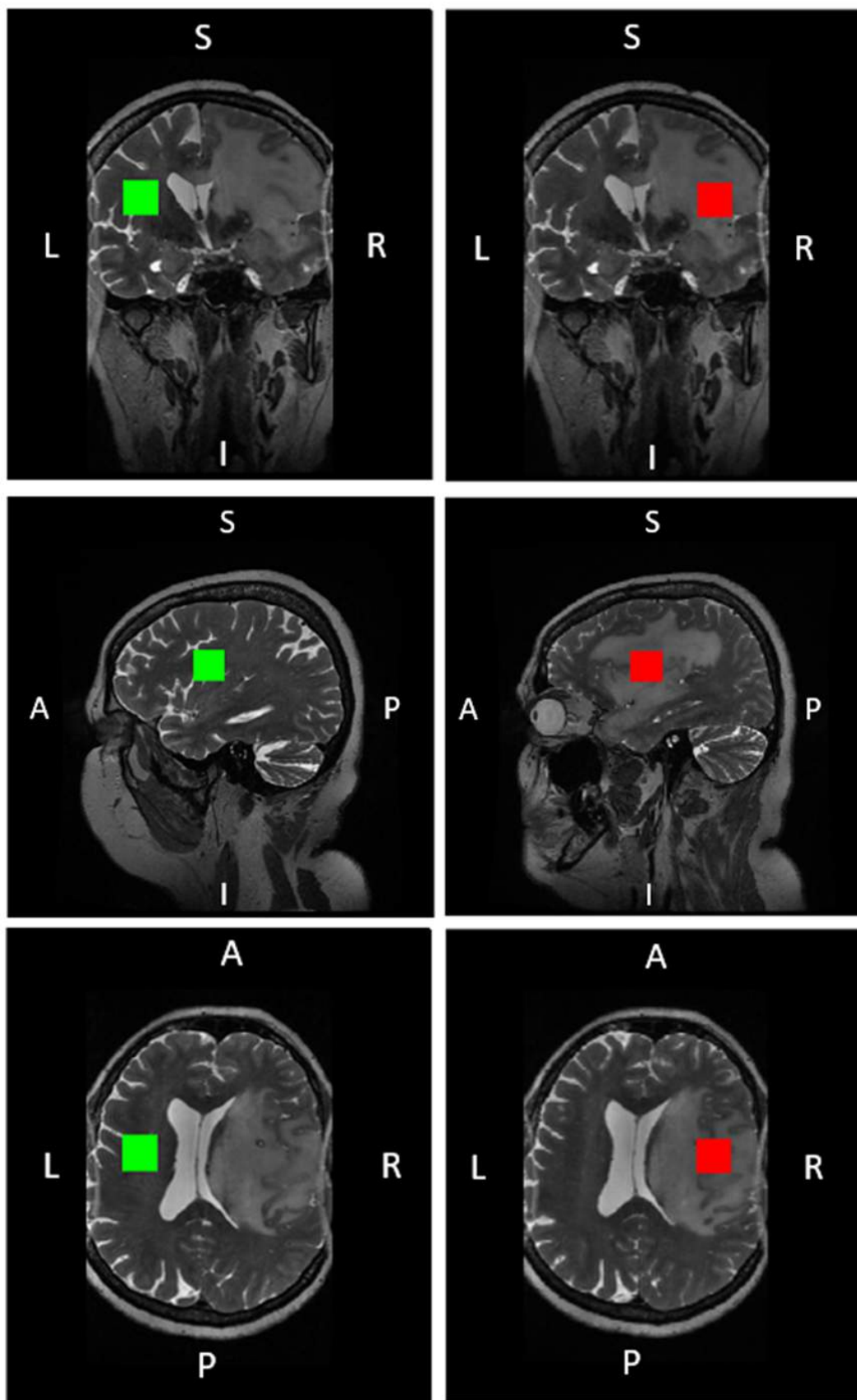
Do badania zrekrutowano 9 pacjentów ze zmianami nowotworowymi w mózgu. Średnia wieku pacjentów wynosiła 36,4 lat z odchyleniem standardowym (SD) 9 lat, wiek pacjentów mieścił się pomiędzy 22 a 50 lat. Spośród tych pacjentów 5 było kobietami. Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami etycznymi dotyczącymi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

Badanie wykonywane było w godzinach pomiędzy 8 a 15. Podczas badania osoby badane były wygodnie umieszczone wewnątrz skanera, z głową umieszczoną centralnie w cewce i podpartą wyściółką i pianką, aby zminimalizować ruch w dowolnej płaszczyźnie. Badanym zapewniono zatyczki do uszu. Badanie zostało wykonane przy użyciu skanera 3-T GE (GE Discovery 750w) ze standardową 8-kanalową cewką nadawczo/odbiorczą. Temperaturę pokojową i oświetlenie utrzymywano na stałym poziomie 20,5°C (odchylenie standardowe [SD]  $\pm$  0,5°C). Struktura badania wyglądała następująco: Po pierwszych skanach lokalizacyjnych, ustawiano wysokorozdzielczą sekwencję strukturalną obrazowania T1 (TR/TE = 6,936ms/2,968ms, macierz 256x256, woksel 1,0547 × 1,0547 × 1,2 mm<sup>3</sup>), następnie przeprowadzono sekwencję strukturalną sekwencję T2 zależną (TR/TE = 2500ms/83,816ms, macierz 512x512, woksel 0,4688 × 0,4688 × 1,2 mm<sup>3</sup>). Te dwie sekwencje służyły do identyfikacji obszarów zmienionych w wyniku procesu chorobowego w mózgach każdego z pacjentów. Następnie w celu identyfikacji obszarów elokwentnych przeprowadzane były badania fMRI stosujące sekwencję obrazowania echa planarnego ważonego gradientem T2\* (TR = 2500 ms, TE = 25 ms, woksel 3 × 3 × 3 mm<sup>3</sup>) ustalone w

zależności od tego gdzie zmiana zachodziła u pacjenta. Podczas każdego z tych skanów pacjenci wykonywali zadania wymagające od nich konkretnych czynności wpływających na ich korę rozpoznawania mowy i ruchu. Wyniki z tych badań przedstawiane później były chirurgowi w celu rozpoznania istotnych obszarów działania w mózgu pacjenta przed planowaną operacją. Następną sekwencją była sekwencja DTI (TR/TE = 9050ms/95,4ms, macierz 256x256, woksel 1,3672 x 1,3672 x 2,7 mm<sup>3</sup>).

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

Podobnie jak w poprzednim badaniu wykonano kompleksowe przetwarzanie danych przy użyciu zaawansowanego, autorskiego oprogramowania opartego na FID-A [49]. Zgodnie z najnowszymi zaleceniami dotyczącymi przetwarzania danych MRS [109], proces przetwarzania wstępnego obejmował transformację Fouriera danych, korektę fazową, kombinację cewek RF oraz uśrednianie sygnałów. W dalszej analizie skupiono się tylko na sygnałach wody, NAA, Cre i Cho, które jako najwidoczniejsze zostały wybrane spośród otrzymanych sygnałów. Następnie, sygnały metabolitów NAA, Cre i Cho, występujące w widmach typu WS wraz z pikami wody z widm WS i WU, zostały poddane przetwarzaniu przy użyciu modelowania linii Lorentzowskich. W wyniku tego procesu otrzymano amplitudę, szerokość połówkową pików oraz położenie centrum dla każdego z analizowanych pików. W przypadku kiedy końcowe dane spektroskopowe były złej jakości osoba badana była usuwana z dalszej analizy. W końcowej analizie zostało 6 osób. Powyższe dane zostały wykorzystane do obliczenia temperatury w tkance zmienionej i zdrowej korzystając z wyników badań kalibracyjnych na fantomie.



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

## 5. Wyniki badań własnych

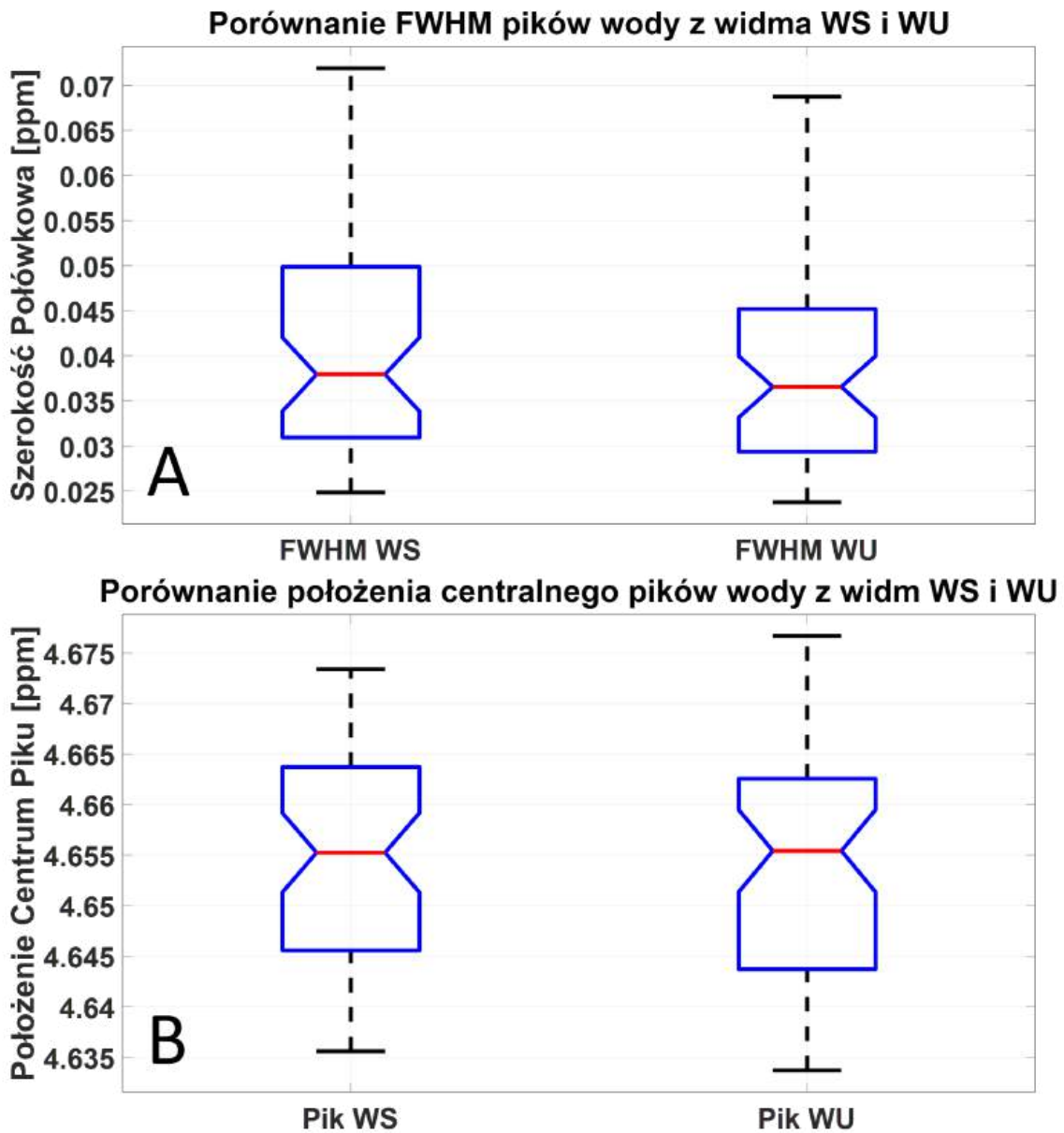
### 5.1. Przetwarzanie i analiza danych z fantomu MRS

Zgodnie z opisem zawartym w rozdziale 4.2, przeprowadzono badania kalibracyjne, w wyniku których uzyskano 55 widm typu WS i WU. Po przeprowadzeniu kontroli jakości do końcowej analizy zakwalifikowano 53 widma. Dane z widm porównujące piki wody z widm typu WU i WS wykazały skuteczność tłumienia wody w widmach WS: średnie tłumienie sygnału wody wyniosło  $95,7 \pm 0,5\%$ , co oznacza, że w widmach WS pozostaje jedynie około 4% amplitudy pików wody obserwowanej w widmach WU.

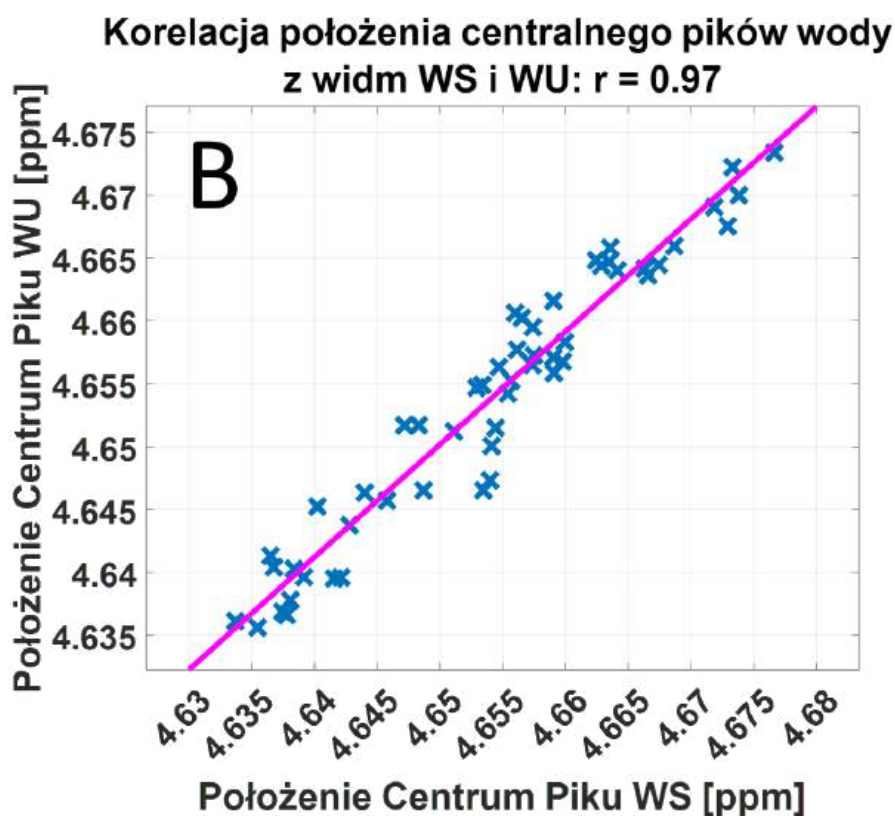
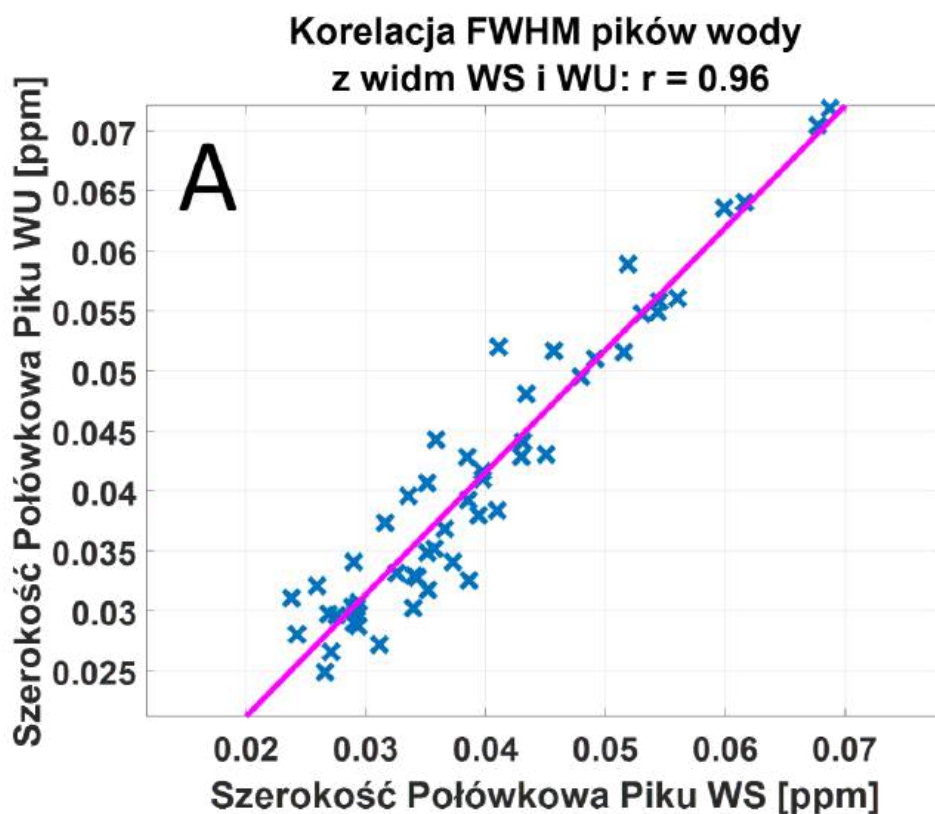
Średnia szerokość połówkowa (FWHM) pików wody w widmach WS różniła się nieznacznie od pików wody z widm WU (średnia WS = 0,0408 ppm, SD = 0,012 ppm vs średnia WU = 0,0393 ppm, SD = 0,011 ppm). Różnica wynosiła około 0,0015 ppm i okazała się istotna statystycznie w teście t-studenta dla prób sparowanych ( $t(52) = 3,31$ ;  $p=0,0017$ ; patrz Rys. 22A). Wielkość efektu ( $d$  Cohena  $\approx 0,45$ ) wskazuje na umiarkowaną różnicę statystyczną, jednak w sensie bezwzględnej zmiana FWHM jest niewielka, a rozkłady FWHM dla widm WU i WS w znacznym stopniu się pokrywają. W podanych wartościach odchylenie standardowe (SD) odnosi się do szerokości rozkładu FWHM w całej grupie widm, a nie do błędów średniej.

Średnie położenia częstotliwości centralnej pików wody w widmach WS i WU były praktycznie identyczne i nie różniły się istotnie statystycznie (średnia WS = 4,6538 ppm, SD = 0,011 ppm, w porównaniu do WU = 4,6541 ppm, SD = 0,011 ppm,  $p = 0,53$ ; patrz Rys. 22B).

Analiza korelacji pomiędzy parametrami linii wody w widmach WS i WU wykazała bardzo silne zależności (dla FWHM:  $r = 0,96$ ,  $p < 0,001$ ; dla położenia centrum pików:  $r = 0,97$ ,  $p < 0,001$ ; patrz Rys. 23). Na Rys. 23A przedstawiono zależność FWHM WU vs FWHM WS, a na Rys. 23B zależność położenia częstotliwości centralnej pików wody z widma WU vs WS. Punkty układają się w pobliżu prostej o nachyleniu zbliżonym do  $45^\circ$ , co wskazuje, że obie procedury rejestracji (z tłumieniem WS i bez tłumienia wody WU) opisują tę samą linię wody, różniącą się głównie amplitudą, a w znacznie mniejszym stopniu szerokością i położeniem pików.



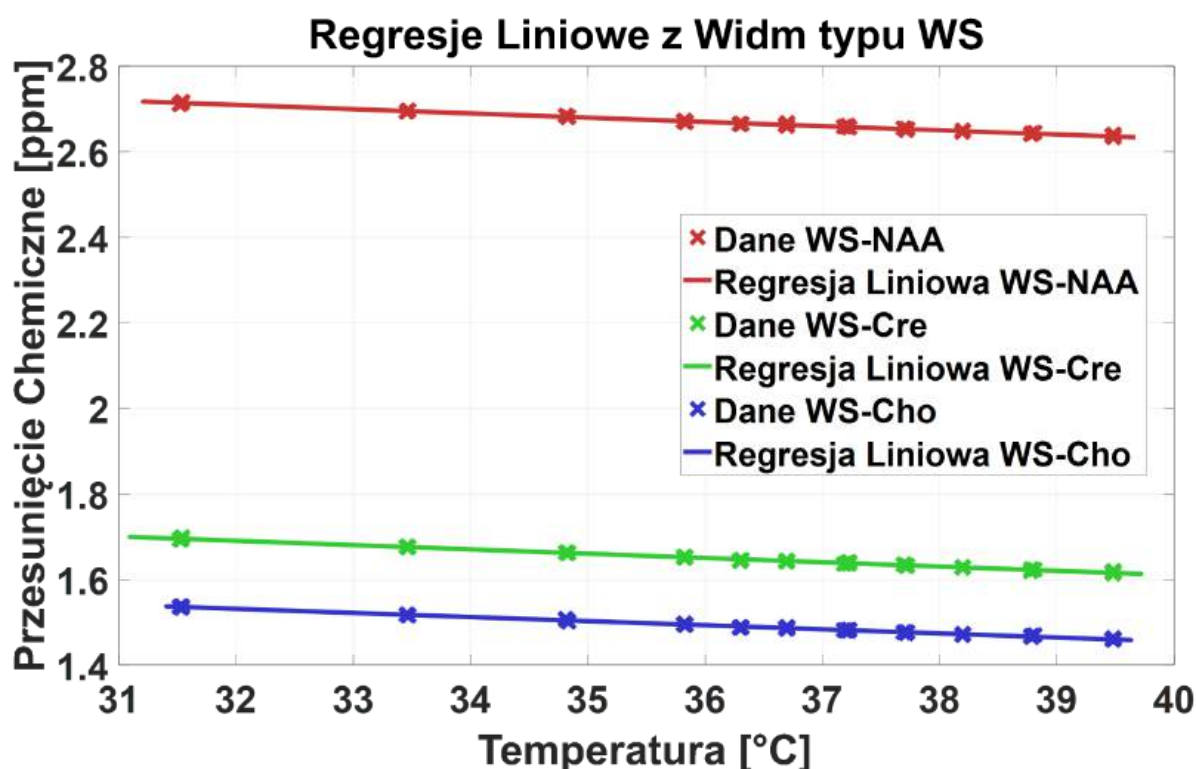
Rysunek 22. Porównanie danych fantomowych: (a) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (b) położenia pików centralnych pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Wykresy pudełkowe przedstawiają medianę, kwartyle oraz wartości minimalne i maksymalne FWHM oraz położenia pików wody dla widm WS i WU. Praca własna.



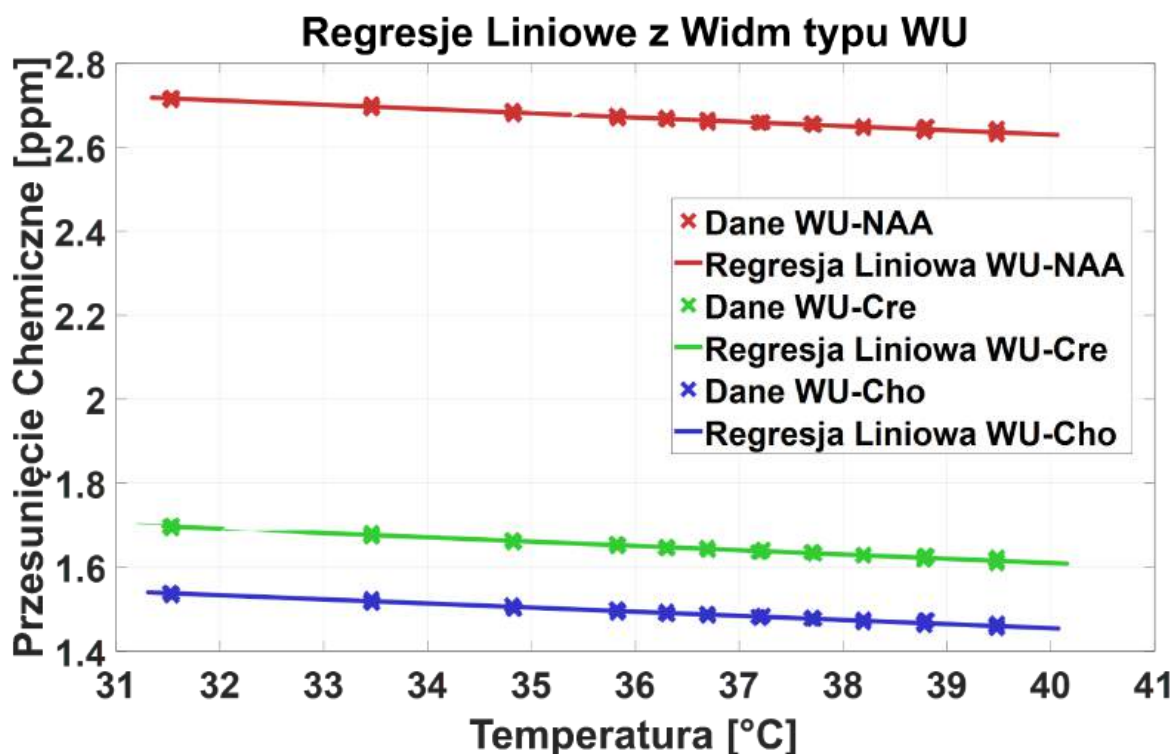
Rysunek 23. Porównanie korelacji z danych fantomowych: (A) korelacja szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x) (B) korelacja położenia pików centralnego pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x). Z linią dopasowania (fioletowa linia). Praca własna.

Zebrano jedenaście zestawów danych z pomiarów temperatury od 31,5°C do 39,5°C. Na każdym z poziomów temperaturowych wykonano pięć powtórzeń pomiaru widm typu WS i WU, przy jednoczesnym pomiarze temperatury w fantomie za pomocą sond światłowodowych (opis w rozdziale 4.2). Zależności pomiędzy temperaturą a różnicą przesunięcia chemicznego pomiędzy pikiem wody a pikami metabolitów oszacowano za pomocą analizy regresji liniowej, zgodnie z formalizmem przedstawionym w rozdziale 3.3.

Dla każdej kombinacji woda-metabolit skonstruowano oddzielną funkcję kalibracyjną. W ten sposób otrzymano sześć regresji: trzy z nich wykorzystując sygnał wody z widma typu WS wraz z jednym z metabolitów NAA, Kreatyną lub Choliną z widm typu WS (WS-NA, WS-Cr, WS-Cho; Rys. 24); trzy z nich wykorzystując sygnał wody z widma typu WU wraz z jednym z metabolitów NAA, Kreatyną lub Choliną z widma typu WS (WU-NAA, WU-Cr, WU-Cho; Rys 25). Wszystkie regresje charakteryzowały się bardzo wysokim stopniem dopasowania ( $R^2 \approx 0,99$ ), co oznacza silną liniową zależność pomiędzy temperaturą a różnicą przesunięcia chemicznego (Tabela 3).



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



Rysunek 25. Wyniki kalibracji. Porównanie liniowych regresji korzystających z różnic pomiędzy położeniem pików wody z widma WU a pikami każdego z trzech metabolitów referencyjnych: NAA (czerwony), Kreatyną (zielony) i Choliną (niebieski) od zmierzonej temperatury w fantomie. Punkty oznaczają dane pomiarowe, a linie modele regresji liniowej. Wyniki zostały wykorzystane do wyznaczenia równań kalibracyjnych, ponieważ temperatura fantomu była znana. Praca własna.

Zgodnie z rozdziałem 3.3. dane kalibracyjne zostały zapisane zgodnie ze wzorem (37) uzupełnionego w formę wzoru poniżej (43) i zawarte w tabeli 3.

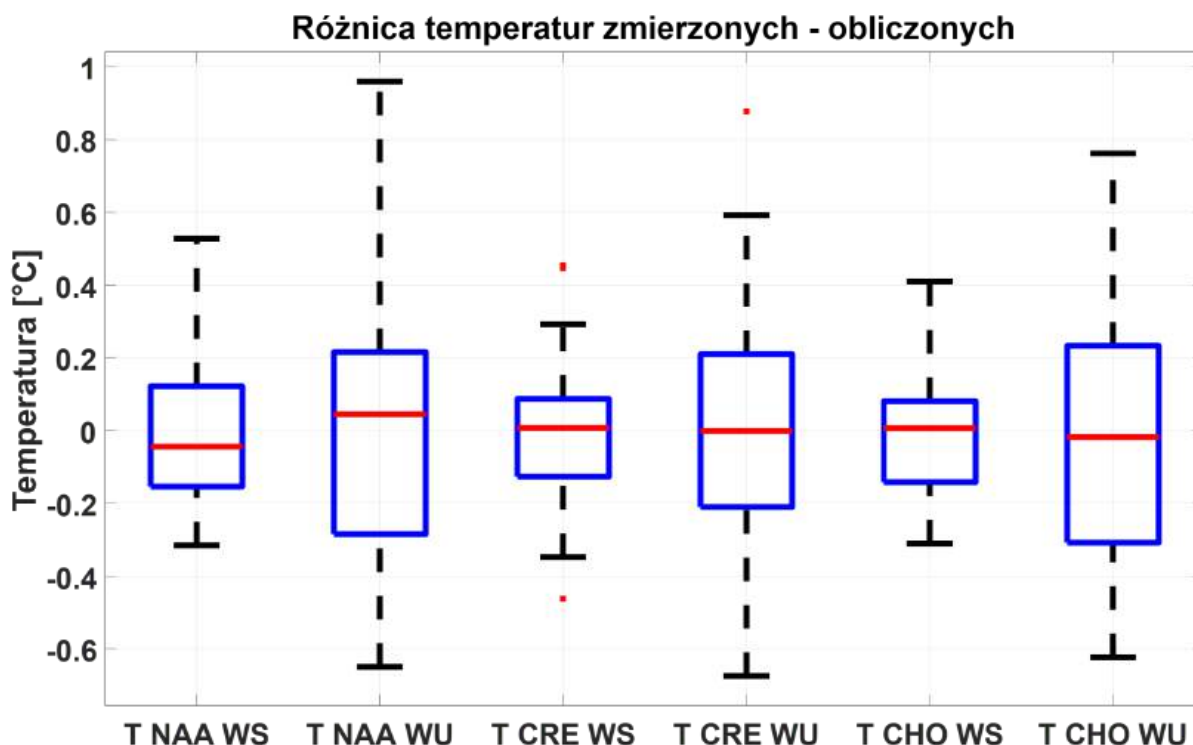
$$T(^{\circ}C) = 36,7 + \alpha \cdot (\delta_{W-M} - FO_{ref}) \quad (43)$$

Wartości nachylenia prostych kalibracyjnych ( $\alpha \approx -100$  °C/ppm) odpowiadają zmianie przesunięcia chemicznego pików wody rzędu około  $-0,01$  ppm/°C, zgodnie z zależnością opisaną we Wstępie na podstawie prac Hindmana i późniejszych badań in vivo.

**Tabela 3.** Współczynniki wyliczone dla wzoru 43 wraz z niepewnościami (nachylenie prostej ( $\alpha$ ), wartość różnicy przesunięcia chemicznego pomiędzy pikem wody z widm WS lub WU i wybranego metabolitu (NAA, Cre lub Cho) dla temperatury 36,7°C ( $F0_{ref}$ ) oraz stopień dopasowania ( $R^2$ ). Parametry uzyskane dla relacji pomiędzy położeniem pików wody z widma WS (WS-metabolit) lub pików wody z widma WU (WU-metabolit) a metabolitami NAA, Kreatyna i Cholina. Przykładowo WS-NAA oznacza różnicę przesunięć chemicznych pomiędzy pikem wody z widma WS i pikem NAA.

Metabolity $\Delta$	$\alpha$ (°C/ppm)	$F0_{ref}$ (ppm)	$R^2$
WS-NAA	-101,1( $\pm$ 1,3)	2,663( $\pm$ 0,001)	0,99
WS-Cre	-100,0( $\pm$ 1,1)	1,643( $\pm$ 0,001)	0,99
WS-Cho	-104,7( $\pm$ 1,1)	1,487( $\pm$ 0,001)	0,99
WU-NAA	-98,7( $\pm$ 2,2)	2,663( $\pm$ 0,001)	0,99
WU-Cre	-98,3( $\pm$ 1,9)	1,644( $\pm$ 0,001)	0,99
WU-Cho	-102,3( $\pm$ 2,3)	1,487( $\pm$ 0,001)	0,99

Porównując temperatury zmierzone w fantomie za pomocą sondy temperatury do temperatur obliczonych za pomocą wzoru 43 ze współczynnikami zawartymi w tabeli 3 otrzymano różnicę temperatur przedstawioną na Rys. 26. Niepewności pomiarowe wyznaczone dla danych obliczonych z fantomu zawierały się na średnim poziomie dla uT NAA WS  $\pm$ 0,1545°C , uT NAA WU  $\pm$ 0,1645°C, uT CRE WS  $\pm$ 0,1505°C , uT CRE WU  $\pm$ 0,1613°C, uT CHO WS  $\pm$ 0,1613°C , uT CHO WU  $\pm$ 0,1676°C. Spośród 6 metod na podstawie odchylenia standardowego różnicy temperatury sonda vs obliczenia można określić, że najbardziej skupioną jest metoda wykorzystująca WS-Cre oraz WS-Cho (0,17°C) do pomiaru temperatury, następnie WS-NAA (0,21°C). Wśród metod wykorzystujących WU, najlepiej sprawdzała się WU-Cre (0,32°C), następnie WU-NAA (0,35°C) a najmniej WU-Cho (0,36°C).

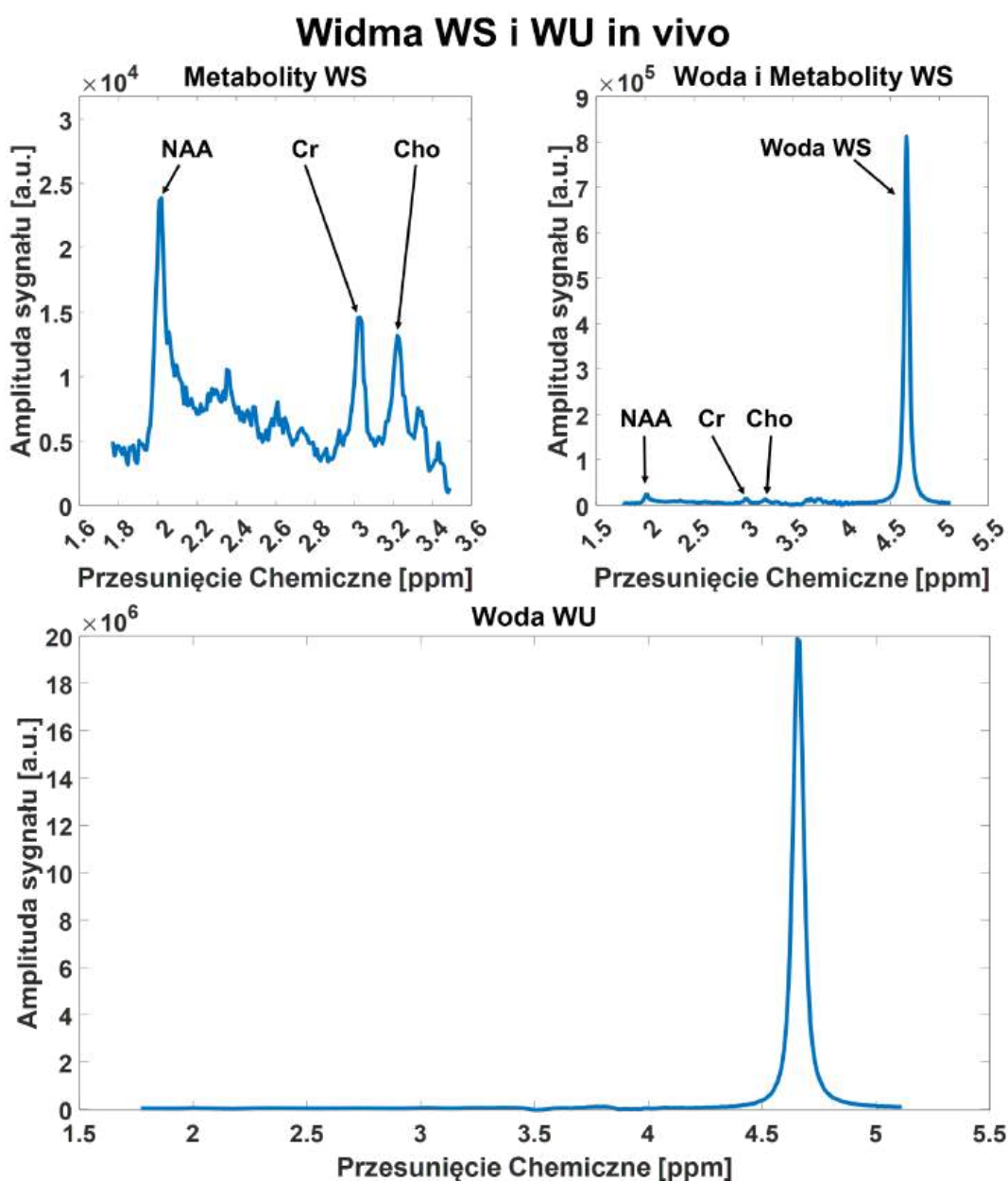


Rysunek 26. Różnice dla 11 wartości nastaw temperatur (Rys. 24, 25) zmierzonych w fantomie za pomocą sond temperaturowych, a temperaturą wyznaczoną z widm typu WS i WU za pomocą wzoru 43 ze współczynnikami zawartymi w tabeli 3. Praca własna.

Podsumowując analizę danych fantomowych, można stwierdzić, że zaproponowana procedura kalibracyjna pozwala na wyznaczenie temperatury z substopniową dokładnością. Kombinacje wykorzystujące wodę z widm WS charakteryzowały się mniejszym rozrzutem różnic (Rys. 26) niż kombinacje oparte na widmach WU (odpowiednie odchylenia standardowe wyniosły 0,17–0,21°C dla WS i 0,32–0,36°C dla WU), co wskazuje, że widma WS wyznaczają górny limit precyzji możliwej do osiągnięcia w idealnych warunkach fantomowych. Jednocześnie metody oparte o pik wody z widm WU zachowują dokładność rzędu 0,3–0,4°C, czyli wyraźnie poniżej 1°C, co potwierdza założenie tezy, że pik wody z widm kalibracyjnych WU może być wykorzystany do pomiarów temperatury mózgu in vivo z substopniową dokładnością. Różnice pomiędzy poszczególnymi metabolitami referencyjnymi (NAA, Cre, Cho) są relatywnie niewielkie w obrębie tej samej grupy (WS lub WU), co sugeruje, że kluczowym czynnikiem różnicującym precyzję jest rodzaj wykorzystanego widma wody. Ponieważ w obu typach widm stosowana jest ta sama procedura estymacji położenia metabolitu, a jedyną zmienną pozostaje położenie pików wody w widmach WS i WU, najbardziej prawdopodobnym źródłem obserwowanych różnic jest zmienność położenia pików wody w widmie WU. Przyczyna tej zmienności wymaga dalszych, ukierunkowanych badań. Wyniki te stanowią punkt odniesienia dla analiz in vivo przedstawionych w kolejnych podrozdziałach.

## 5.2. Wpływ długotrwałych badań fMRI na temperaturę mózgu

Zgodnie z opisem zawartym w rozdziale 4.3.1, przeprowadzono badania in vivo na 146 zdrowych, praworęcznych ochotnikach (77 mężczyzn, 69 kobiet) w wieku 18–45 lat (średnia  $27,8 \pm 6,0$  roku), o średniej masie ciała  $76,2 \pm 16,5$  kg. Łącznie uzyskano 292 widma typu WS i WU – po jednym komplecie widm WS+WU przed (PRE) i po (POST) długotrwałym badaniu fMRI dla każdej osoby. Widma te posłużyły do analizy parametrów linii wody, do obliczeń temperatury mózgu metodą MRSt oraz do oceny wpływu badania fMRI na temperaturę ciała mierzoną w uchu.

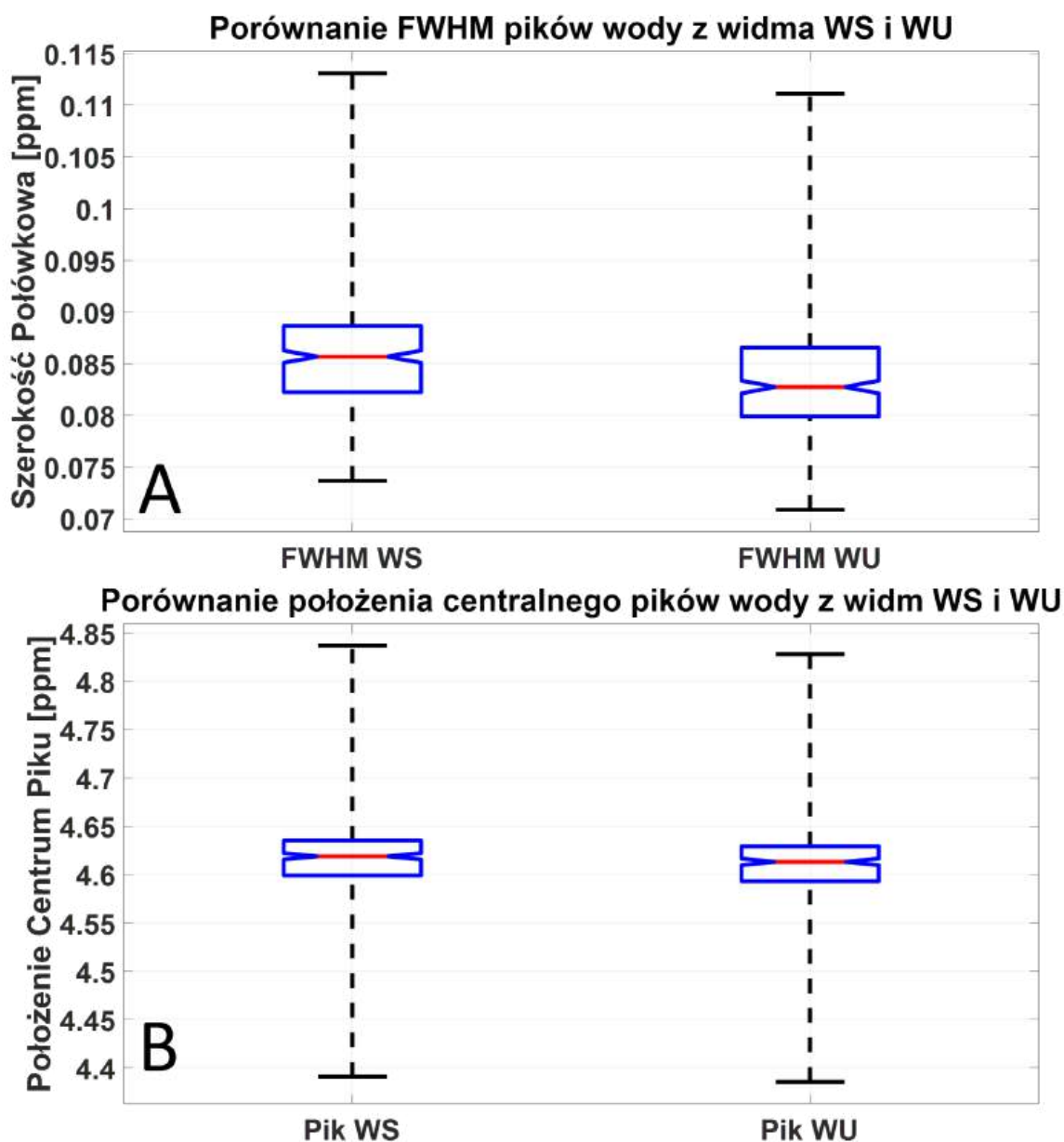


Rysunek 27. Przykład widm in vivo typu WS i WU. Z rozdzielaniem na metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cre i Cho), wodę i metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cr, Cho oraz pik wody) w widmie typu WS oraz na widmo WU z widocznym jedynie pikiem wody. Praca własna.

Dane z widm porównujące piki wody z widm typu WU i WS wykazały skuteczność tłumienia wody w widmach WS: średnie tłumienie sygnału wody wyniosło  $96,0 \pm 0,2\%$ , co oznacza, że w widmach WS pozostaje jedynie około 4% amplitudy piku wody obserwowanej w widmach WU. Co stanowi porównywalną wartość do danych kalibracyjnych.

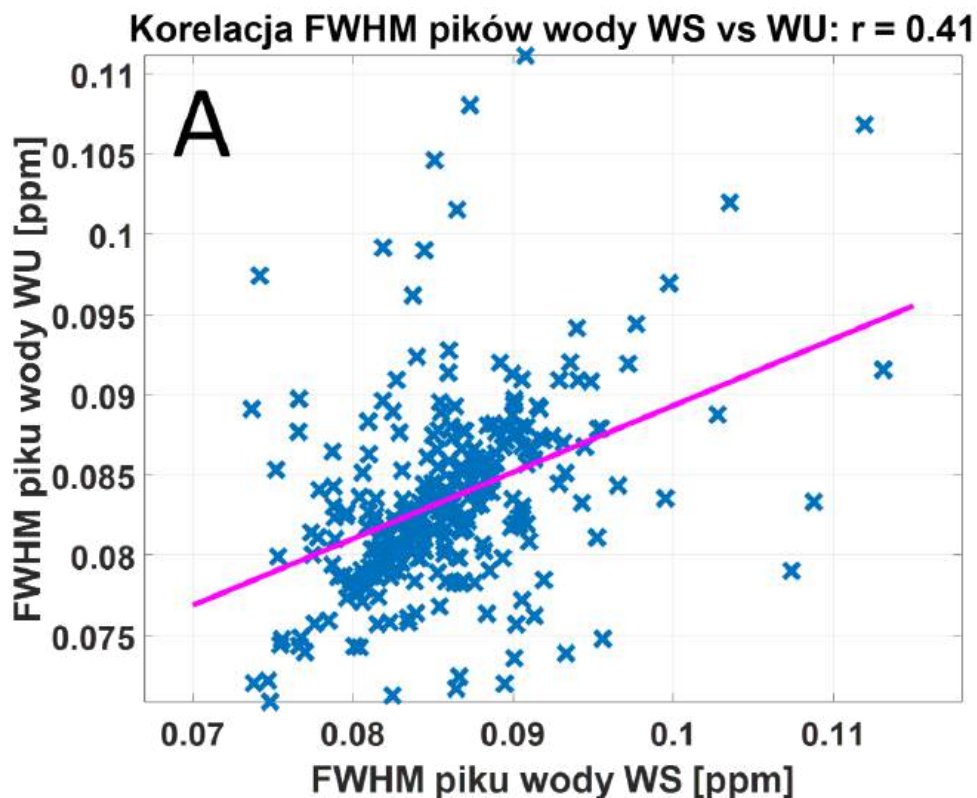
Średnia szerokość połówkowa (FWHM) pików wody w widmach WS różniła się nieznacznie od FWHM z widm WU (średnia WS = 0,0858 ppm, SD = 0,0058 ppm vs średnia WU = 0,0835 ppm, SD = 0,0059 ppm). Różnica średnich wyniosła około 0,0024 ppm, co odpowiada ok. 2,9% średniej wartości FWHM dla widm WU, i okazała się istotna statystycznie w teście t-Studenta dla prób sparowanych ( $t(291) = 6,44$ ;  $p < 0,001$ ; patrz Rys. 28A). Wielkość efektu (d Cohena  $\approx 0,38$ ) wskazuje na umiarkowaną różnicę statystyczną, jednak w sensie bezwzględnym zmiana FWHM jest niewielka, a rozkłady FWHM dla widm WU i WS w znacznym stopniu się pokrywają. W porównaniu z fantomem widać wyraźną różnicę w szerokości połówkowej pików wody (FWHM fantom  $\approx 0,04$  ppm vs FWHM in vivo  $\approx 0,08$  ppm). Różnica ta wynika głównie z odmiennych warunków akwizycji i właściwości próbek. W fantomie mamy do czynienia z jednorodnym roztworem bez przepływów, w którym korekta pola magnetycznego (rozdział 2.5.) jest łatwa do osiągnięcia. W badaniach in vivo, z powodu niejednorodności anatomicznych mózgu, ruchów osoby badanej oraz przepływu krwi, korekta pola magnetycznego jest trudniejsza, co prowadzi do większej szerokości połówkowej piku wody.

Średnie położenia częstotliwości centralnej pików wody w widmach WS i WU różniły się o około 0,0059 ppm (średnia WS = 4,6118 ppm, SD = 0,0495 ppm vs średnia WU = 4,6059 ppm, SD = 0,0494 ppm). Różnica ta była istotna statystycznie w teście t-Studenta dla prób sparowanych ( $t(291) = 29,54$ ;  $p < 0,001$ ; d Cohena  $\approx 1,73$ ; patrz Rys. 28B), ale odpowiada zaledwie ok. 0,13% średniej wartości przesunięcia chemicznego piku wody. W praktyce oznacza to, że zastosowanie supresji wody prowadzi do bardzo niewielkiego przesunięcia częstotliwości centralnej piku wody w widmach WS względem WU, znacznie mniejszego niż typowa szerokość linii.

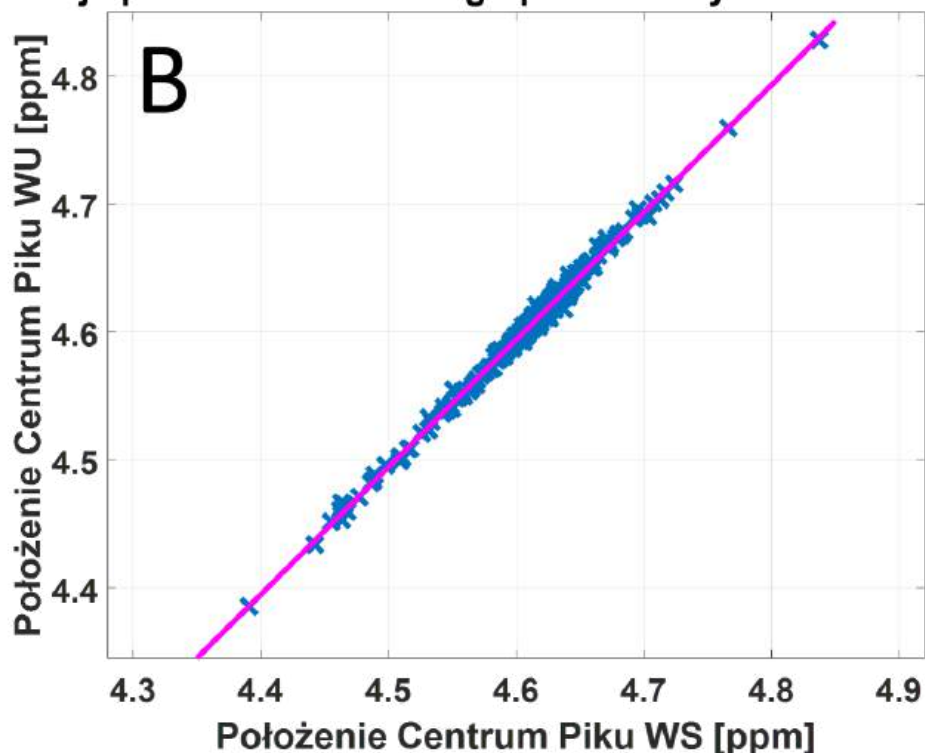


Rysunek 28. Porównanie danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (B) położenia pików centralnych w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.

Analiza korelacji pomiędzy parametrami linii wody w widmach WS i WU wykazała bardzo silne zależności dla położenia centrum pików oraz umiarkowaną dla FWHM (dla FWHM:  $r = 0,41$ ,  $p < 0,001$ ; dla położenia centrum pików:  $r = 0,998$ ,  $p < 0,001$ ; patrz Rys. 29), Wskazuje to, że obie procedury rejestracji (z tłumieniem i bez tłumienia wody) opisują praktycznie tę samą linię wody, różniącą się głównie amplitudą oraz w niewielkim stopniu szerokością, przy zachowaniu bardzo zbliżonego położenia częstotliwości centralnej.

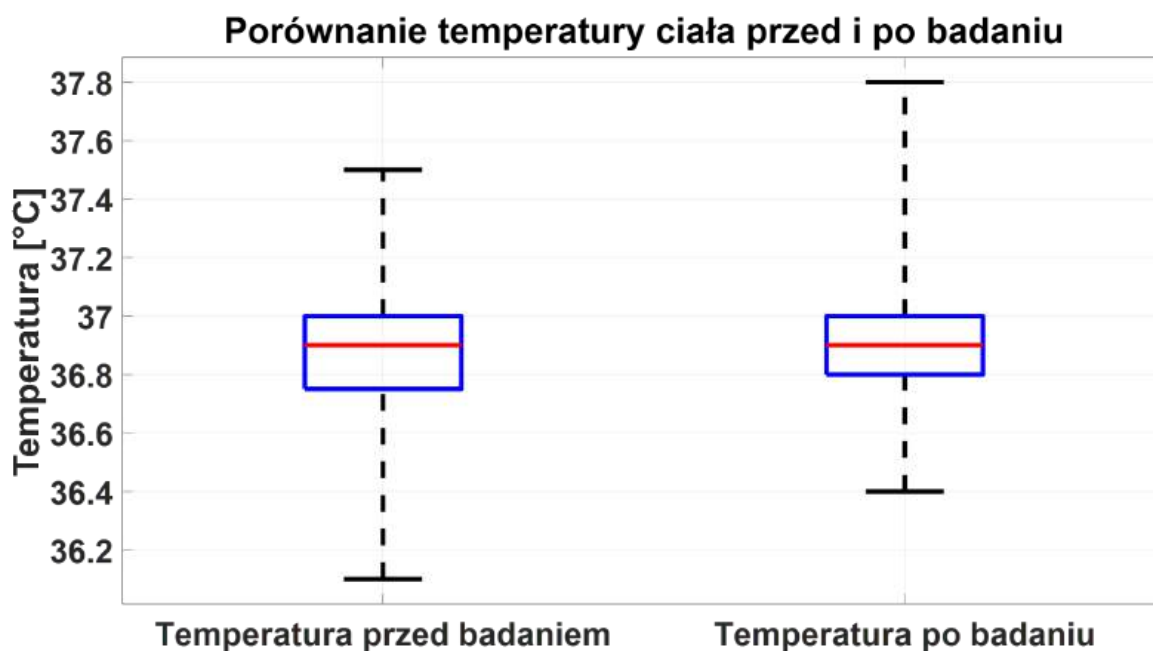


**Korelacja położenia centralnego pików wody WS vs WU:  $r = 0.998$**



Rysunek 29. Porównanie korelacji z danych in vivo: (A) korelacja szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x) (B) korelacja położenia pików centralnego pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x). Z linią dopasowania (fioletowa linia). Praca własna.

Analizę temperatury ciała mierzono w przewodzie słuchowym zewnętrznym. Dla każdego uczestnika wykonano dwa pomiary: przed rozpoczęciem badania fMRI (PRE) oraz bezpośrednio po jego zakończeniu (POST). Średnia temperatura ciała mierzona w uchu osób badanych po skanowaniu wykazała niewielki wzrost o 0,08°C (Średnia temperatura przed skanowaniem = 36,86 °C, SD = 0,23 vs po skanowaniu = 36,94 °C, SD = 0,22). Różnica ta była istotna statystycznie w teście t-Studenta dla prób sparowanych ( $t(145) = 4,04$ ;  $p < 0,0001$ ;  $d$  Cohena  $\approx 0,33$ ; patrz Rys. 30). Nie stwierdzono istotnych różnic w zmianach temperatury ciała między płciami.



Rysunek 30. Porównanie temperatury ciała mierzonej w prawym uchu przed (po lewej) i po (po prawej) badaniu. Praca własna.

Temperatura i niepewności 146 osób badanych zostały obliczone przy użyciu wzorów opisanych w rozdziale 3.3. i stałych kalibracyjnych przedstawionych w rozdziale 5.1. Temperatura mózgu in vivo została obliczona na podstawie różnic pomiędzy położeniami pików wody z widm WS i WU a metabolitami NAA(T-NAA-WS, T-NAA-WU), Cre(T-Cre-WS, T-Cre-WU) i Cho(T-Cho-WS, T-Cho-WU) dla każdej osoby badanej (patrz Tabela 4, Rys. 28). Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono w oparciu o test t-Studenta dla prób zależnych (porównanie PRE vs POST) lub niezależnych (porównania między grupami), przy czym za poziom istotności przyjęto 0,05 (dwustronnie). W tekście podawane są konkretne wartości statystyki  $t$ , liczby stopni swobody ( $df$ ) oraz wartości  $p$ , zawsze mieszczące się w zakresie  $0 < p \leq 1$ . W przypadku wielu porównań traktowano je jako analizy eksploracyjne, stąd nie stosowano korekt na wielokrotne testowanie, a interpretację wyników oparto

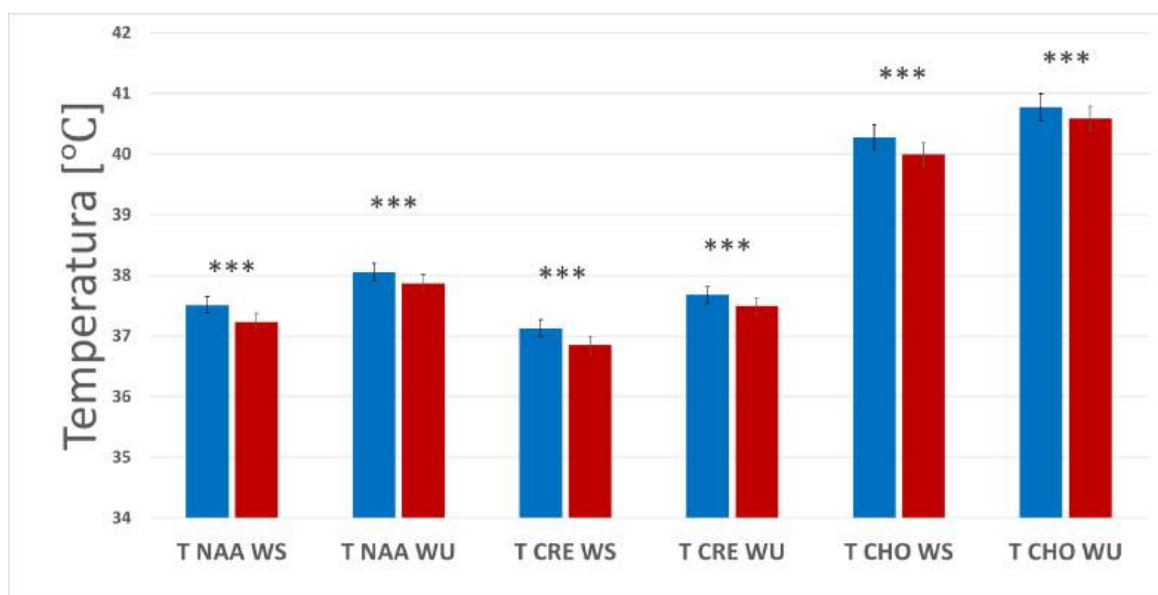
dotatkowo na wielkości efektu (d Cohena) oraz relacji wyników do niepewności pomiarowych uT. W Tabeli 4 zestawiono średnie temperatury mózgu przed (PRE) i po (POST) badaniu fMRI dla sześciu funkcji kalibracyjnych wraz z ich niepewnościami (uT) oraz odchyleniami standardowymi w populacji (SD). Wiersze „PRE fMRI (°C)” i „POST fMRI (°C)” zawierają średnie wartości wraz z niepewnością uT w nawiasach (np. 37,51(±0,14)), natomiast wiersze „SD PRE (°C)” i „SD POST (°C)” przedstawiają rozrzut wartości w całej badanej grupie (np. SD PRE = 0,44 dla T NAA WS).

W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WS i pojedynczych metabolitów (T NAA WS, T CRE WS, T CHO WS) wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. W porównaniu do T NAA WS średnia temperatura T CRE WS jest o 0,38°C niższa, natomiast średnia temperatura T CHO WS jest o 2,77°C wyższa. Niepewności pomiaru wynosiły ±0,14°C dla T NAA WS i T CRE WS oraz ±0,20°C dla T CHO WS. Najmniejsze odchylenie standardowe (SD) zaobserwowano dla T CRE WS, następnie T CHO WS, a największe dla T NAA WS (patrz Tabela 4, Rys. 31).

W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WU i pojedynczych metabolitów (T NAA WU, T CRE WU, T CHO WU) również wykazano istotne różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. W porównaniu do T NAA WU średnia temperatura T CRE WU jest o 0,37°C niższa, natomiast średnia temperatura T CHO WU jest o 2,72°C wyższa. Niepewności pomiaru wynosiły ±0,15°C dla T NAA WU i T CRE WU oraz ±0,22°C dla T CHO WU. Najmniejsze SD zaobserwowano dla T CRE WU, następnie T CHO WU, a SD dla T NAA WU było do nich zbliżone (patrz Tabela 4, Rys. 31).

**Tabela 4.** Porównanie średnich temperatur zmierzonych przed i po akwizycji fMRI z odchyleniami standardowymi i niepewnościami pomiaru wykorzystując wyznaczone funkcje kalibracyjne.

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



Rysunek 31. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm WS i WU z wybranymi pikami odniesienia NAA (T NAA WS i T NAA WU), Cre (T CRE WS i T CRE WU) lub Cho (T CHO WS i T CHO WU). Obliczenia temperatury przedstawione w stanie przed (niebieski) i po (czerwony) akwizycji fMRI. Gwiazdki na obrazku oznaczają istotność statystyczną. Praca własna.

We wszystkich sześciu analizowanych modelach stwierdzono istotny statystycznie spadek temperatury mózgu po długotrwałym badaniu fMRI. Średni spadek ( $\Delta T = T \text{ PRE} - T \text{ POST}$ ) wynosił około  $0,28^{\circ}\text{C}$  dla metod opartych na widmach WS (T NAA WS, T CRE WS, T CHO WS) oraz około  $0,19^{\circ}\text{C}$  dla metod opartych na widmach WU (T NAA WU, T CRE WU, T CHO WU).

Przykładowo, dla modelu T NAA WS temperatura mózgu spadła z  $37,51 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$  (uT) do  $37,23 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$  (uT), przy SD w populacji odpowiednio  $0,44^{\circ}\text{C}$  (PRE) i  $0,47^{\circ}\text{C}$  (POST). Odpowiada to średniej różnicy  $\Delta T = 0,28^{\circ}\text{C}$ . Test t-Studenta dla prób sparowanych dał  $t(145) \approx 10,3$ ;  $p < 0,001$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,85$ , co wskazuje na dużą wielkość efektu. Analogiczne wyniki uzyskano dla T CRE WS ( $\Delta T = 0,27^{\circ}\text{C}$ ;  $t(145) \approx 11,3$ ;  $p < 0,001$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,94$ ) i T CHO WS ( $\Delta T = 0,28^{\circ}\text{C}$ ;  $t(145) \approx 11,5$ ;  $p < 0,001$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,95$ ).

Dla metod wykorzystujących WU spadek temperatury mózgu był nieco mniejszy ( $\Delta T \approx 0,18\text{--}0,19^{\circ}\text{C}$ ), ale nadal istotny statystycznie ( $t(145) \approx 5$ ;  $p < 0,001$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,4\text{--}0,45$ ).

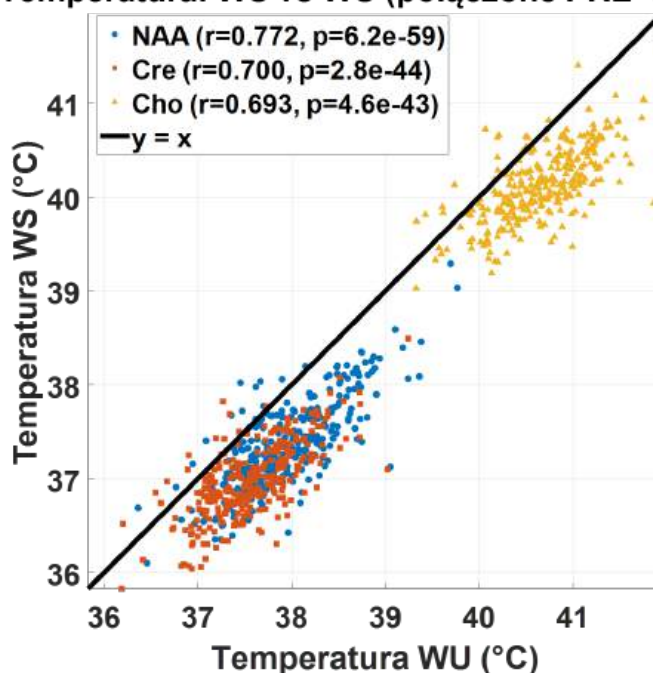
W analizie sparowanych różnic PRE–POST rozważamy wahania temperatury mierzonej dwukrotnie u tej samej osoby; odchylenie standardowe tych różnic (ok.  $0,29\text{--}0,46^{\circ}\text{C}$ ) jest mniejsze niż SD wartości pojedynczych, a średni spadek temperatury ( $0,18\text{--}0,28^{\circ}\text{C}$ ) jest porównywalny lub większy niż uT. W połączeniu z dużą liczebnością próby ( $n = 146$ ) daje to wysoką moc statystyczną do wykrycia spójnego, substopniowego spadku temperatury mózgu.

Porównanie temperatur obliczonych przy wykorzystaniu pików wody z widm WS i WU w referencji do pików metabolitów z widma WS wykazało systematyczny wzrost temperatury o około  $0,58^{\circ}\text{C}$  przy zastosowaniu widm WU. Średnie różnice WU–WS wynosiły przed badaniem fMRI ok.  $0,54\text{--}0,55^{\circ}\text{C}$  (NAA, Cre) i  $0,49^{\circ}\text{C}$  (Cho), natomiast po badaniu zwiększały się do ok.  $0,63\text{--}0,64^{\circ}\text{C}$  (NAA, Cre) i  $0,59^{\circ}\text{C}$  (Cho). W każdym przypadku różnice te były istotne statystycznie w teście t-Studenta dla prób sparowanych ( $t(145) \approx 19\text{--}22$ ;  $p < 0,001$ ;  $d$  Cohena  $\approx 1,5\text{--}1,9$ ), co wskazuje na duży, powtarzalny efekt offsetu pomiędzy metodami WS i WU.

Niepewności pomiaru obliczone dla każdej z metod różniły się natomiast jedynie nieznacznie – kalibracje oparte na WU charakteryzowały się uT większymi o ok.  $0,01\text{--}0,016^{\circ}\text{C}$  niż odpowiadające im kalibracje WS. Różnice te są na granicy istotności statystycznej (przy bardzo małym rozrzucie różnic), lecz z praktycznego punktu widzenia ich wielkość jest pomijalna względem całkowitej niepewności rzędu  $0,14\text{--}0,22^{\circ}\text{C}$ .

Dodatkowo, analiza korelacji Pearsona między temperaturami uzyskanymi obiema metodami wykazała korelację na poziomie około  $r = 0,7$ , co wskazuje na silny związek pomiędzy pomiarami. Na Rysunku 32 przedstawiono zależność pomiędzy temperaturą mierzoną na podstawie widm WS i WU dla wszystkich trzech metabolitów. Widoczna jest wysoka zgodność rangowa (punkty ułożone wzdłuż linii regresji) oraz stały offset względem linii identyczności ( $y = x$ ), co potwierdza, że metody WS i WU dostarczają jakościowo zbieżnej informacji o temperaturze mózgu, różniąc się głównie stałą składową.

**Temperatura: WS vs WU (połączone PRE+POST)**

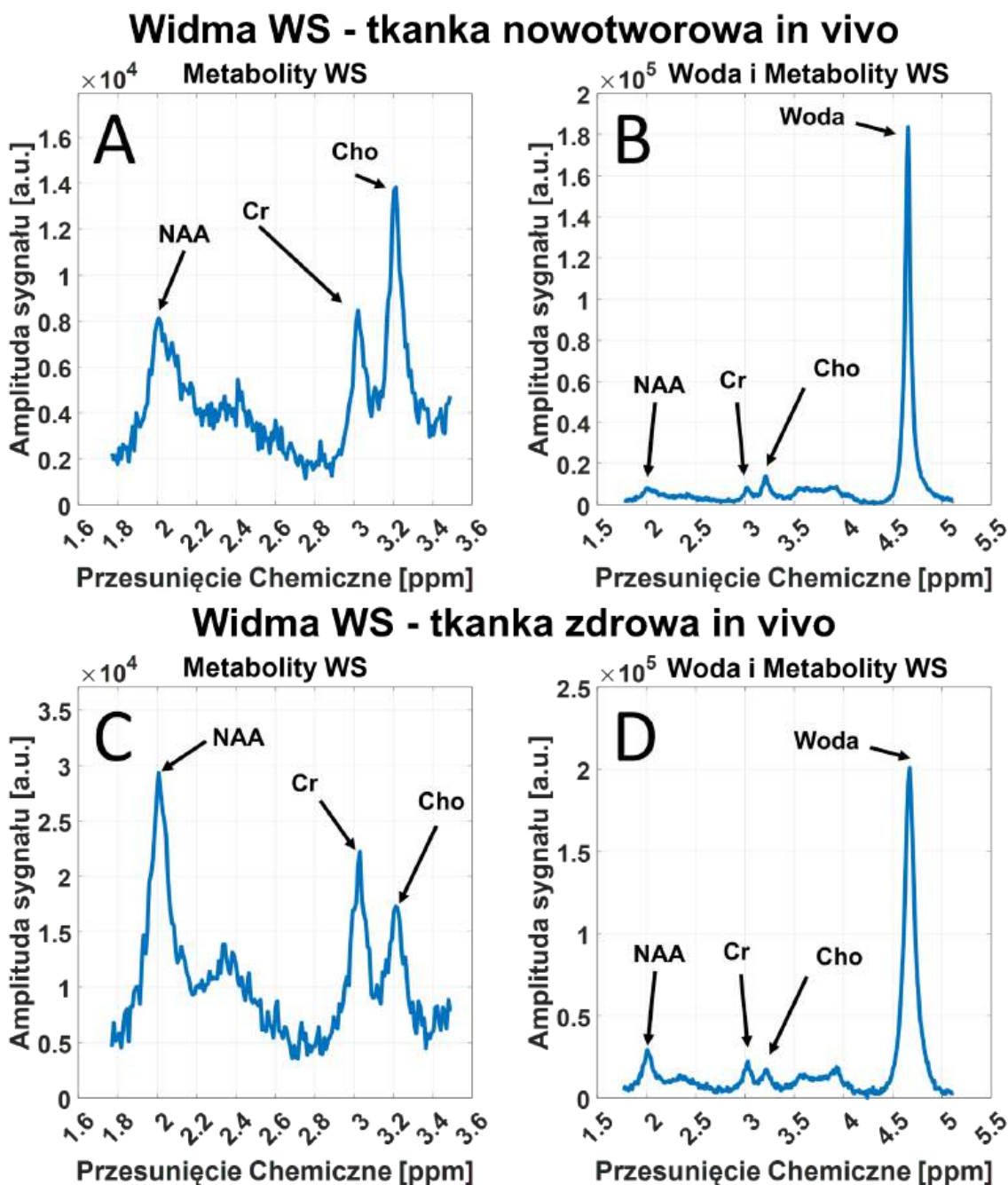


Rysunek 32. Korelacja temperatury mierzonej przy pomocy pików wody z widm WS i WU z NAA( niebieskie kropki), Cre (czerwone kwadraty) i Cho (żółte trójkąty). Z linią  $y = x$  przecinającą całość. Praca własna.

Temperatura początkowa (T PRE) nie różniła się istotnie między mężczyznami i kobietami niezależnie od użytej metody. Wyraźne różnice płci ujawniły się w przypadku analizy spadku temperatury  $\Delta T = T \text{ PRE} - T \text{ POST}$ . Dla modelu T NAA WS mężczyźni wykazywali większy spadek temperatury ( $\Delta T = 0,36^\circ\text{C}$ ) niż kobiety ( $\Delta T = 0,18^\circ\text{C}$ ;  $t(145) = 3,42$ ;  $p < 0,001$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,57$ ). Podobny wzorzec obserwowano dla T NAA WU ( $\Delta T = 0,29^\circ\text{C}$  vs  $0,07^\circ\text{C}$ ;  $t \approx 3,11$ ;  $p \approx 0,002$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,51$ ) oraz dla modeli opartych na Cre: T CRE WS ( $\Delta T = 0,34^\circ\text{C}$  u mężczyzn vs  $0,20^\circ\text{C}$  u kobiet;  $t \approx 2,88$ ;  $p \approx 0,0046$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,48$ ) i T CRE WU ( $\Delta T = 0,27^\circ\text{C}$  vs  $0,09^\circ\text{C}$ ;  $t \approx 2,51$ ;  $p \approx 0,013$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,41$ ). We wszystkich tych przypadkach mężczyźni charakteryzowali się większym spadkiem temperatury mózgu w trakcie długotrwałego badania fMRI (różnice rzędu  $0,15\text{--}0,22^\circ\text{C}$ ), przy umiarkowanej wielkości efektu. Dla modeli opartych na Cho kierunek efektu był taki sam, lecz nie osiągnął istotności statystycznej przy  $p = 0,05$ . Dla T CHO WS  $\Delta T$  wynosiło  $0,32^\circ\text{C}$  u mężczyzn oraz  $0,24^\circ\text{C}$  kobiet ( $t \approx 1,67$ ;  $p \approx 0,10$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,28$ ), a dla T CHO WU odpowiednio  $0,25^\circ\text{C}$  vs  $0,12^\circ\text{C}$  ( $t \approx 1,67$ ;  $p \approx 0,10$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,28$ ). Można więc stwierdzić, że we wszystkich sześciu analizowanych modelach kierunek zmian jest spójny – spadek temperatury po badaniu fMRI jest większy u mężczyzn – a różnice osiągają istotność statystyczną dla większości metod opartych na NAA i Cre, podczas gdy dla metod opartych na Cho mają charakter trendu.

### 5.3. Pomiary temperatury zmian nowotworowych mózgu

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

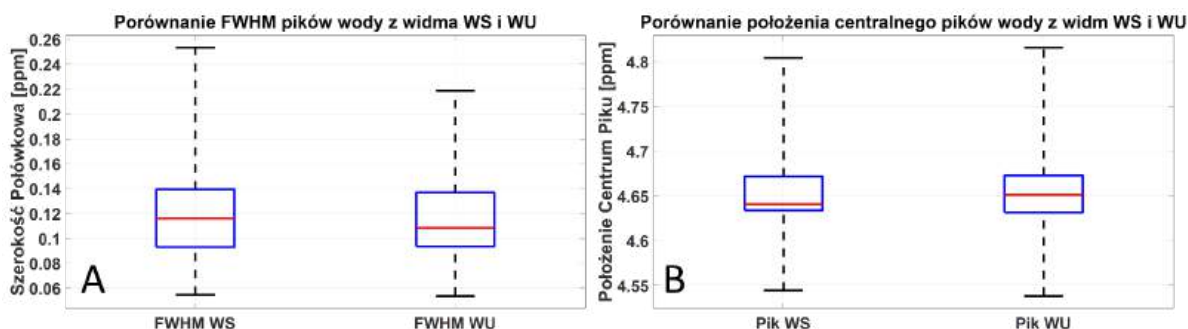


Rysunek 33. Przykład widm in vivo z tkanki zdrowej i nowotworowej. Z rozdzielaniem na: (A i C) metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cre i Cho); (B i D) wodę i metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cr, Cho oraz pik wody) w widmie typu WS. Praca własna.

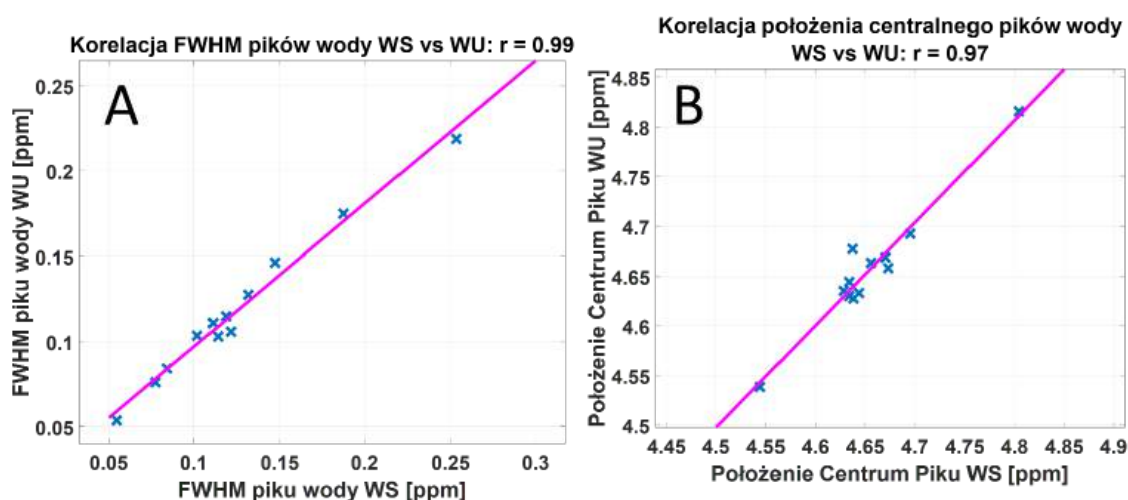
Dane z widm porównujące piki wody z widm typu WU i WS wykazały średnie tłumienie sygnału wody na poziomie 95,41% w widmach WS (dla tkanki zmienionej 95,1%, dla tkanki zdrowej 95,9%). Średnia szerokość połówkowa (FWHM) pików wody była nieznacznie większa w widmach WS ( $0,125 \pm 0,053$  ppm) niż w widmach WU ( $0,118 \pm 0,045$  ppm). Różnica ta wynosiła średnio 0,0069 ppm i okazała się istotna statystycznie w teście t-studenta dla prób sparowanych ( $t(11) = 2,31$ ;  $p = 0,041$ ; d Cohena  $\approx 0,67$ , Patrz Rys. 34A), co wskazuje na umiarkowany, ale w sensie bezwzględny niewielki wpływ tłumienia wody na FWHM piku wody. Zależność pomiędzy FWHM w widmach WS i WU była bardzo silna ( $r = 0,99$ ;  $p < 0,001$ ), co potwierdza, że oba sposoby akwizycji opisują tę samą linię wody, różniącą się głównie amplitudą. Różnice pomiędzy szerokościami pików wody z fantomu, osób zdrowych i osób z nowotworami (FWHM fantom  $\approx 0,04$  ppm vs FWHM zdrowi  $\approx 0,08$  ppm vs FWHM chorzy  $\approx 0,12$  ppm) można wytłumaczyć różnicami w homogeniczności miejsca akwizycji, gdzie w fantomie pole magnetyczne jest bardzo jednorodne, brak jest przepływów i ruchu, co pozwala uzyskać wąskie piki wody. W mózgu zdrowych osób, niejednorodności anatomiczne, pulsacja naczyń i drobne ruchy powodują poszerzenie linii, a w tkankach nowotworowych dodatkowo heterogeniczna struktura guza, obecność martwicy i zaburzenia perfuzji prowadzą do jeszcze większego poszerzenia FWHM.

Średnie położenia częstotliwości centralnej pików wody były praktycznie identyczne w widmach WS ( $4,655 \pm 0,060$  ppm) i WU ( $4,657 \pm 0,063$  ppm). Średnia różnica wyniosła  $-0,002$  ppm i nie była istotna statystycznie ( $t(11) = -0,49$ ;  $p = 0,63$ ; d Cohena  $\approx 0,14$ , Patrz Rys. 34B). Jednocześnie korelacja pomiędzy położeniem piku w widmach WS i WU była bardzo silna ( $r = 0,97$ ;  $p < 0,001$ ), co wskazuje na wysoką powtarzalność częstotliwości odniesienia niezależnie od zastosowania tłumienia wody.

Porównanie osobno dla tkanki zmienionej i zdrowej nie wykazało istotnych różnic w FWHM ani położeniu piku między tymi dwiema tkankami ( $p > 0,24$ ), sugerując że parametry linii wody są zdominowane przez właściwości widma i ustawienia sekwencji, a nie przez samą obecność zmiany nowotworowej.



Rysunek 34. Porównanie danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (B) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.



Rysunek 35. Porównanie korelacji danych in vivo wraz z wartościami korelacji  $r$  Pearsona z danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w WS vs WU (B) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS vs WU. Praca własna.

Temperatura i niepewności dla 6 osób badanych zostały obliczone przy użyciu wzorów opisanych w rozdziale 3.3. i stałych kalibracyjnych przedstawionych w rozdziale 5.1. Temperatura mózgu in vivo została obliczona na podstawie różnic pomiędzy położeniami pików wody z widm WS i WU a metabolitami NAA (T NAA WS, T NAA WU), Cre (T CRE WS, T CRE WU) i Cho (T CHO WS, T CHO WU) dla każdej osoby badanej (patrz Tabela 5,6, Rys. 36).

W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WS i pojedynczych metabolitów (T NAA WS, T CRE WS, T CHO WS) i metody korzystającej z amplitudowego uśrednienia (T AWC WS), wykazano znaczące różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. Porównując średnią temperaturę zmierzoną w zmianie przy pomocy T NAA WS wykazało, że jej temperatura była wyższa od temperatury zmierzonej przy pomocy T CRE WS o  $0,59^{\circ}\text{C}$ , gdzie średnia temperatura mierzona przy pomocy T CHO WS była wyższa o  $2,25^{\circ}\text{C}$ . Średnia temperatura zmierzona przy pomocy T

AWC WS była o 0,83°C wyższa od T NAA WS, o 1,42°C wyższa od T CRE WS i o 1,43°C niższa od T CHO WS.

Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla zmienionej tkanki wynosiły  $\pm 0,32^{\circ}\text{C}$  dla T NAA WS,  $\pm 0,23^{\circ}\text{C}$  dla T CRE WS,  $\pm 0,23^{\circ}\text{C}$  dla T CHO WS i  $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$  dla T AWC WS. Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla normalnej tkanki wynosiły  $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$  dla T NAA WS,  $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$  dla T CRE WS,  $\pm 0,28^{\circ}\text{C}$  dla T CHO WS i  $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$  dla T AWC WS. Badanie odchylenia standardowego (SD) wykazało, że dane pochodzące z widm z tkanki zdrowej mają niższe SD w porównaniu z tymi z tkanki zmienionej w przypadku T CRE WS i T AWC WS. Odchylenia standardowe pomiędzy tkanką zdrową i zmienioną dla T NAA WS i T CHO WS było porównywalne. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zdrowej zaobserwowano dla T CRE WS, następnie dla T AWC WS, następnie dla T CHO WS, a następnie dla T NAA WS. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zmienionej zaobserwowano dla T CRE WS, następnie dla T CHO WS, następnie dla T NAA WS, a następnie dla T AWC WS (patrz Tabela 5 i Rys. 36).

W celu oceny, czy temperatura w obrębie zmiany nowotworowej różni się od temperatury w tkance zdrowej, zastosowano test t-Studenta dla prób sparowanych (N = 6 par). Dla T NAA WS średnia różnica (zmiana – norma) wynosiła 0,45°C i nie była istotna statystycznie ( $t(5) = 0,55$ ;  $p = 0,61$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,22$ ). Podobnie dla T CRE WS różnica 0,51°C (wyższa temperatura w zmianie) okazała się nieistotna ( $t(5) = 0,96$ ;  $p = 0,38$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,39$ ). Dla T CHO WS średnia temperatura w zmianie była nawet nieznacznie niższa niż w tkance zdrowej ( $-0,03^{\circ}\text{C}$ ), co również nie było istotne ( $t(5) = -0,05$ ;  $p = 0,96$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,02$ ). Wreszcie dla T AWC WS różnica 0,90°C na korzyść zmiany nie osiągnęła poziomu istotności ( $t(5) = 1,08$ ;  $p = 0,33$ ;  $d \text{ Cohena} \approx 0,44$ ). Zatem w przypadku metod opartych na widmach WS nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic temperatury pomiędzy tkanką nowotworową a zdrową (Patrz Tabela 5, Rys. 36).

**Tabela 5.** Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi próbki na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WS. Wraz z różnicą pomiędzy zmianą a normą z poziomem istotności.

Modele	T NAA WS	T CRE WS	T CHO WS	T AWC WS
Zmiana (°C)	37,86( $\pm 0,32$ )	37,27( $\pm 0,23$ )	40,12( $\pm 0,23$ )	38,69( $\pm 0,18$ )
Norma (°C)	37,42( $\pm 0,22$ )	36,76( $\pm 0,22$ )	40,15( $\pm 0,28$ )	37,79( $\pm 0,18$ )
Różnica (°C)	0,45 ( $p=0,61$ )	0,51 ( $p=0,38$ )	-0,03 ( $p=0,96$ )	0,90 ( $p=0,33$ )
SD Zmiana(°C)	1,20	0,82	0,98	1,24
SD Norma(°C)	1,24	0,69	1,01	0,95

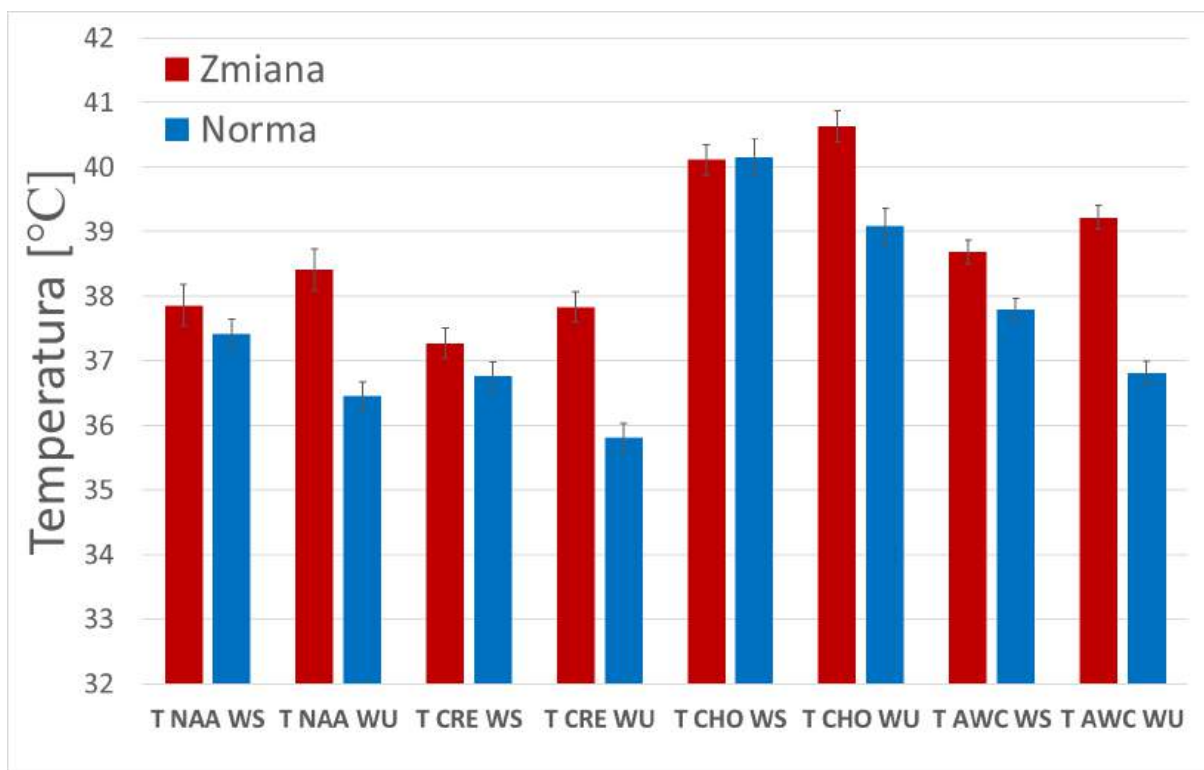
W przypadku obliczeń temperatury korzystających z położenia pików wody WU i pojedynczych metabolitów (T NAA WU, T CRE WU, T CHO WU) i metody korzystającej z amplitudowego uśrednienia (T AWC WU), wykazano znaczące różnice pomiędzy temperaturą mierzoną różnymi metodami. Porównując średnią temperaturę zmierzona w zmianie przy pomocy T NAA WU wykazało, że jej temperatura była wyższa od temperatury zmierzonej przy pomocy T CRE WU o  $0,58^{\circ}\text{C}$ , gdzie średnia temperatura mierzona przy pomocy T CHO WU była wyższa o  $2,22^{\circ}\text{C}$ . Średnia temperatura zmierzona przy pomocy T AWC WU była o  $0,81^{\circ}\text{C}$  wyższa od T NAA WU, o  $1,39^{\circ}\text{C}$  wyższa od T CRE WU i o  $1,41^{\circ}\text{C}$  niższa od T CHO WU. Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla zmienionej tkanki wynosiły  $\pm 0,32^{\circ}\text{C}$  dla T NAA WU,  $\pm 0,23^{\circ}\text{C}$  dla T CRE WU,  $\pm 0,24^{\circ}\text{C}$  dla T CHO WU i  $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$  dla T AWC WU. Zmierzone niepewności pomiaru temperatury dla normalnej tkanki wynosiły  $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$  dla T NAA WU,  $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$  dla T CRE WU,  $\pm 0,28^{\circ}\text{C}$  dla T CHO WU i  $\pm 0,18^{\circ}\text{C}$  dla T AWC WU. Badanie odchylenia standardowego (SD) wykazało, że dane pochodzące z widm z tkanki zdrowej mają niższe SD w porównaniu z tymi z tkanki zmienionej w przypadku T NAA WU, T CHO WU i T AWC WU. Odchylenia standardowe w tkance zdrowej było wyższe niż dla tkanki zmienionej w przypadku T CRE WU. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zdrowej zaobserwowano dla T NAA WU, następnie dla T CHO WU, następnie dla T AWC WU, a następnie dla T CRE WU. Najmniejsze SD w przypadku tkanki zmienionej zaobserwowano dla T CRE WU, następnie dla T CHO WU, następnie dla T AWC WU, a następnie dla T NAA WU (patrz Tabela 6 i Rys. 37).

Porównanie temperatur pomiędzy tkanką zmienioną i prawidłową (test  $t$  dla prób sparowanych,  $N = 6$ ) wykazało istotne różnice dla wszystkich czterech modeli opartych na widmach WU. Dla T NAA WU temperatura w zmianie była średnio o  $1,96^{\circ}\text{C}$  wyższa niż w tkance zdrowej ( $t(5) = 3,06$ ;  $p = 0,028$ ;  $d$  Cohena  $\approx 1,25$ ). Dla T CRE WU różnica wynosiła  $2,02^{\circ}\text{C}$  ( $t(5) = 3,56$ ;  $p = 0,016$ ;  $d$  Cohena  $\approx 1,45$ ), dla T CHO WU  $1,55^{\circ}\text{C}$  ( $t(5) = 6,17$ ;  $p = 0,0016$ ;  $d$  Cohena  $\approx 2,52$ ), a dla T AWC WU  $2,41^{\circ}\text{C}$  ( $t(5) = 4,85$ ;  $p = 0,0047$ ;  $d$  Cohena  $\approx 1,98$ ). Wielkości efektu ( $d$  Cohena  $> 1,2$ ) wskazują na duże lub bardzo duże efekty, mimo niewielkiej liczebności próby ( $N = 6$ ). Wyniki te potwierdzają, że metody obliczeniowe wykorzystujące pik wody z widma WU wykrywają istotnie wyższą temperaturę w obrębie zmiany nowotworowej w porównaniu z tkanką prawidłową, niezależnie od użytego metabolitu referencyjnego i sposobu uśredniania (AWC) (patrz Tabela 6 i Rys. 36, 37).

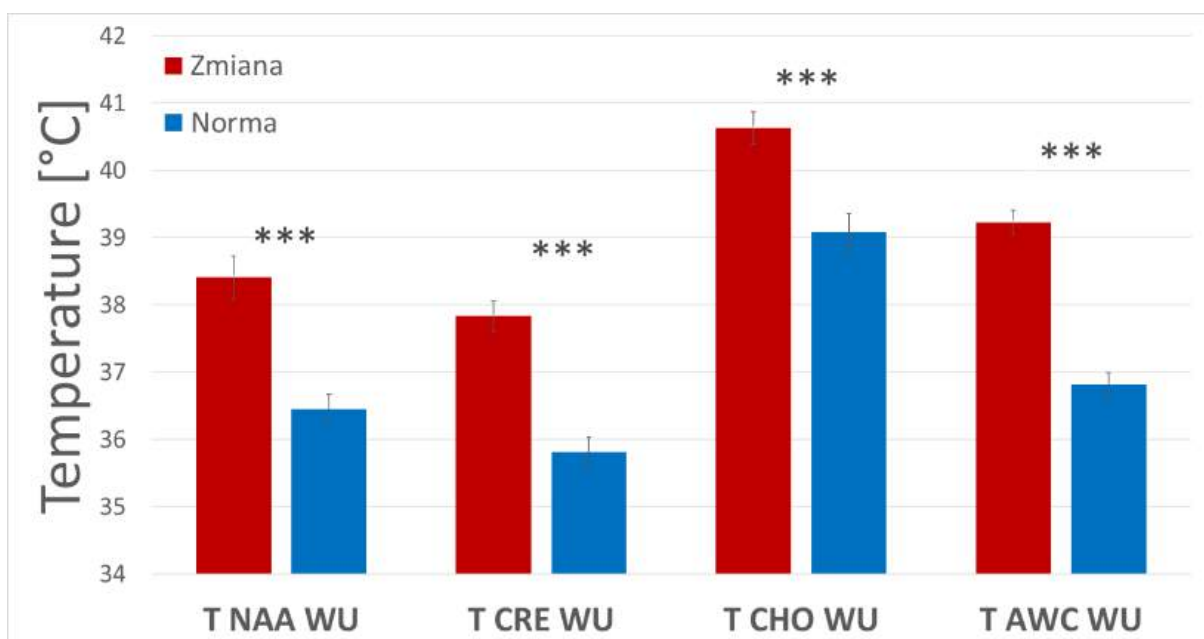
**Tabela 6.** Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi próbki na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WU. Wraz z różnicą pomiędzy zmianą a normą z poziomem istotności.

Modele	T NAA WU	T CRE WU	T CHO WU	T AWC WU
Zmiana (°C)	38,41(±0,32)	37,84(±0,23)	40,63(±0,24)	39,22(±0,18)
Norma (°C)	36,45(±0,22)	35,81(±0,22)	39,01(±0,28)	36,81(±0,18)
Różnica (°C)	1,96 (p=0,028)	2,02 (p=0,016)	1,55 (p=0,0016)	2,41(p=0,0047)
SD Zmiana (°C)	1,28	0,75	0,82	0,98
SD Norma (°C)	0,68	1,19	0,69	0,84

Porównanie temperatur obliczonych przy wykorzystaniu pików wody z widm WS i WU wykazało systematyczne przesunięcia temperatury pomiędzy tymi dwiema procedurami. Dla T NAA średnia temperatura wyznaczona z widm WU była w tkance zmienionej o ok. 0,55°C wyższa niż z widm WS, natomiast w tkance zdrowej o ok. 0,97°C niższa. Bardzo podobne przesunięcia obserwowano dla T CRE, T CHO oraz T AWC (w tkance zmienionej różnica rzędu 0,5–0,6°C na korzyść WU, w tkance zdrowej odpowiednio –0,6 do –1,1°C). Testy *t*-Studenta dla prób sparowanych (WU vs WS) nie osiągnęły jednak istotności statystycznej w żadnym z modeli ( $p > 0,17$ ;  $N = 6$ ), co wynika z dużej zmienności pomiędzy pacjentami i niewielkiej liczebności próby. Niepewności pomiaru ( $uT$ ) były bardzo podobne dla widm WS i WU, zarówno w tkance zmienionej, jak i zdrowej (różnice średnich  $uT < 0,02^\circ\text{C}$ ; brak istotności statystycznej), co sugeruje, że wybór widma referencyjnego (WS vs WU) wpływa głównie na offset temperatury, a nie na precyzję pojedynczego pomiaru (patrz Tabela 5, 6, Rys. 36,37).



Rysunek 36. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WS lub WU z wybranymi metabolitami odniesienia NAA, Cre lub Cho oraz przy pomocy uśredniania amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.



Rysunek 37. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WU z wybranymi pikami odniesienia NAA, Cre i Cho oraz przy pomocy uśredniania amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.

## 6. Podsumowanie i wnioski końcowe

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

W ramach prac osiągnięto następujące cele:

- **Zaprojektowanie oprogramowania Termom**

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

- **Opracowanie procedury kalibracyjnej**

Na podstawie badań Cady'ego [7,11], Zhu [99], Covaciu [100] oraz Veriusa [103] opracowano procedurę kalibracyjną, która pozwala na pomiar temperatury w jednostkach bezwzględnych (w stopniach Celsjusza) z wykorzystaniem metabolitów NAA, kreatyny i choliny jako referencji.

- **Badania kalibracyjne na fantomie wodnym MRS**

Przeprowadzono eksperymenty na temperaturowo kontrolowanym fantomie wodnym zawierającym metabolity występujące w mózgu, m.in. NAA, kreatynę i cholinę. Uzyskano 53 widma typu WS i WU, które po analizie, parametryzacji i kontroli jakości pozwoliły na wyznaczenie sześciu funkcji kalibracyjnych, wykorzystywanych później do pomiarów temperatury z widm in vivo. Współczynniki nachylenia były zgodne z wartościami opisanymi w literaturze (ok.  $-0,01$  ppm/ $^{\circ}$ C), co dodatkowo weryfikuje poprawność przeprowadzonego eksperymentu. Wyniki pomiarów na fantomie wykazały wysoką zgodność danych kalibracyjnych uzyskanych z widm WS i WU, potwierdzając stabilność i powtarzalność opracowanej procedury kalibracyjnej w szerokim zakresie temperatur. **Wyznaczono błąd pomiaru dla widm kalibracyjnych wynoszący od  $\pm 0,15^{\circ}$ C do  $\pm 0,16^{\circ}$ C przy wykorzystaniu pików wody WS oraz  $\pm 0,16^{\circ}$ C przy wykorzystaniu pików wody WU.** Analiza różnic pomiędzy temperaturą mierzoną sondą światłowodową a temperaturą wyliczoną z funkcji kalibracyjnych wykazała, że metody oparte na widmach WS cechują się najwyższą precyzją (odchylenie standardowe  $0,17-0,21^{\circ}$ C). Ich dokładność wyznacza tym samym granicę możliwości pomiarowych w idealnych warunkach fantomowych. Metody wykorzystujące wodę z widm WU osiągnęły dokładność rzędu  $0,3-0,4^{\circ}$ C, co wciąż mieści

się w zakresie substopniowym i potwierdza praktyczną przydatność podejścia opartego na widmach bez tłumienia wody. Ponieważ w obu typach widm stosowana jest ta sama procedura estymacji położenia metabolitu, a jedyną zmienną pozostaje położenie pików wody w widmach WS i WU, najbardziej prawdopodobnym źródłem obserwowanych różnic jest zmienność położenia pików wody w widmie WU. Przyczyna tej zmienności wymaga dalszych, ukierunkowanych badań.

- **Badania in vivo**

Zgodnie z protokołem opisanym w rozdziale 4.3.1. przeprowadzono badania na 146 zdrowych ochotnikach, których celem była ocena wpływu długotrwałych badań fMRI na temperaturę mózgu. Podobnie jak w poprzednich badaniach dotyczących aktywacji kory wzrokowej (Katz-Brull [98], Rango [101]), zaobserwowano istotny spadek temperatury mózgu po długotrwałym skanowaniu fMRI. **Zmierzony spadek temperatury wyniósł  $-0,28^{\circ}\text{C}$  dla metod opartych na pikach wody WS i  $-0,19^{\circ}\text{C}$  dla metod opartych na pikach WU.** Przy niepewnościach pomiarowych w zakresie od  $\pm 0,14^{\circ}\text{C}$  do  $\pm 0,22^{\circ}\text{C}$  można stwierdzić, że wszystkie zastosowane metody, pozwoliły na pomiar temperatury z substopniową dokładnością. Uzyskane wyniki potwierdzają, że długotrwałe skanowanie fMRI wpływa na temperaturę mózgu, co może być tłumaczone większym zapotrzebowaniem mózgu na utlenowaną krew, która dostarczana z chłodniejszych rejonów ciała obniża temperaturę mózgu. Co może stanowić istotny punkt wyjścia do badań potencjalnego wpływu temperatury mózgu na wyniki badań fMRI. Stwierdzono także różnice między płciami, gdzie u mężczyzn znaleziono istotny statystycznie większy spadek temperatury ( $\sim 0,34-0,36^{\circ}\text{C}$ ) w stosunku do kobiet ( $\sim 0,18-0,20^{\circ}\text{C}$ ), co zarówno potwierdza i rozszerza wyniki opublikowane we wcześniejszym artykule, którego autor tej dysertacji jest współautorem [113]. Dodatkowo badania wykazały także istotne różnice absolutnej temperatury w zależności od wybranego widma, obserwując wzrost mierzonej temperatury o  $0,5^{\circ}\text{C}$  przy wykorzystaniu pików wody z widma WU w porównaniu do temperatury mierzonej przy pomocy wyłącznie widma WS. Jest to spowodowane wpływem tłumienia na pików wody i obserwowany jest wyłącznie w badaniach in vivo, co zgadza się z wcześniejszymi obserwacjami Donga [104]. Zaobserwowano również wpływ metabolitu referencyjnego na temperaturę co widoczne jest w szczególności w pomiarach przy użyciu choliny. Wynik ten, obserwowany wyłącznie w widmach in vivo, może świadczyć o obecności różnych związków chemicznych zawierających cholinę, które w przeciwieństwie do czystej choliny użytej w fantomie mogą zniekształcać sygnał pików choliny wpływając na pomiar temperatury. W badaniu zaobserwować może również, że pomimo wzrostu temperatury ciała po długotrwałym skanowaniu fMRI, zmierzony spadek temperatury mózgu sugeruje, że mózg wykazuje niezależne mechanizmy termoregulacyjne, co wymaga dalszych badań. Badanie

dostarcza nowych danych na temat zastosowania MRSt w pomiarach temperatury mózgu, wskazując na potencjalne ograniczenia i źródła niepewności pomiarowych. Jednakże potrzebne są dalsze badania nad zmianami temperatury mózgu zachodzącymi w długotrwałych badaniach fMRI i potencjalnych wpływach tej temperatury na wyniki badań fMRI.

- **Badania kliniczne**

Zgodnie z protokołem opisanym w rozdziale 4.3.2., przeprowadzono badania na 6 pacjentach z nowotworami mózgu. **Wyniki wykazały, że temperatura w tkankach nowotworowych była wyższa o 1,96°C dla T NAA WU, o 2,02°C dla T CRE WU, o 1,55°C dla T CHO WU i o 2,41°C dla T AWC WU w porównaniu do zdrowych tkanek.** Istotne różnice zaobserwowano tylko w przypadku funkcji kalibracyjnych opartych na widmach WU. Porównując wcześniejsze badania dotyczące zmian chorobowych w mózgu, można zauważyć, że wzrost temperatury w tkankach zmienionych jest zgodny z dotychczasowymi doniesieniami literaturowymi, np. w padaczce [16] czy w badaniu Babourina-Brooks [15] w którym wykazano, że temperatura w glejakach była o 0,7°C wyższa niż w zdrowym mózgu, co jest zgodne z wynikami niniejszej pracy. Podsumowując, uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia wskazujące na wzrost temperatury w tkankach zmienionych nowotworowo. Ponadto wykazano, że wybór metabolitu referencyjnego wpływa na wartości temperatury, a metoda amplitudowego uśredniania (T AWC) może być bardziej stabilna. Badanie to dostarcza cennych danych na temat zastosowania techniki MRSt w diagnostyce nowotworów mózgu, jednak dalsze analizy na większej grupie pacjentów są konieczne dla optymalizacji metodologii i potwierdzenia wyników.

**Wyniki pracy potwierdzają, że piki wody z kalibracyjnych widm typu WU mogą być wykorzystywane do pomiarów temperatury mózgu z substopniową dokładnością, co udowadnia wstępnie postawioną tezę. Ponadto widma typu WU pozwalają na identyfikację różnic temperatur pomiędzy obszarem zmienionym w wyniku nowotworu, a tkanką zdrową. Oryginalne artykuły [112,113] i aktualna rozprawa otwierają możliwość innym badaczom do retrospektywnego użycia techniki MRSt w poprzednio zakończonych badaniach MRS dodając temperaturę jako dodatkowy biomarker mogący tłumaczyć zmiany zachodzące w mózgu.**

# Bibliografia

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

- Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging, 2018, 3.3: 248-254.
14. VESCOVO, E., et al. High-precision calibration of MRS thermometry using validated temperature standards: effects of ionic strength and protein content on the calibration. *NMR in Biomedicine*, 2013, 26.2: 213-223.
  15. BABOURINA-BROOKS, Ben, et al. MRS water resonance frequency in childhood brain tumours: a novel potential biomarker of temperature and tumour environment. *NMR in Biomedicine*, 2014, 27.10: 1222-1229.
  16. SONE, Daichi, et al. Noninvasive detection of focal brain hyperthermia related to continuous epileptic activities using proton MR spectroscopy. *Epilepsy Research*, 2017, 138: 1-4.
  17. HOULT, David I.; RICHARDS, R. E. The signal-to-noise ratio of the nuclear magnetic resonance experiment. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 1976, 24.1: 71-85.
  18. BOTTOMLEY, P. Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy. 1984.
  19. WILSON, Martin, et al. Methodological consensus on clinical proton MRS of the brain: Review and recommendations. *Magnetic resonance in medicine*, 2019, 82.2: 527-550.
  20. Haase A, Frahm J, Hanicke W, Matthei D. 1H NMR chemical shift selective imaging. *Phys Med Biol* 1985; 30: 341–4.
  21. Moonen CTW, van Zijl PCM. Highly efficient water suppression for in vivo proton NMR spectroscopy. *J Magn Reson* 1990; 88: 28–41.
  22. Ogg RJ. WET, a T1- and B1-insensitive watersuppression method for in vivo localized 1 H NMR spectroscopy. *J Magn Reson B* 1994; 104: 1–10.
  23. Tkac I, Starcuk Z, Choi IY, Gruetter R. In vivo 1 H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. *Magn Reson Med* 1999; 41: 649–56.
  24. DROST, Dick J.; RIDDLE, William R.; CLARKE, Geoffrey D. Proton magnetic resonance spectroscopy in the brain: report of AAPM MR Task Group# 9. *Medical physics*, 2002, 29.9: 2177-2197.
  25. CHMURNY, Gwendolyn N.; HOULT, David I. The ancient and honourable art of shimming. *Concepts in Magnetic Resonance*, 1990, 2.3: 131-149.
  26. JUCHEM, Christoph; DE GRAAF, Robin A. B0 magnetic field homogeneity and shimming for in vivo magnetic resonance spectroscopy. *Analytical biochemistry*, 2017, 529: 17-29.
  27. McLean MA [Internet] 1D and 2D Quantification Methods. Available from: [http://afni.nimh.nih.gov/sscc/staff/rwcox/ISMRM\\_2006/Syllabus%202006%20-%203340/files/G\\_04.pdf](http://afni.nimh.nih.gov/sscc/staff/rwcox/ISMRM_2006/Syllabus%202006%20-%203340/files/G_04.pdf) dostępný 01.2025r.

28. HULL, William E. NMR Tips for Shimming, Part II. Computerized shimming with the Simplex algorithm. Bruker SpinReport, 2004, 154-155.
29. TKÁČ, Ivan. Methodology of MRS in animal models: technical challenges and solutions. Magnetic Resonance Spectroscopy of Degenerative Brain Diseases, 2016, 13-30.
30. SCHNEIDER, Erika; GLOVER, Gary. Rapid in vivo proton shimming. Magnetic Resonance in Medicine, 1991, 18.2: 335-347.
31. ZEINALI-RAFSANJANI, B., et al. MRS shimming: an important point which should not be ignored. Journal of biomedical physics & engineering, 2018, 8.3: 261.
32. ZHANG, Haibo, et al. Integrated shimming improves lesion detection in whole-body diffusion-weighted examinations of patients with plasma disorder at 3 T. Investigative radiology, 2016, 51.5: 297-305.
33. O'Reilly T. New Developments in Dielectric Shimming for Neuroimaging in MRI at 7T 2015.
34. Siemens Healthineers. Syngo MR B19, basic manual- spectroscopy. 2012.
35. CARLSSON, Åsa, et al. Degraded water suppression in small volume 1 H MRS due to localised shimming. Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine, 2011, 24: 97-107.
36. KREIS, Roland. Issues of spectral quality in clinical 1H-magnetic resonance spectroscopy and a gallery of artifacts. NMR in Biomedicine, 2004, 17.6: 361-381.
37. WOO, Dong-Cheol, et al. Development of a QA phantom and protocol for proton magnetic resonance spectroscopy. Concepts in Magnetic Resonance Part B: Magnetic Resonance Engineering: An Educational Journal, 2009, 35.3: 168-179.
38. OSORIO-GARCIA, Maria Isabel, et al. Quantification of in vivo 1H magnetic resonance spectroscopy signals with baseline and lineshape estimation. Measurement Science and Technology, 2011, 22.11: 114011.
39. MARSHALL, Ian, et al. Choice of spectroscopic lineshape model affects metabolite peak areas and area ratios. Magnetic resonance in medicine, 2000, 44.4: 646-649.
40. KEATING, Brian, et al. Prospective motion correction for single-voxel 1H MR spectroscopy. Magnetic resonance in medicine, 2010, 64.3: 672-679.
41. BARTHA, Robert. Effect of signal-to-noise ratio and spectral linewidth on metabolite quantification at 4 T. NMR in Biomedicine: An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In vivo, 2007, 20.5: 512-521.
42. SHAKIR, Tahir M., et al. 1H-MR spectroscopy in grading of cerebral glioma: A new view point, MRS image quality assessment. Acta Radiologica Open, 2022, 11.2: 20584601221077068.

43. STEFAN, D. D. C. F., et al. Quantitation of magnetic resonance spectroscopy signals: the jMRUI software package. *Measurement Science and Technology*, 2009, 20.10: 104035.
44. CADZOW, James A. Direction-of-arrival estimation using signal subspace modeling. *IEEE transactions on aerospace and electronic systems*, 1992, 28.1: 64-79.
45. REYNOLDS, Greg, et al. An algorithm for the automated quantitation of metabolites in in vitro NMR signals. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2006, 56.6: 1211-1219.
46. WILSON, Martin, et al. A constrained least-squares approach to the automated quantitation of in vivo  $^1\text{H}$  magnetic resonance spectroscopy data. *Magnetic resonance in medicine*, 2011, 65.1: 1-12.
47. PROVENCHER, Stephen W. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magnetic resonance in medicine*, 1993, 30.6: 672-679.
48. PROVENCHER, Stephen W. Automatic quantitation of localized in vivo  $^1\text{H}$  spectra with LCModel. *NMR in Biomedicine: An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In Vivo*, 2001, 14.4: 260-264.
49. SIMPSON, Robin, et al. Advanced processing and simulation of MRS data using the FID appliance (FID-A)—an open source, MATLAB-based toolkit. *Magnetic resonance in medicine*, 2017, 77.1: 23-33.
50. BLOCH, Felix. Nuclear induction. *Physical review*, 1946, 70.7-8: 460.
51. PURCELL, Edward M.; TORREY, Henry Cutler; POUND, Robert V. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Physical review*, 1946, 69.1-2: 37.
52. CHANCE, Britton, et al. Detection of  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance signals in brain by in vivo and freeze-trapped assays. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1978, 75.10: 4925-4929.
53. BEHAR, K. L., et al. High-resolution  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance study of cerebral hypoxia in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1983, 80.16: 4945-4948.
54. BEHAR, K. L., et al. Detection of cerebral lactate in vivo during hypoxemia by  $^1\text{H}$  NMR at relatively low field strengths (1.9 T). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81.8: 2517-2519.
55. BOTTOMLEY, Paul A., et al. In vivo solvent-suppressed localized hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy: a window to metabolism?. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1985, 82.7: 2148-2152.
56. LUYTEN, Peter R.; DEN HOLLANDER, Jan A. Observation of metabolites in the human brain by MR spectroscopy. *Radiology*, 1986, 161.3: 795-798.

57. HANSTOCK, C. C., et al. Spatially localized <sup>1</sup>H NMR spectra of metabolites in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1988, 85.6: 1821-1825.
58. BAX, Ad; FREEMAN, Ray. Enhanced NMR resolution by restricting the effective sample volume. *Journal of Magnetic Resonance* (1969), 1980, 37.1: 177-181.
59. Aue WP. Localization methods for in vivo NMR spectroscopy. *Rev Magn Reson Med* 1986; 1: 21–72.
60. FRAHM, Jens; MERBOLDT, Klaus-Dietmar; HÄNICKE, Wolfgang. Localized proton spectroscopy using stimulated echoes. *Journal of Magnetic Resonance* (1969), 1987, 72.3: 502-508.
61. GRANOT, Joseph. Selected volume excitation using stimulated echoes (VEST). Applications to spatially localized spectroscopy and imaging. *Journal of Magnetic Resonance* (1969), 1986, 70.3: 488-492.
62. KIMMICH, R.; HOEPFEL, D. Volume-selective multipulse spin-echo spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance* (1969), 1987, 72.2: 379-384.
63. FRAHM, J. al, et al. Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: initial applications to human brain in vivo. *Magnetic resonance in medicine*, 1989, 9.1: 79-93.
64. BOTTOMLEY, P. Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy. 1984.
65. SLOTBOOM, J.; MEHLKOPF, A. F.; BOVEE, W. M. M. J. The effects of frequency-selective RF pulses on J-coupled spin-1/2 systems. *Journal of Magnetic Resonance, Series A*, 1994, 108.1: 38-50.
66. SCHEENEN, Tom WJ, et al. Short echo time <sup>1</sup>H-MRSI of the human brain at 3T with minimal chemical shift displacement errors using adiabatic refocusing pulses. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2008, 59.1: 1-6.
67. ÖZ, Gülin; TKÁČ, Ivan. Short-echo, single-shot, full-intensity proton magnetic resonance spectroscopy for neurochemical profiling at 4 T: validation in the cerebellum and brainstem. *Magnetic resonance in medicine*, 2011, 65.4: 901-910.
68. CHAKRABORTY, Goutam, et al. Intraneuronal N-acetylaspartate supplies acetyl groups for myelin lipid synthesis: evidence for myelin-associated aspartoacylase. *Journal of neurochemistry*, 2001, 78.4: 736-745.
69. MIYAKE, Masaham; KAKIMOTO, Yasuo; SORIMACHI, Masaru. A gas chromatographic method for the determination of N-acetyl-L-aspartic acid, N-acetyl- $\alpha$ -aspartylglutamic acid and  $\beta$ -citryl-L-glutamic acid and their distributions

- in the brain and other organs of various species of animals. *Journal of neurochemistry*, 1981, 36.3: 804-819.
70. BIRKEN, David L.; OLDENDORF, William H. N-acetyl-L-aspartic acid: a literature review of a compound prominent in <sup>1</sup>H-NMR spectroscopic studies of brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 1989, 13.1: 23-31.
  71. GOVINDARAJU, Varanavasi; YOUNG, Karl; MAUDSLEY, Andrew A. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR in Biomedicine: An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In Vivo*, 2000, 13.3: 129-153.
  72. TALLAN, Harris H. Studies on the distribution of N-acetyl-L-aspartic acid in brain. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 224.1: 41-45.
  73. TALLAN, Harris H.; MOORE, Stanford; STEIN, William H. N-Acetyl-L-aspartic acid in brain. *Journal of Biological Chemistry*, 1956, 219.1: 257-264.
  74. BASLOW, Morris H. Brain N-acetylaspartate as a molecular water pump and its role in the etiology of Canavan disease: a mechanistic explanation. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2003, 21: 185-189.
  75. TSAI, Guochuan; COYLE, Joseph T. N-acetylaspartate in neuropsychiatric disorders. *Progress in neurobiology*, 1995, 46.5: 531-540.
  76. BASLOW, Morris H. Evidence supporting a role for N-acetyl-L-aspartate as a molecular water pump in myelinated neurons in the central nervous system: an analytical review. *Neurochemistry international*, 2002, 40.4: 295-300.
  77. BARKER, Peter B. N-acetyl aspartate—a neuronal marker?. *Annals of neurology*, 2001, 49.4: 423-424.
  78. URENJAK, Jutta, et al. Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy unambiguously identifies different neural cell types. *Journal of Neuroscience*, 1993, 13.3: 981-989.
  79. JACOBS, Michael A., et al. Quantitative proton MR spectroscopic imaging of normal human cerebellum and brain stem. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2001, 46.4: 699-705.
  80. ROSS, B. Michaelis T. Clinical Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy. *Magnetic Resonance Quarterly*, 1994, 1: 0,191-247.
  81. BIZZI, Alberto, et al. X-linked creatine deficiency syndrome: a novel mutation in creatine transporter gene SLC6A8. *Annals of neurology*, 2002, 52.2: 227-231.
  82. CECIL, Kim M., et al. Irreversible brain creatine deficiency with elevated serum and urine creatine: a creatine transporter defect?. *Annals of neurology*, 2001, 49.3: 401-404.

83. STÖCKLER, S., et al. Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. *Pediatric Research*, 1994, 36.3: 409-413.
84. GILL, S. S., et al. Brain metabolites as <sup>1</sup>H NMR markers of neuronal and glial disorders. *NMR in biomedicine*, 1989, 2.5-6: 196-200.
85. GILL, Steven S., et al. Proton MR spectroscopy of intracranial tumours: in vivo and in vitro studies. *Journal of computer assisted tomography*, 1990, 14.4: 497-502.
86. DAVIE, C. A., et al. Detection of myelin breakdown products by proton magnetic resonance spectroscopy. *The Lancet*, 1993, 341.8845: 630-631.
87. BRENNER, R. E., et al. The proton NMR spectrum in acute EAE: the significance of the change in the Cho: Cr ratio. *Magnetic resonance in medicine*, 1993, 29.6: 737-745.
88. ABOAGYE, Eric O.; BHUJWALLA, Zaver M. Malignant transformation alters membrane choline phospholipid metabolism of human mammary epithelial cells. *Cancer research*, 1999, 59.1: 80-84.
89. KREIS, Roland, et al. Metabolic disorders of the brain in chronic hepatic encephalopathy detected with H-1 MR spectroscopy. *Radiology*, 1992, 182.1: 19-27.
90. STOLL, Andrew L., et al. Choline ingestion increases the resonance of choline-containing compounds in human brain: an in vivo proton magnetic resonance study. *Biological Psychiatry*, 1995, 37.3: 170-174.
91. TANSEY, Etain A.; JOHNSON, Christopher D. Recent advances in thermoregulation. *Advances in physiology education*, 2015.
92. PIETRINI, Domenico, et al. Neuroprotection and hypothermia in infants and children. *Current drug targets*, 2012, 13.7: 925-935.
93. SANFILIPPO, Filippo, et al. Targeted temperature management after cardiac arrest: a systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis. *Journal of Clinical Medicine*, 2021, 10.17: 3943.
94. LEI, Jin, et al. Rationale, methodology, and implementation of a nationwide multicenter randomized controlled trial of long-term mild hypothermia for severe traumatic brain injury (the LTH-1 trial). *Contemporary clinical trials*, 2015, 40: 9-14.
95. SUND-LEVANDER, Märtha; FORSBERG, Christina; WAHREN, Lis Karin. Normal oral, rectal, tympanic and axillary body temperature in adult men and women: a systematic literature review. *Scandinavian journal of caring sciences*, 2002, 16.2: 122-128.
96. BONGERS, Coen CWG, et al. Precooling and percooling (cooling during exercise) both improve performance in the heat: a meta-analytical review. *British journal of sports medicine*, 2015, 49.6: 377-384.

97. DRZAZGA, Zofia; BINEK, Mariusz; POKORA, I. Does repeated dry sauna bathing change thermoregulation process in elite cross-country skiers?. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2021, 145.2: 353-360.
98. KATZ-BRULL, Rachel, et al. Limits on activation-induced temperature and metabolic changes in the human primary visual cortex. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2006, 56.2: 348-355.
99. ZHU, M., et al. Improved calibration technique for in vivo proton MRS thermometry for brain temperature measurement. *Magnetic resonance in medicine*, 2008, 60.3: 536-541.
100. COVACIU, Lucian, et al. Human brain MR spectroscopy thermometry using metabolite aqueous-solution calibrations. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2010, 31.4: 807-814.
101. RANGO, Mario; BONIFATI, Cristiana; BRESOLIN, Nereo. Post-activation brain warming: a 1-H MRS thermometry study. *PLoS One*, 2015, 10.5: e0127314.
102. BABOURINA-BROOKS, Ben, et al. MRS thermometry calibration at 3 T: effects of protein, ionic concentration and magnetic field strength. *NMR in Biomedicine*, 2015, 28.7: 792-800.
103. VERIUS, Michael, et al. Magnetic resonance spectroscopy thermometry at 3 tesla: importance of calibration measurements. *Therapeutic Hypothermia and Temperature Management*, 2019, 9.2: 146-155.
104. DONG, Zhengchao; MILAK, Matthew S.; MANN, J. John. Proton magnetic resonance spectroscopy thermometry: Impact of separately acquired full water or partially suppressed water data on quantification and measurement error. *NMR in Biomedicine*, 2022, 35.6: e4681.
105. DONG, Zhengchao; KANTROWITZ, Joshua T.; MANN, J. John. Improving the reproducibility of proton magnetic resonance spectroscopy brain thermometry: Theoretical and empirical approaches. *NMR in Biomedicine*, 2022, 35.9: e4749.
106. KURODA, Kagayaki; TSUTSUMI, Shiro. Temperature imaging by proton chemical shift. In: *Non-invasive thermometry of the human body*. CRC Press, 2020. p. 63-103.
107. KURODA, K. Temperature mapping using water proton chemical shift. In: *Proceeding of the 2 nd Annual Scientific Meeting of the Society of Magnetic Resonance Imaging*. Society of Magnetic Resonance Imaging, 1994.
108. KURODA, Kagayaki. Non-invasive MR thermography using the water proton chemical shift. *International journal of hyperthermia*, 2005, 21.6: 547-560.

109. NEAR, Jamie, et al. Preprocessing, analysis and quantification in single-voxel magnetic resonance spectroscopy: experts' consensus recommendations. *NMR in Biomedicine*, 2021, 34.5: e4257.
110. JUREWICZ, Katarzyna, et al. EEG-neurofeedback training of beta band (12–22 Hz) affects alpha and beta frequencies—A controlled study of a healthy population. *Neuropsychologia*, 2018, 108: 13-24.
111. KIRCHNER, Wayne K. Age differences in short-term retention of rapidly changing information. *Journal of experimental psychology*, 1958, 55.4: 352.
112. SIŃCZUK, Marcin, et al. Application of Unsuppressed Water Peaks for MRS Thermometry. In: *Polish Conference on Biocybernetics and Biomedical Engineering*. Cham: Springer Nature Switzerland, 2023. p. 407-420.
113. ROGALA, Jacek, et al. Local variation in brain temperature explains gender-specificity of working memory performance. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2024, 18: 1398034.

# Załączniki

## Załącznik A. Dane do rozdziału 5.1.

**Tabela A. Dane pomiarów temperatury z badań na fantomie.** Tabela zawiera pomiary temperatury zmierzone sondą wewnątrz fantomu wraz z temperaturą obliczoną za pomocą pików wody tłumionej (WS) i nietłumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, CRE, CHO), wraz z odpowiadającej im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.

Temperatura Zmierzona i Obliczona (°C)							Niepewności Temperatura Obliczona (°C)					
T Zmierzona sondą	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
31,5150	31,8203	31,6463	31,6575	31,4740	31,5207	31,3580	0,1603	0,1896	0,1575	0,1799	0,1691	0,1992
31,5250	31,6242	31,4270	31,6669	31,4560	31,5001	31,3097	0,1329	0,1703	0,1514	0,1749	0,1372	0,1748
31,5300	31,5785	32,0358	31,4333	31,8770	31,4053	31,8941	0,1500	0,1752	0,1334	0,1544	0,1423	0,1700
31,5350	31,6107	31,9539	31,6960	32,0222	31,7964	32,1584	0,1675	0,1911	0,1548	0,1721	0,1611	0,1834
31,5400	31,2060	31,3450	31,0933	31,2186	31,4073	31,5585	0,2006	0,2247	0,1609	0,1840	0,1579	0,1874
33,4600	33,3756	32,7759	33,4906	32,8831	33,4503	32,8342	0,1388	0,1637	0,1563	0,1698	0,1577	0,1763
33,4600	33,3680	33,2395	33,3629	33,2265	33,4632	33,3348	0,1426	0,1619	0,1379	0,1504	0,1470	0,1621
33,4700	33,3105	33,5584	33,4620	33,6971	33,6203	33,8768	0,1539	0,1686	0,1336	0,1431	0,1327	0,1448
33,4600	33,5139	33,9546	33,4770	33,9079	33,4129	33,8782	0,1225	0,1388	0,1235	0,1328	0,1233	0,1366
33,4500	33,6296	33,6969	33,3881	33,4514	33,4161	33,4971	0,1368	0,1534	0,1586	0,1674	0,1349	0,1500
34,8100	34,5127	34,4872	34,7340	34,6995	34,4007	34,3813	0,1882	0,1958	0,1677	0,1710	0,1838	0,1886
34,8150	34,5460	34,3142	34,8097	34,5690	34,7720	34,5306	0,1208	0,1362	0,1260	0,1323	0,1199	0,1294
34,8250	34,8523	34,8512	34,8451	34,8399	34,8443	34,8469	0,1209	0,1333	0,1255	0,1307	0,1241	0,1312
34,8250	34,8704	35,3710	34,8056	35,3007	34,7742	35,2984	0,1228	0,1323	0,1199	0,1235	0,1306	0,1345
34,8350	34,8101	35,0165	34,8301	35,0307	35,1455	35,3550	0,2010	0,2057	0,1428	0,1464	0,1517	0,1546
35,8150	35,8215	35,4782	35,8256	35,4825	35,7413	35,3889	0,1230	0,1336	0,1253	0,1292	0,1442	0,1480
35,8250	35,8692	35,7402	35,9798	35,8481	35,5473	35,4224	0,2047	0,2082	0,1576	0,1593	0,2567	0,2547
35,8250	35,6859	36,1821	35,7018	36,1934	35,8356	36,3474	0,1242	0,1324	0,1272	0,1291	0,1265	0,1287
35,8350	36,1159	36,2660	35,8048	35,9590	35,8673	36,0292	0,1439	0,1502	0,1209	0,1234	0,1271	0,1296
35,8350	35,9175	35,8323	35,8282	35,7438	35,9057	35,8188	0,1251	0,1339	0,1329	0,1352	0,1789	0,1791
36,2900	36,4861	36,2922	36,6383	36,4431	36,5929	36,3893	0,1278	0,1355	0,1387	0,1398	0,1454	0,1463
36,3000	36,5689	35,9291	36,7623	36,1229	36,5454	35,8828	0,1383	0,1459	0,1613	0,1619	0,1525	0,1540
36,3100	36,4789	36,4797	36,4155	36,4179	36,5395	36,5386	0,1666	0,1713	0,1497	0,1506	0,1727	0,1724
36,3100	36,4059	36,6165	36,4075	36,6172	36,4630	36,6796	0,1139	0,1231	0,1181	0,1205	0,1340	0,1358
36,6850	36,7192	36,5327	36,8106	36,6245	36,7111	36,5173	0,1172	0,1260	0,1208	0,1229	0,1187	0,1214

Temperatura Zmierzona i Obliczona (°C)							Niepewności Temperatura Obliczona (°C)					
T Zmierzona sondą	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
36,6900	36,8924	36,6067	36,6313	36,3532	36,6992	36,4065	0,1323	0,1395	0,1237	0,1259	0,1476	0,1486
36,7000	36,9400	36,9949	36,8706	36,9281	36,8960	36,9525	0,1916	0,1948	0,1356	0,1372	0,1684	0,1684
36,7000	36,9718	37,3498	36,6925	37,0753	36,6646	37,0619	0,2012	0,2044	0,1888	0,1885	0,1674	0,1677
36,7000	36,2059	36,4708	36,6183	36,8743	36,3802	36,6508	0,2258	0,2271	0,1567	0,1572	0,1886	0,1875
37,1800	37,1567	37,1353	37,4088	37,3855	37,1737	37,1492	0,1537	0,1594	0,1613	0,1620	0,1854	0,1847
37,2000	37,1125	37,3552	37,2378	37,4795	37,3419	37,5861	0,1962	0,1996	0,2189	0,2179	0,1608	0,1622
37,2150	36,8338	37,0017	37,0070	37,1724	37,1000	37,2664	0,2355	0,2367	0,2060	0,2054	0,1645	0,1653
37,2250	37,3780	37,1310	37,4119	37,1685	37,3764	37,1182	0,1512	0,1571	0,1189	0,1213	0,1271	0,1294
37,2300	37,3673	37,1785	36,9549	36,7773	37,0841	36,8929	0,2044	0,2070	0,1530	0,1537	0,1902	0,1892
37,6900	37,5103	37,4686	37,5333	37,4948	37,7695	37,7175	0,1420	0,1488	0,1445	0,1458	0,1282	0,1313
37,7050	37,5896	37,2952	37,5927	37,3034	37,6322	37,3235	0,1316	0,1387	0,1362	0,1373	0,1448	0,1458
37,7150	38,0311	37,7504	37,8984	37,6263	38,0028	37,7088	0,1396	0,1466	0,1236	0,1255	0,1643	0,1647
37,7250	37,6680	37,7577	37,8022	37,8930	37,7093	37,7981	0,1234	0,1326	0,1322	0,1348	0,1742	0,1748
38,1900	38,4389	38,4335	38,1986	38,2035	38,3345	38,3265	0,1347	0,1452	0,1456	0,1486	0,1400	0,1449
38,1950	38,3536	38,5873	38,1116	38,3543	38,4668	38,7015	0,1434	0,1529	0,2194	0,2191	0,1842	0,1869
38,1950	37,9601	38,1022	38,2070	38,3488	38,1203	38,2600	0,1189	0,1295	0,1566	0,1590	0,1401	0,1441
38,1950	38,3166	38,0218	38,3282	38,0403	38,1008	37,7959	0,1988	0,2028	0,1565	0,1584	0,1754	0,1762
38,2000	38,1219	37,9911	38,1224	37,9974	38,1410	38,0010	0,1234	0,1331	0,1342	0,1368	0,1539	0,1562
38,8100	38,5188	38,1754	38,7384	38,3992	38,4067	38,0486	0,1646	0,1706	0,1549	0,1572	0,2334	0,2318
38,7900	38,7681	38,2104	38,7458	38,1983	38,6400	38,0597	0,1497	0,1572	0,1585	0,1604	0,1971	0,1972
38,7800	38,7345	38,7004	38,5742	38,5502	38,7010	38,6610	0,1520	0,1613	0,1438	0,1475	0,1508	0,1558
38,7750	38,9095	39,0564	39,1220	39,2719	38,6909	38,8422	0,1632	0,1733	0,2115	0,2143	0,1936	0,1968
38,7850	38,9382	39,4024	38,6765	39,1506	38,8889	39,3648	0,1819	0,1927	0,1424	0,1495	0,1901	0,1966
39,4850	38,9575	38,5264	39,0308	38,6082	39,2490	38,7895	0,2071	0,2118	0,1917	0,1935	0,2402	0,2407
39,4700	39,2266	39,0831	39,2833	39,1480	39,4817	39,3204	0,1293	0,1427	0,1306	0,1374	0,1696	0,1764
39,4800	39,1760	39,3489	39,1888	39,3690	39,1251	39,2989	0,1421	0,1561	0,1457	0,1529	0,1794	0,1858
39,4800	39,6305	40,0622	39,7171	40,1549	39,6315	40,0710	0,1274	0,1501	0,1751	0,1850	0,1702	0,1837
39,4850	39,6691	39,8548	39,4442	39,6428	39,5888	39,7754	0,1816	0,1943	0,2060	0,2107	0,1903	0,1989

## Załącznik B. Dane do rozdziału 5.2.

**Tabela B1. Dane z pomiarów temperatury przed badaniem fMRI.** Tabela zawiera numer pacjenta, wiek oraz płeć. Przedstawiono w niej temperaturę wyznaczoną z pików wody tłumionej (WS) i nietłumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, Cre, Cho), a także odpowiadające im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.

Dane			Temperatura Przed fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
1	28	M	37,3142	38,0712	36,8587	37,6229	39,7605	40,4847	0,1429	0,1521	0,1820	0,1826	0,4059	0,4055
2	23	M	37,1834	37,7297	36,9666	37,5165	39,8400	40,3412	0,1368	0,1453	0,1567	0,1580	0,2396	0,2479
3	24	M	37,3241	37,5329	36,8908	37,1091	40,1933	40,3397	0,1327	0,1418	0,1741	0,1749	0,2055	0,2168
4	28	M	37,5548	38,4883	37,2653	38,2029	40,1704	41,0728	0,1636	0,1729	0,1400	0,1444	0,2251	0,2404
5	24	F	37,1563	36,9443	37,0970	36,8895	39,8930	39,6070	0,1457	0,1518	0,1426	0,1437	0,2420	0,2454
6	24	M	37,3421	37,9936	36,8274	37,4877	40,3427	40,9444	0,1479	0,1564	0,1352	0,1376	0,3075	0,3146
7	26	M	37,7530	38,2738	37,0213	37,5564	40,1459	40,6256	0,1546	0,1634	0,1600	0,1614	0,2649	0,2730
8	24	F	37,6581	38,0985	37,2717	37,7206	41,0834	41,4557	0,1719	0,1808	0,2036	0,2055	0,2322	0,2503
9	24	F	37,6840	38,2893	37,3681	37,9800	40,0230	40,5917	0,1183	0,1314	0,1554	0,1581	0,2245	0,2360
10	45	F	38,1777	38,6905	37,6931	38,2172	40,6491	41,1176	0,1379	0,1505	0,1676	0,1704	0,2206	0,2361
11	25	M	36,9640	37,9011	36,5364	37,4782	39,7395	40,6432	0,1506	0,1588	0,1452	0,1472	0,2690	0,2775
12	25	M	37,3497	38,4107	36,7950	37,8636	40,0300	41,0634	0,1344	0,1464	0,1391	0,1423	0,2485	0,2615
13	28	M	37,1082	37,9492	36,9581	37,7999	40,2471	41,0424	0,1229	0,1345	0,1210	0,1257	0,2048	0,2222
14	24	M	38,3453	38,7481	37,6178	38,0372	40,2902	40,6569	0,1176	0,1327	0,1562	0,1587	0,2631	0,2714
15	34	F	38,1012	38,4038	37,6444	37,9587	40,6325	40,8822	0,1352	0,1465	0,1174	0,1223	0,1896	0,2066
16	28	M	37,7165	38,2766	37,1315	37,7032	40,1934	40,7119	0,1544	0,1632	0,1219	0,1255	0,1794	0,1965
17	42	F	37,5123	38,0237	37,2923	37,8084	40,4615	40,9189	0,1297	0,1401	0,1344	0,1376	0,1529	0,1758
18	21	M	37,6340	37,6139	37,2597	37,2501	40,2868	40,2004	0,1331	0,1415	0,1258	0,1282	0,1611	0,1754
19	26	F	38,0116	38,7113	37,5044	38,2145	40,7450	41,4014	0,1397	0,1525	0,1546	0,1581	0,2050	0,2250
20	24	M	38,0826	38,3726	37,5387	37,8419	40,6686	40,9040	0,1336	0,1450	0,1205	0,1250	0,1961	0,2125
21	22	F	37,2993	38,0898	36,8559	37,6532	40,1383	40,8880	0,1373	0,1476	0,1210	0,1250	0,2764	0,2857
22	36	F	37,5496	37,6186	37,0958	37,1760	40,3592	40,3616	0,1293	0,1381	0,1288	0,1310	0,2146	0,2246
23	29	M	38,2036	38,4866	37,5111	37,8104	40,6477	40,8789	0,1426	0,1532	0,1407	0,1435	0,1775	0,1958
24	32	M	39,2913	39,6961	38,0791	38,5118	41,5485	41,9077	0,1674	0,1823	0,1483	0,1538	0,2311	0,2518
25	24	M	37,8746	38,5867	37,2859	38,0093	40,6406	41,3093	0,1780	0,1863	0,1319	0,1361	0,1808	0,2034
26	24	M	36,9570	37,1722	36,6810	36,9018	39,8853	40,0377	0,1416	0,1486	0,1337	0,1354	0,1856	0,1964
27	41	M	37,4848	37,8603	37,0448	37,4295	40,1268	40,4508	0,1392	0,1481	0,1219	0,1251	0,1839	0,1983
28	30	M	37,3033	38,0800	37,0156	37,7964	40,0113	40,7497	0,1329	0,1431	0,1347	0,1377	0,1679	0,1871
29	23	M	36,9990	37,8525	36,8129	37,6675	40,0441	40,8548	0,1349	0,1454	0,1109	0,1166	0,1930	0,2109
30	23	F	36,9363	37,2708	36,6746	37,0137	39,7261	40,0054	0,1343	0,1426	0,1147	0,1182	0,1936	0,2041

Dane			Temperatura Przed fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
31	23	F	37,9512	38,4071	37,3648	37,8335	40,4092	40,8198	0,1234	0,1360	0,1159	0,1202	0,1206	0,1485
32	24	M	37,3377	37,9208	37,1152	37,7023	40,1547	40,6900	0,1270	0,1377	0,1115	0,1163	0,1927	0,2083
33	31	F	37,1717	37,8039	36,8354	37,4729	39,7234	40,3162	0,1551	0,1628	0,1253	0,1288	0,1743	0,1895
34	25	M	37,1049	37,5321	36,8074	37,2400	40,0101	40,3824	0,1243	0,1336	0,1115	0,1148	0,1590	0,1759
35	27	M	37,1891	37,3239	36,8496	36,9922	39,9263	39,9994	0,1279	0,1361	0,1197	0,1220	0,1729	0,1844
36	23	F	36,5226	36,9625	36,4898	36,9288	39,8342	40,2114	0,1264	0,1344	0,1334	0,1351	0,1731	0,1868
37	23	F	38,1319	38,7048	37,6833	38,2665	40,4233	40,9585	0,1534	0,1645	0,1194	0,1256	0,1571	0,1801
38	23	M	36,8530	37,5148	36,6269	37,2910	39,8629	40,4762	0,1284	0,1378	0,1124	0,1162	0,1979	0,2115
39	43	M	37,2581	37,9034	36,7261	37,3802	39,9394	40,5424	0,1324	0,1422	0,1318	0,1343	0,2448	0,2543
40	37	M	37,1394	37,8042	36,8855	37,5539	39,9288	40,5498	0,1289	0,1391	0,1203	0,1242	0,1909	0,2059
41	28	F	37,3051	38,0351	36,7815	37,5200	39,6416	40,3404	0,1169	0,1292	0,1440	0,1461	0,1534	0,1715
42	37	F	37,3116	37,4638	36,9865	37,1465	40,5049	40,5850	0,1308	0,1392	0,1301	0,1322	0,1627	0,1802
43	26	F	37,6769	37,8393	37,2007	37,3745	40,2534	40,3578	0,1429	0,1512	0,1170	0,1204	0,1769	0,1910
44	22	M	37,3918	37,4875	36,9740	37,0797	39,9762	40,0120	0,1476	0,1548	0,1440	0,1457	0,1618	0,1751
45	28	F	37,2491	37,8149	36,9179	37,4893	40,1690	40,6840	0,1283	0,1384	0,1237	0,1270	0,1663	0,1852
46	36	M	38,0371	37,6667	37,2505	36,9006	40,6614	40,2120	0,1220	0,1313	0,1652	0,1656	0,1922	0,2025
47	25	M	36,9456	37,2900	36,8593	37,2053	40,1695	40,4487	0,1339	0,1409	0,1588	0,1590	0,2510	0,2584
48	25	M	38,1769	38,8869	37,6383	38,3597	40,8162	41,4851	0,1216	0,1376	0,1332	0,1384	0,1717	0,1973
49	40	F	37,7155	38,1637	37,3085	37,7657	40,4616	40,8580	0,1324	0,1430	0,1423	0,1450	0,2473	0,2582
50	27	M	37,6557	37,8985	37,1671	37,4211	40,1303	40,3204	0,1398	0,1488	0,1172	0,1208	0,1492	0,1670
51	25	F	37,0837	37,7874	36,8115	37,5186	40,1346	40,7897	0,1387	0,1476	0,1324	0,1352	0,2485	0,2592
52	23	M	37,1956	37,6086	36,9057	37,3243	39,8725	40,2351	0,1260	0,1354	0,1166	0,1197	0,1556	0,1717
53	27	M	37,4752	38,0092	37,0993	37,6405	40,0617	40,5511	0,1289	0,1392	0,1165	0,1203	0,1769	0,1930
54	24	M	37,2982	38,1291	36,9812	37,8164	40,1068	40,8989	0,1288	0,1400	0,1096	0,1147	0,1502	0,1741
55	23	M	37,6675	37,7784	37,1791	37,3019	40,3839	40,4317	0,1537	0,1606	0,1293	0,1315	0,1882	0,2012
56	44	F	37,7725	37,7007	37,5009	37,4385	40,6459	40,5006	0,1351	0,1441	0,1192	0,1230	0,1845	0,1987
57	27	M	37,3877	37,7098	37,0399	37,3696	40,1128	40,3797	0,1193	0,1299	0,1179	0,1212	0,3447	0,3466
58	24	M	37,5773	37,8752	37,1573	37,4648	40,2644	40,5067	0,1395	0,1486	0,1221	0,1256	0,1636	0,1810
59	23	F	38,0421	38,5187	37,5062	37,9949	40,6526	41,0808	0,1373	0,1491	0,1232	0,1279	0,1289	0,1583
60	27	M	37,3130	38,1516	36,8097	37,6560	40,2430	41,0402	0,1555	0,1640	0,1543	0,1562	0,2301	0,2444
61	31	F	38,2386	38,7853	37,7028	38,2617	40,7198	41,2231	0,1578	0,1683	0,1313	0,1359	0,2495	0,2627
62	25	F	39,0328	39,7692	38,4928	39,2429	41,0452	41,7543	0,1634	0,1791	0,1841	0,1894	0,2211	0,2419
63	31	F	37,1976	37,7528	37,0297	37,5875	39,7929	40,3047	0,1416	0,1500	0,1713	0,1723	0,2601	0,2669
64	22	M	37,4919	37,9568	37,1177	37,5903	40,3895	40,8001	0,1287	0,1389	0,1444	0,1465	0,2013	0,2163
65	45	F	37,6424	38,6068	37,3591	38,3275	40,1289	41,0661	0,1224	0,1371	0,1663	0,1696	0,2111	0,2281
66	23	F	37,4468	38,1745	37,0240	37,7589	40,5521	41,2301	0,1316	0,1425	0,1193	0,1233	0,1505	0,1773
67	23	F	37,4413	38,1807	37,1085	37,8534	40,6189	41,3072	0,1269	0,1384	0,1325	0,1361	0,1716	0,1955

Dane			Temperatura Przed fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
68	24	F	37,1634	37,9185	36,7978	37,5580	39,9892	40,7027	0,1190	0,1305	0,1403	0,1427	0,1920	0,2080
69	28	M	37,7492	38,4221	37,2117	37,8948	40,6569	41,2820	0,1258	0,1388	0,1581	0,1606	0,2116	0,2297
70	30	F	37,2562	37,7013	36,8689	37,3213	39,9430	40,3386	0,1244	0,1343	0,1186	0,1217	0,1591	0,1757
71	36	F	38,3953	39,1847	37,9225	38,7224	41,1892	41,9362	0,1338	0,1504	0,1452	0,1515	0,1573	0,1908
72	34	M	37,1345	38,3547	36,7694	37,9923	39,6846	40,8864	0,1272	0,1399	0,1167	0,1219	0,1980	0,2154
73	25	F	37,6436	38,1067	37,4067	37,8754	40,3861	40,7981	0,1309	0,1415	0,1205	0,1248	0,2170	0,2304
74	24	F	37,5499	37,5538	37,2664	37,2787	40,8169	40,7411	0,1231	0,1319	0,2084	0,2073	0,2280	0,2387
75	44	F	36,9659	37,6717	36,5337	37,2454	39,7585	40,4222	0,1311	0,1405	0,1099	0,1136	0,1950	0,2085
76	23	M	37,1504	37,7837	36,6706	37,3116	39,9034	40,4926	0,1376	0,1471	0,1149	0,1190	0,1762	0,1927
77	24	M	37,7386	38,2074	37,3527	37,8300	40,1276	40,5536	0,1426	0,1525	0,1159	0,1206	0,1850	0,2002
78	23	M	37,6341	37,6821	37,3677	37,4240	40,4806	40,4602	0,1208	0,1309	0,1330	0,1355	0,1761	0,1908
79	27	F	37,8688	38,2047	37,2840	37,6329	40,4611	40,7443	0,1227	0,1348	0,1131	0,1175	0,1825	0,1993
80	31	M	37,2255	37,7312	37,0867	37,5950	40,0553	40,5103	0,1177	0,1288	0,1213	0,1250	0,1558	0,1746
81	24	F	37,1758	37,6196	36,8626	37,3123	40,0387	40,4290	0,1318	0,1407	0,1117	0,1153	0,1702	0,1861
82	24	M	36,5432	37,0594	36,4207	36,9371	39,4529	39,9184	0,1315	0,1391	0,1241	0,1262	0,1304	0,1476
83	30	F	38,1980	38,1475	37,7687	37,7314	40,6331	40,5191	0,1610	0,1687	0,1482	0,1508	0,2005	0,2130
84	43	M	37,2095	38,2016	36,7587	37,7564	39,6872	40,6543	0,1685	0,1762	0,1317	0,1350	0,2238	0,2363
85	25	M	38,2821	38,9379	37,7191	38,3873	40,7376	41,3545	0,1346	0,1491	0,1146	0,1216	0,1803	0,2033
86	25	F	37,4115	38,2016	37,1194	37,9139	41,0313	41,7618	0,1372	0,1476	0,1396	0,1428	0,1471	0,1803
87	24	M	37,2538	38,2488	36,9806	37,9783	40,1550	41,1151	0,1511	0,1609	0,1205	0,1258	0,2460	0,2598
88	24	M	36,8863	37,7297	36,5589	37,4056	40,0991	40,8956	0,1292	0,1388	0,1366	0,1389	0,2238	0,2377
89	36	M	37,6075	37,6490	37,1694	37,2221	40,1857	40,1649	0,1311	0,1400	0,1201	0,1230	0,1517	0,1672
90	27	F	37,3754	37,4498	37,0379	37,1208	40,4343	40,4368	0,1299	0,1384	0,1259	0,1283	0,1745	0,1891
91	39	M	37,2257	38,0367	36,8545	37,6706	40,0333	40,8050	0,1243	0,1358	0,1178	0,1220	0,1359	0,1616
92	25	F	37,4551	38,2707	37,0044	37,8272	40,3145	41,0892	0,1246	0,1368	0,1206	0,1247	0,1789	0,1998
93	23	F	37,7222	37,4737	37,4301	37,1919	41,4029	41,0555	0,1257	0,1342	0,1288	0,1308	0,3170	0,3227
94	23	F	37,5541	38,3617	37,3655	38,1760	40,4666	41,2315	0,1396	0,1507	0,1441	0,1480	0,2625	0,2751
95	24	F	38,2537	38,8526	37,6723	38,2841	40,8102	41,3658	0,1594	0,1703	0,1242	0,1295	0,2371	0,2526
96	28	M	37,2777	37,3978	37,0204	37,1472	39,8196	39,8819	0,1177	0,1272	0,1395	0,1410	0,1852	0,1948
97	28	M	37,2979	37,7476	37,0077	37,4631	40,0293	40,4284	0,1361	0,1448	0,1238	0,1267	0,2386	0,2475
98	24	M	37,2500	37,6291	36,8434	37,2304	39,9342	40,2615	0,1149	0,1255	0,1389	0,1406	0,1711	0,1854
99	23	M	38,1153	38,4855	37,5209	37,9049	40,5292	40,8517	0,1805	0,1883	0,1466	0,1501	0,2113	0,2260
100	29	F	37,3557	37,9430	36,7259	37,3242	39,8956	40,4416	0,1154	0,1274	0,1513	0,1528	0,2162	0,2274
101	28	M	38,4592	39,3806	37,7953	38,7300	40,8431	41,7363	0,1343	0,1516	0,1310	0,1378	0,1728	0,2009
102	24	M	37,0078	37,2983	36,8608	37,1544	39,8096	40,0430	0,1317	0,1398	0,1562	0,1571	0,1831	0,1943
103	23	F	37,0673	37,7819	37,0176	37,7318	40,5892	41,2447	0,1401	0,1486	0,1366	0,1394	0,2565	0,2694
104	24	M	37,3479	38,3083	37,1125	38,0753	40,0892	41,0170	0,1408	0,1518	0,1161	0,1220	0,1855	0,2054

Dane			Temperatura Przed fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
105	24	M	37,4410	37,9297	37,0623	37,5586	40,4370	40,8701	0,1388	0,1478	0,1399	0,1422	0,3375	0,3420
106	25	M	37,0598	37,3458	36,8148	37,1059	39,8631	40,0916	0,1340	0,1421	0,1266	0,1290	0,2171	0,2256
107	45	F	37,7226	37,8951	37,4539	37,6343	40,6130	40,7202	0,1286	0,1387	0,1606	0,1623	0,1978	0,2123
108	23	M	37,1290	37,9550	36,8449	37,6741	40,3442	41,1221	0,1208	0,1324	0,1218	0,1258	0,1632	0,1870
109	23	F	37,2019	38,1612	37,0990	38,0579	40,3323	41,2500	0,1414	0,1515	0,1444	0,1480	0,1570	0,1834
110	27	F	37,4025	37,5665	36,9492	37,1235	40,0619	40,1666	0,1299	0,1391	0,1305	0,1330	0,1937	0,2049
111	24	F	37,4289	38,4418	37,1882	38,2036	40,4439	41,4194	0,1474	0,1581	0,1538	0,1573	0,2684	0,2820
112	28	M	37,7606	38,4594	37,4322	38,1375	40,6168	41,2700	0,1325	0,1446	0,1281	0,1328	0,1567	0,1827
113	31	F	37,8841	38,5089	37,4082	38,0429	40,6298	41,2087	0,1229	0,1368	0,1539	0,1570	0,2346	0,2495
114	23	M	37,3223	38,3394	36,8741	37,8970	39,7056	40,7007	0,1400	0,1509	0,1285	0,1325	0,1807	0,1985
115	27	M	37,6946	37,7326	37,4788	37,5243	40,5331	40,5024	0,1554	0,1632	0,1264	0,1306	0,1769	0,1927
116	42	M	37,7320	38,0172	37,4898	37,7820	40,6554	40,8787	0,1355	0,1450	0,1150	0,1192	0,1451	0,1683
117	22	M	37,6161	38,6058	37,2206	38,2162	40,2994	41,2582	0,1390	0,1515	0,1519	0,1556	0,2002	0,2200
118	42	F	38,0958	38,7166	37,6002	38,2317	40,5851	41,1653	0,1355	0,1485	0,1252	0,1305	0,1581	0,1828
119	26	M	37,3921	38,3080	36,8807	37,8042	40,2239	41,1032	0,1581	0,1671	0,1610	0,1631	0,2131	0,2300
120	28	F	37,6543	38,8067	37,4265	38,5811	40,4461	41,5708	0,1614	0,1725	0,1378	0,1438	0,1717	0,1990
121	24	F	37,6590	37,9917	37,1618	37,5055	40,3403	40,6187	0,1490	0,1575	0,1550	0,1568	0,2477	0,2571
122	31	F	37,2501	37,7712	36,6842	37,2153	39,8932	40,3685	0,1362	0,1452	0,1331	0,1353	0,1831	0,1972
123	41	F	38,0685	38,5983	37,3875	37,9317	40,6759	41,1591	0,1778	0,1865	0,1739	0,1761	0,2274	0,2429
124	31	F	37,4499	38,1408	37,2040	37,8991	40,3932	41,0368	0,1335	0,1442	0,1492	0,1520	0,2064	0,2232
125	23	F	37,3950	37,7786	37,0227	37,4141	40,3110	40,6372	0,1394	0,1480	0,1288	0,1315	0,1952	0,2096
126	29	F	37,3855	38,1595	37,0044	37,7844	40,1300	40,8645	0,1409	0,1508	0,1150	0,1195	0,1808	0,1994
127	24	F	36,8135	37,6920	36,5019	37,3830	40,6609	41,4789	0,1304	0,1398	0,2234	0,2223	0,3003	0,3112
128	22	M	37,7760	38,4916	37,1987	37,9252	40,4766	41,1509	0,1278	0,1409	0,1193	0,1241	0,1741	0,1963
129	35	F	37,8775	38,2404	37,5910	37,9617	40,6239	40,9315	0,1304	0,1415	0,1245	0,1288	0,2005	0,2165
130	24	M	37,2404	37,5693	37,0036	37,3377	40,2791	40,5460	0,1393	0,1475	0,1542	0,1556	0,2083	0,2206
131	31	M	37,0015	37,7999	36,8263	37,6258	39,8435	40,6019	0,1337	0,1428	0,1610	0,1623	0,1727	0,1901
132	24	F	37,2247	38,3310	36,7978	37,9088	40,1761	41,2503	0,1356	0,1470	0,1263	0,1303	0,2533	0,2671
133	24	M	37,0158	37,5024	36,8691	37,3579	40,0730	40,5033	0,1311	0,1398	0,1164	0,1198	0,1560	0,1745
134	24	F	38,1276	38,6578	37,3391	37,8858	40,1113	40,6096	0,1671	0,1766	0,1420	0,1453	0,1739	0,1912
135	31	F	37,0818	37,6268	36,8363	37,3852	39,7707	40,2701	0,1173	0,1280	0,1411	0,1432	0,1482	0,1661
136	24	F	36,7436	37,2821	36,4738	37,0156	39,8644	40,3477	0,1313	0,1395	0,1357	0,1375	0,1673	0,1831
137	28	M	37,7216	38,2428	37,3118	37,8416	40,3665	40,8407	0,1409	0,1511	0,1344	0,1380	0,1852	0,2028
138	24	F	38,0131	38,5101	37,9130	38,4143	40,7700	41,2159	0,1245	0,1377	0,1274	0,1331	0,1796	0,2010
139	28	M	37,2057	37,8606	36,8942	37,5539	40,1042	40,7122	0,1216	0,1326	0,1150	0,1189	0,1804	0,1977
140	25	F	37,9456	38,6105	37,2055	37,8848	40,5234	41,1475	0,1697	0,1747	0,1547	0,1525	0,3007	0,3069
141	28	M	37,7458	38,6371	37,2285	38,1286	40,0514	40,9169	0,1350	0,1481	0,1177	0,1234	0,1866	0,2053

Dane			Temperatura Przed fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
142	26	M	37,2552	38,0535	36,8512	37,6554	39,9711	40,7318	0,1297	0,1403	0,1379	0,1406	0,2083	0,2226
143	25	M	37,4236	38,3289	37,1928	38,1009	40,1175	40,9891	0,1331	0,1451	0,1262	0,1314	0,2175	0,2332
144	23	F	37,3805	38,0667	37,1669	37,8566	40,3410	40,9795	0,1265	0,1372	0,1229	0,1265	0,2604	0,2711
145	32	F	37,8089	37,9509	37,5605	37,7104	40,4740	40,5549	0,1244	0,1348	0,1235	0,1270	0,1703	0,1866
146	26	F	37,1790	38,1616	36,9246	37,9093	40,6226	41,5571	0,1474	0,1572	0,1931	0,1942	0,2449	0,2619

**Tabela B2. Dane z pomiarów temperatury po badaniu fMRI.** Tabela zawiera numer pacjenta, wiek oraz płeć. Przedstawiono w niej temperaturę wyznaczoną z pików wody tłumionej (WS) i nietłumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, Cre, Cho), a także odpowiadające im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.

Dane			Temperatura Po fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
1	28	M	36,9007	37,3273	36,6593	37,0898	39,5508	39,9289	0,1480	0,1547	0,1668	0,1672	0,2318	0,2383
2	23	M	36,7787	37,5710	36,6317	37,4240	39,9210	40,6665	0,1393	0,1474	0,1440	0,1459	0,2228	0,2351
3	24	M	36,8260	37,4671	36,5942	37,2375	39,9710	40,5596	0,1514	0,1585	0,1743	0,1750	0,3245	0,3287
4	28	M	37,1054	37,7698	36,7741	37,4434	39,6435	40,2701	0,1455	0,1536	0,1877	0,1879	0,1801	0,1941
5	24	F	38,0214	37,4545	37,8229	37,2672	40,7219	40,0672	0,1667	0,1718	0,1539	0,1551	0,2252	0,2317
6	24	M	36,8557	38,1064	36,4272	37,6808	39,5731	40,8032	0,1410	0,1509	0,1672	0,1686	0,2678	0,2777
7	26	M	37,2905	37,9783	36,7597	37,4563	40,4147	41,0512	0,1653	0,1723	0,1537	0,1552	0,3711	0,3748
8	24	F	38,3518	38,7396	37,5416	37,9475	40,2007	40,5541	0,1873	0,1944	0,1447	0,1469	0,1775	0,1928
9	24	F	37,6692	38,1682	37,3213	37,8279	40,3162	40,7676	0,1207	0,1327	0,1315	0,1349	0,1772	0,1950
10	45	F	37,5688	37,6757	37,1141	37,2321	40,2378	40,2828	0,1430	0,1508	0,1246	0,1271	0,1803	0,1932
11	25	M	36,5547	37,4843	36,3383	37,2679	39,4006	40,2959	0,1432	0,1507	0,1407	0,1424	0,2202	0,2305
12	25	M	36,3516	37,2436	36,0410	36,9342	39,3161	40,1701	0,1278	0,1362	0,1434	0,1446	0,2640	0,2702
13	28	M	37,1179	37,5319	36,8801	37,2985	39,9520	40,3122	0,1472	0,1544	0,1177	0,1207	0,2062	0,2172
14	24	M	38,2070	38,5897	37,7335	38,1281	40,1180	40,4651	0,1311	0,1436	0,1555	0,1583	0,2240	0,2343
15	34	F	37,5650	38,4414	36,9949	37,8806	40,1610	41,0047	0,1344	0,1467	0,1307	0,1348	0,1946	0,2131
16	28	M	37,4031	38,2607	36,9265	37,7913	40,1911	41,0111	0,1339	0,1449	0,1182	0,1222	0,1758	0,1964
17	42	F	37,3292	37,7407	37,0197	37,4375	40,6019	40,9486	0,1466	0,1544	0,1408	0,1428	0,2117	0,2266
18	21	M	37,4992	38,0816	37,1939	37,7822	40,0991	40,6383	0,1307	0,1414	0,1540	0,1563	0,1986	0,2131
19	26	F	37,6414	38,1886	37,1588	37,7156	40,4658	40,9629	0,1323	0,1430	0,1425	0,1450	0,2308	0,2440
20	24	M	38,0891	39,3621	37,4410	38,7243	40,3539	41,6149	0,1538	0,1693	0,1458	0,1523	0,2135	0,2353
21	22	F	37,0609	37,7565	36,7400	37,4400	39,9456	40,5964	0,1376	0,1468	0,1206	0,1243	0,2145	0,2274
22	36	F	37,1914	38,3883	36,7284	37,9301	39,8499	41,0249	0,1266	0,1396	0,1297	0,1339	0,1591	0,1834
23	29	M	38,1878	38,4812	37,4093	37,7203	40,9350	41,1698	0,1500	0,1596	0,1468	0,1489	0,1986	0,2163
24	32	M	38,2986	38,8755	37,4533	38,0479	40,6687	41,2058	0,1641	0,1750	0,1321	0,1367	0,2059	0,2241

Dane			Temperatura Po fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
25	24	M	37,1788	37,7685	36,9540	37,5472	40,0384	40,5797	0,1428	0,1511	0,1204	0,1238	0,1545	0,1741
26	24	M	36,7448	37,6711	36,5096	37,4367	39,5482	40,4406	0,1304	0,1400	0,1276	0,1307	0,1530	0,1726
27	41	M	37,3045	37,4792	36,8572	37,0417	39,6792	39,8019	0,1275	0,1362	0,1432	0,1445	0,1688	0,1796
28	30	M	36,3520	37,1824	36,0711	36,9024	39,5903	40,3740	0,1289	0,1373	0,1270	0,1291	0,1960	0,2092
29	23	M	36,4255	37,9638	36,3044	37,8376	39,4731	40,9943	0,1226	0,1341	0,1568	0,1591	0,1742	0,1964
30	23	F	36,7421	38,0932	36,6070	37,9551	39,8017	41,1280	0,1315	0,1421	0,1273	0,1312	0,2542	0,2673
31	23	F	38,0595	37,8985	37,4251	37,2810	40,4232	40,1967	0,1211	0,1310	0,1338	0,1355	0,1354	0,1525
32	24	M	37,0337	38,0057	36,8458	37,8183	40,0260	40,9606	0,1416	0,1510	0,1147	0,1193	0,1413	0,1677
33	31	F	37,0571	37,6383	36,6320	37,2200	39,5351	40,0770	0,1696	0,1753	0,1394	0,1411	0,2058	0,2156
34	25	M	36,9397	37,5537	36,6843	37,3016	39,9174	40,4818	0,1275	0,1366	0,1162	0,1193	0,1369	0,1585
35	27	M	36,5869	37,3803	36,3039	37,0992	39,3425	40,0988	0,1174	0,1272	0,1125	0,1154	0,1395	0,1575
36	23	F	36,6889	36,3626	36,5187	36,1980	39,7424	39,3316	0,1174	0,1263	0,1242	0,1266	0,1335	0,1440
37	23	F	37,6855	38,2439	37,2877	37,8544	40,1020	40,6204	0,1300	0,1414	0,1110	0,1161	0,1530	0,1733
38	23	M	36,5618	36,8245	36,4773	36,7408	39,3297	39,5360	0,1353	0,1427	0,1282	0,1304	0,1961	0,2032
39	43	M	36,6609	36,9321	36,1342	36,4143	39,4400	39,6547	0,1457	0,1522	0,1280	0,1300	0,1709	0,1808
40	37	M	36,3934	37,3665	36,0598	37,0341	39,1905	40,1323	0,1341	0,1422	0,1243	0,1264	0,1485	0,1659
41	28	F	37,0280	37,5357	36,4057	36,9239	39,6276	40,0906	0,1127	0,1234	0,1414	0,1427	0,1706	0,1839
42	37	F	37,0731	37,4928	36,7583	37,1836	39,9354	40,3009	0,1355	0,1438	0,1202	0,1231	0,1412	0,1602
43	26	F	37,5407	37,6965	36,9035	37,0732	39,8041	39,9093	0,1291	0,1384	0,1158	0,1188	0,1708	0,1823
44	22	M	36,8501	37,4725	36,4327	37,0608	39,6375	40,2152	0,1482	0,1551	0,1318	0,1336	0,1653	0,1803
45	28	F	36,6558	37,5812	36,2649	37,1936	39,3078	40,2030	0,1234	0,1329	0,1148	0,1175	0,1562	0,1728
46	36	M	37,4036	37,0867	36,8522	36,5495	39,8132	39,4257	0,1219	0,1306	0,1531	0,1542	0,2142	0,2187
47	25	M	36,9892	38,1816	36,4520	37,6499	39,8221	40,9889	0,1290	0,1397	0,1502	0,1514	0,2228	0,2375
48	25	M	37,1253	39,0540	37,1003	39,0224	39,9370	41,8665	0,1272	0,1444	0,1235	0,1332	0,2089	0,2342
49	40	F	37,0194	37,6629	36,7604	37,4073	40,1824	40,7727	0,1286	0,1378	0,1308	0,1331	0,1960	0,2116
50	27	M	37,0046	37,4720	36,6029	37,0770	39,8396	40,2553	0,1245	0,1338	0,1249	0,1273	0,1709	0,1853
51	25	F	36,9239	37,6149	36,8181	37,5093	40,1730	40,8107	0,1267	0,1363	0,1319	0,1347	0,1682	0,1881
52	23	M	36,5799	37,1945	36,3831	36,9989	39,4822	40,0498	0,1244	0,1330	0,1137	0,1165	0,1509	0,1666
53	27	M	37,1130	37,4922	36,8415	37,2259	39,8738	40,1997	0,1257	0,1347	0,1325	0,1345	0,1687	0,1828
54	24	M	37,0725	37,8117	36,8223	37,5645	40,0616	40,7551	0,1352	0,1446	0,1171	0,1210	0,1852	0,2024
55	23	M	37,3919	38,7485	36,9051	38,2667	40,1591	41,4965	0,1364	0,1501	0,1169	0,1231	0,1902	0,2141
56	44	F	37,1209	37,3901	36,8673	37,1420	40,0251	40,2336	0,1265	0,1357	0,1314	0,1339	0,1451	0,1628
57	27	M	37,0044	37,3702	36,8050	37,1744	39,9923	40,2991	0,1151	0,1256	0,1236	0,1266	0,1396	0,1590
58	24	M	37,4198	37,6340	36,9602	37,1845	40,0252	40,1830	0,1344	0,1435	0,1300	0,1328	0,1863	0,1985
59	23	F	37,6360	38,2755	37,3096	37,9554	40,3159	40,9121	0,1386	0,1491	0,1192	0,1238	0,1334	0,1601
60	27	M	37,0223	37,8119	37,0047	37,7928	40,1644	40,9066	0,1391	0,1480	0,1554	0,1576	0,1594	0,1816
61	31	F	37,6313	38,2174	37,0359	37,6333	40,3006	40,8417	0,1609	0,1692	0,1372	0,1401	0,2144	0,2287

Dane			Temperatura Po fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
62	25	F	38,5883	39,1052	37,7220	38,2582	40,4971	40,9823	0,1944	0,2032	0,1438	0,1479	0,2462	0,2582
63	31	F	37,0964	38,1077	36,6756	37,6916	40,3215	41,2912	0,1941	0,1996	0,1707	0,1720	0,1982	0,2186
64	22	M	37,3171	37,3886	37,0012	37,0807	40,2836	40,2855	0,1233	0,1325	0,1368	0,1386	0,1747	0,1882
65	45	F	37,0343	38,2957	36,5869	37,8521	39,5210	40,7673	0,1183	0,1318	0,1460	0,1489	0,1816	0,2001
66	23	F	37,4258	38,1737	37,1642	37,9162	40,5058	41,2053	0,1299	0,1409	0,1319	0,1354	0,1405	0,1690
67	23	F	37,4485	38,2082	37,1772	37,9412	40,5051	41,2173	0,1298	0,1410	0,1324	0,1360	0,1437	0,1717
68	24	F	36,7159	37,6871	36,5130	37,4842	39,8293	40,7611	0,1345	0,1432	0,1301	0,1326	0,1751	0,1939
69	28	M	36,5877	37,5194	36,1451	37,0808	39,8552	40,7426	0,1505	0,1578	0,1829	0,1830	0,2292	0,2419
70	30	F	37,0817	37,9499	36,8427	37,7130	40,1565	40,9815	0,1184	0,1302	0,1184	0,1225	0,1925	0,2108
71	36	F	38,0666	39,2423	37,3273	38,5153	40,8036	41,9528	0,1381	0,1546	0,1165	0,1240	0,1425	0,1802
72	34	M	37,1902	37,5641	36,6646	37,0485	39,7357	40,0610	0,1236	0,1329	0,1191	0,1215	0,2130	0,2216
73	25	F	37,6548	38,3035	37,2955	37,9513	40,3260	40,9318	0,1344	0,1456	0,1304	0,1344	0,1481	0,1723
74	24	F	36,9679	37,8270	36,6925	37,5541	40,1970	41,0092	0,1379	0,1465	0,1628	0,1638	0,2169	0,2321
75	44	F	37,1014	37,7076	36,8413	37,4514	39,5190	40,0881	0,1339	0,1429	0,1156	0,1191	0,1470	0,1635
76	23	M	37,2674	38,0664	36,9408	37,7444	39,9011	40,6645	0,1283	0,1392	0,1201	0,1241	0,1580	0,1783
77	24	M	37,7169	38,0305	37,1035	37,4304	40,2838	40,5449	0,1480	0,1564	0,1092	0,1130	0,1738	0,1899
78	23	M	36,8954	37,4228	36,7676	37,2962	39,6039	40,0850	0,1295	0,1380	0,1367	0,1387	0,2281	0,2359
79	27	F	37,4222	38,7003	36,8525	38,1374	39,9387	41,2005	0,1253	0,1402	0,1136	0,1197	0,1759	0,1992
80	31	M	37,0023	37,5413	36,5704	37,1162	39,5207	40,0180	0,1333	0,1423	0,1183	0,1215	0,1499	0,1657
81	24	F	37,0134	37,7239	36,7383	37,4521	39,9953	40,6593	0,1239	0,1339	0,1202	0,1233	0,1598	0,1794
82	24	M	36,0997	36,4554	35,8284	36,1864	39,0277	39,3276	0,1208	0,1289	0,1220	0,1240	0,1554	0,1646
83	30	F	37,9112	38,1882	37,5382	37,8250	40,7173	40,9345	0,1297	0,1405	0,1348	0,1380	0,1653	0,1858
84	43	M	37,0584	37,3118	36,4613	36,7260	39,3910	39,5967	0,1241	0,1330	0,1286	0,1306	0,1416	0,1544
85	25	M	37,5848	38,3450	37,0336	37,8034	39,9719	40,7001	0,1307	0,1431	0,1386	0,1422	0,2050	0,2198
86	25	F	37,0298	37,9090	36,6050	37,4894	40,3642	41,1946	0,1308	0,1408	0,1337	0,1361	0,1908	0,2110
87	24	M	37,0817	37,7902	36,8034	37,5155	39,8578	40,5245	0,1538	0,1614	0,1206	0,1242	0,2121	0,2245
88	24	M	36,8893	37,6136	36,5338	37,2624	39,7587	40,4399	0,1440	0,1517	0,1190	0,1218	0,2151	0,2265
89	36	M	37,2626	37,6001	36,7576	37,1050	39,9921	40,2752	0,1240	0,1336	0,1186	0,1213	0,1866	0,1992
90	27	F	36,9686	38,0112	36,6767	37,7212	39,8591	40,8694	0,1236	0,1351	0,1331	0,1364	0,1638	0,1856
91	39	M	37,1227	37,3811	36,7442	37,0103	40,2685	40,4602	0,1271	0,1359	0,1323	0,1342	0,1508	0,1692
92	25	F	37,2360	38,1524	36,9569	37,8763	39,9441	40,8272	0,1261	0,1376	0,1175	0,1219	0,1779	0,1968
93	23	F	37,9773	37,6169	37,6867	37,3379	40,6355	40,1957	0,1300	0,1384	0,1641	0,1647	0,3402	0,3407
94	23	F	37,4348	38,1621	37,2425	37,9729	40,2950	40,9783	0,1248	0,1366	0,1205	0,1252	0,2335	0,2469
95	24	F	38,1039	38,8144	37,6651	38,3850	40,5320	41,2065	0,1621	0,1727	0,1269	0,1326	0,1677	0,1913
96	28	M	36,8512	37,0234	36,5800	36,7576	39,4568	39,5725	0,1284	0,1367	0,1372	0,1390	0,1891	0,1969
97	28	M	37,3476	37,9535	37,0347	37,6461	39,8043	40,3716	0,1159	0,1280	0,1216	0,1255	0,2055	0,2175
98	24	M	37,6756	37,3553	36,9705	36,6680	40,1314	39,7387	0,1204	0,1293	0,1247	0,1267	0,2195	0,2249

Dane			Temperatura Po fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
99	23	M	37,1317	37,7729	36,7868	37,4332	40,0481	40,6415	0,1413	0,1498	0,1283	0,1310	0,1874	0,2032
100	29	F	36,8496	37,5839	36,4358	37,1753	39,6552	40,3483	0,1287	0,1383	0,1526	0,1541	0,1746	0,1901
101	28	M	37,8972	38,9040	37,2381	38,2561	40,3819	41,3625	0,1457	0,1590	0,1419	0,1464	0,2087	0,2284
102	24	M	36,9144	37,7065	36,6777	37,4718	39,7908	40,5421	0,1294	0,1387	0,1416	0,1435	0,2183	0,2302
103	23	F	36,8581	37,8146	36,5985	37,5564	39,9389	40,8558	0,1265	0,1367	0,1614	0,1627	0,1958	0,2127
104	24	M	37,3014	38,0348	36,8999	37,6397	39,9713	40,6658	0,1160	0,1285	0,1157	0,1199	0,1577	0,1780
105	24	M	37,4553	38,2352	36,7249	37,5171	39,9826	40,7282	0,1406	0,1509	0,1611	0,1625	0,2147	0,2283
106	25	M	37,1372	37,8515	36,8887	37,6062	39,7308	40,4076	0,1442	0,1529	0,1294	0,1326	0,1409	0,1616
107	45	F	37,7075	38,4241	37,2002	37,9262	40,2488	40,9279	0,1359	0,1479	0,1354	0,1395	0,1877	0,2063
108	23	M	36,6351	37,0482	36,4522	36,8674	39,8407	40,1923	0,1284	0,1366	0,1256	0,1279	0,1789	0,1920
109	23	F	36,8204	37,1990	36,7496	37,1290	40,0323	40,3475	0,1385	0,1460	0,1576	0,1586	0,1707	0,1858
110	27	F	37,3483	37,8959	36,9569	37,5117	39,9565	40,4599	0,1382	0,1473	0,1225	0,1257	0,1587	0,1766
111	24	F	37,4492	38,1333	37,0214	37,7130	40,4720	41,1068	0,1582	0,1659	0,1279	0,1307	0,3344	0,3404
112	28	M	37,3335	37,9441	36,9780	37,5947	40,2176	40,7796	0,1331	0,1430	0,1181	0,1218	0,1316	0,1572
113	31	F	37,3748	38,2665	37,0072	37,9040	40,2305	41,0844	0,1518	0,1612	0,1437	0,1468	0,1792	0,2002
114	23	M	36,9244	37,5851	36,6280	37,2923	39,5769	40,1972	0,1293	0,1387	0,1204	0,1235	0,1907	0,2030
115	27	M	36,9095	36,7669	36,7423	36,6049	39,8330	39,6149	0,1371	0,1444	0,1217	0,1243	0,1565	0,1671
116	42	M	37,1707	38,1506	36,6671	37,6535	40,1927	41,1344	0,1296	0,1412	0,1287	0,1323	0,1446	0,1725
117	22	M	37,4195	38,0134	36,9817	37,5836	40,1704	40,7182	0,1315	0,1418	0,1265	0,1298	0,1650	0,1844
118	42	F	38,1012	38,5574	37,4924	37,9622	40,5827	40,9925	0,1373	0,1491	0,1250	0,1294	0,1577	0,1804
119	26	M	37,3752	37,9304	36,7488	37,3153	39,7663	40,2825	0,1450	0,1536	0,1379	0,1400	0,1832	0,1966
120	28	F	37,9540	38,6678	37,5555	38,2776	40,5200	41,1951	0,1445	0,1562	0,1316	0,1366	0,1552	0,1808
121	24	F	37,5054	38,4223	37,1361	38,0583	40,1725	41,0566	0,1636	0,1727	0,1295	0,1342	0,2039	0,2216
122	31	F	36,5570	37,1828	36,3184	36,9460	39,6655	40,2399	0,1290	0,1372	0,1378	0,1393	0,2266	0,2357
123	41	F	37,9742	38,7388	37,5563	38,3293	40,4271	41,1575	0,1492	0,1609	0,1625	0,1659	0,1705	0,1934
124	31	F	37,4045	37,9011	37,2890	37,7883	40,2208	40,6662	0,1267	0,1373	0,1337	0,1371	0,1721	0,1899
125	23	F	37,3147	37,6316	36,8131	37,1402	40,2532	40,5100	0,1349	0,1435	0,1246	0,1271	0,1360	0,1575
126	29	F	37,6695	37,8979	37,1203	37,3610	40,2432	40,4160	0,1447	0,1530	0,1211	0,1240	0,1436	0,1627
127	24	F	37,4210	38,0359	36,9913	37,6139	40,3995	40,9636	0,1247	0,1358	0,1317	0,1346	0,2178	0,2325
128	22	M	37,5350	38,6757	37,1610	38,3062	40,1820	41,2983	0,1411	0,1539	0,1360	0,1411	0,1517	0,1801
129	35	F	37,6216	38,1250	37,1169	37,6304	40,1838	40,6418	0,1349	0,1455	0,1332	0,1365	0,1832	0,1995
130	24	M	36,8973	37,1520	36,8110	37,0675	40,0314	40,2200	0,1396	0,1465	0,1389	0,1403	0,2025	0,2128
131	31	M	36,5556	37,5374	36,3371	37,3186	39,9849	40,9205	0,1611	0,1671	0,1808	0,1809	0,2797	0,2889
132	24	F	37,0574	37,9430	36,6400	37,5307	39,9957	40,8420	0,1302	0,1403	0,1777	0,1783	0,2373	0,2496
133	24	M	36,4995	37,2590	36,0871	36,8506	39,7048	40,4155	0,1456	0,1525	0,1298	0,1317	0,1783	0,1937
134	24	F	37,6363	38,7297	37,2438	38,3426	40,1388	41,2093	0,1344	0,1482	0,1376	0,1428	0,1565	0,1829
135	31	F	36,8925	37,3182	36,5560	36,9871	39,5240	39,9016	0,1187	0,1282	0,1258	0,1280	0,1923	0,2020

Dane			Temperatura Po fMRI (°C)											
Pacjent	WIEK	Płeć	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO
136	24	F	36,5101	37,2660	36,3046	37,0610	39,7012	40,4085	0,1293	0,1377	0,1333	0,1353	0,1463	0,1661
137	28	M	37,6724	37,7931	37,0071	37,1428	39,8611	39,9314	0,1286	0,1382	0,1300	0,1324	0,1778	0,1888
138	24	F	38,1430	38,8603	37,8267	38,5513	40,7998	41,4759	0,1307	0,1452	0,1520	0,1567	0,1852	0,2085
139	28	M	36,6935	37,3389	36,4769	37,1240	39,7773	40,3723	0,1269	0,1356	0,1248	0,1272	0,1709	0,1866
140	25	F	37,6965	38,6248	37,1350	38,0726	40,3464	41,2422	0,1426	0,1593	0,1268	0,1369	0,1570	0,1875
141	28	M	37,5006	37,9487	37,0111	37,4691	39,9177	40,3222	0,1265	0,1373	0,1289	0,1320	0,1801	0,1942
142	26	M	36,6386	37,3840	36,0707	36,8232	39,4100	40,1160	0,1301	0,1385	0,1870	0,1864	0,1992	0,2100
143	25	M	37,1261	37,7235	36,7610	37,3642	39,5326	40,0928	0,1503	0,1579	0,1355	0,1379	0,1685	0,1824
144	23	F	36,8046	37,4409	36,2910	36,9346	39,4973	40,0918	0,1224	0,1319	0,1295	0,1314	0,1606	0,1754
145	32	F	37,8092	38,5068	37,4102	38,1157	40,3349	40,9944	0,1185	0,1327	0,1245	0,1294	0,1317	0,1598
146	26	F	37,4841	38,4769	37,0395	38,0387	40,0091	40,9753	0,1302	0,1431	0,1237	0,1286	0,1726	0,1940

## Załącznik C. Dane do rozdziału 5.3.

**Tabela C. Dane z pomiarów temperatury zmiany nowotworowej i normy w mózgu.** Tabela zawiera numer pacjenta. Przedstawiono w niej temperaturę wyznaczoną z pików wody tłumionej (WS) i nietlumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, Cre, Cho), a także odpowiadające im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.

Temperatura Zmiana Nowotworowa (°C)								
Pacjent	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	T AWC WS	T AWC WU
1	38,0448	37,0175	37,7232	36,7115	41,1046	39,9645	40,0842	38,9824
2	36,8401	37,8950	36,7522	37,8051	40,1982	41,2105	37,5326	38,5777
3	39,6858	40,6882	37,8638	38,9031	40,9480	41,9488	39,8745	40,8869
4	37,8820	38,0551	37,8751	38,0520	40,5561	40,6687	39,4767	39,6149
5	36,2999	37,8213	35,8229	37,3451	38,6260	40,1470	36,4992	38,0207
6	38,4147	38,9937	37,6002	38,1967	39,2596	39,8346	38,6685	39,2493
Niepewność Temperatura Zmiana Nowotworowa (°C)								
Pacjent	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO	uT AWC WS	uT AWC WU
1	0,2385	0,2388	0,1507	0,1511	0,1534	0,1641	0,1317	0,1364
2	0,4175	0,4133	0,3742	0,3699	0,3249	0,3329	0,2886	0,2860
3	0,3791	0,3835	0,1879	0,1924	0,2105	0,2353	0,1678	0,1785
4	0,2199	0,2230	0,1467	0,1493	0,1406	0,1621	0,1316	0,1392
5	0,2170	0,2279	0,2329	0,2385	0,3039	0,3138	0,1644	0,1709
6	0,4259	0,4213	0,3047	0,3002	0,2401	0,2429	0,1917	0,1913
Temperatura Norma (°C)								
Pacjent	T WS-NAA	T WU-NAA	T WS-CRE	T WU-CRE	T WS-CHO	T WU-CHO	T AWC WS	T AWC WU
1	36,9370	35,8287	36,2970	35,2070	39,8991	38,6800	37,1909	36,0718
2	37,5194	36,7707	37,1939	36,4580	40,2215	39,3795	37,7047	36,9500
3	35,8466	36,2643	35,7066	36,1233	39,1871	39,5421	37,0063	37,4014
4	36,8149	37,1179	36,6247	36,9310	39,5062	39,7555	37,1565	37,4524
5	37,8575	37,1699	37,1457	36,4783	40,0223	39,2555	38,1951	37,4939
6	39,5200	35,5404	37,5968	33,6794	42,0635	37,8742	39,4996	35,5075
Niepewność Temperatura Norma (°C)								
Pacjent	uT WS-NAA	uT WU-NAA	uT WS-CRE	uT WU-CRE	uT WS-CHO	uT WU-CHO	uT AWC WS	uT AWC WU
1	0,2286	0,2290	0,2637	0,2612	0,3253	0,3198	0,1820	0,1807
2	0,1490	0,1547	0,1261	0,1281	0,2685	0,2689	0,1123	0,1150
3	0,1790	0,1818	0,2065	0,2046	0,2245	0,2286	0,1615	0,1613
4	0,1364	0,1441	0,1345	0,1365	0,2047	0,2124	0,1013	0,1040
5	0,1473	0,1534	0,1702	0,1706	0,1913	0,1959	0,1099	0,1122
6	0,4933	0,4811	0,4061	0,3994	0,4698	0,4528	0,3979	0,3868

# Wykaz użytych skrótów

**$^1\text{H}$**  – proton (wodór), najczęściej badany izotop w spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS) oraz obrazowaniu MRI

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

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

**Cr , Cre** – kreatyna, marker metabolizmu energetycznego komórek

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**NEX** – *Number of EXcitations* – liczba uśrednień / powtórzeń w spektroskopii MRS

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

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

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

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

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

**SVS** – *Single Voxel Spectroscopy* – jednowokselowa spektroskopia MRS

**TAWC** – uśredniona temperatura mierzona wagowo przy zastosowaniu ważenia amplitudą

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

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

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

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

## Wykaz użytych symboli

- $^{\circ}\text{C}$  — stopnie celsjusza
- $E$  — energia potencjalna jądra w polu magnetycznym
- $\mu$  — jądrowy moment magnetyczny
- $B_0$  — zewnętrzne pole magnetyczne
- $B_1$  — wektor pola magnetycznego impulsu RF
- $S$  — spinowy moment pędu
- $I$  — spinowa liczba kwantowa
- $m_l$  — magnetyczna liczba kwantowa
- $h$  — stała Plancka
- $\hbar$  — zredukowana stała Plancka  $\hbar = \frac{h}{2\pi}$
- $\gamma$  — współczynnik żyromagnetyczny danego jądra
- $g_s$  — współczynnik charakterystyczny dla jądra atomowego
- $q$  — ładunek elektryczny cząstki
- $m$  — masa cząstki
- $\Delta E$  — różnica energii między poziomami energetycznymi
- $\nu_0$  — częstotliwość rezonansowa
- $\omega_0$  — częstotliwość Larmora
- $\sigma$  — współczynnik ekranowania chemicznego
- $N$  — liczba spinów/jąder w badanej próbce
- $P_{\text{górn}/\text{dół}}$  — prawdopodobieństwo znalezienia się spinu w stanie energetycznym “górnym” i “dolnym”
- $E_{\text{górn}/\text{dół}}$  — stany energetyczne powiązane ze stanami ‘górnymi’ i ‘dolnymi’ spinów
- $k_B$  — stała Boltzmana
- $M$  — wypadkowy moment magnetyczny / wektor namagnesowania próbki
- $M_0$  — namagnesowanie w równowadze termodynamicznej (wektor równowagi)
- $S(t)$  – sygnał FID w dziedzinie czasu
- $S(\nu')$  – sygnał w dziedzinie częstotliwości
- $\mathcal{F}\{\bullet\}$  – operator transformaty Fouriera
- $A_k$  – amplituda k-tej składowej sygnału

- $\alpha_k$  — stała zaniku k-tej składowej sygnału
- $\nu_k$  — częstotliwość rezonansowa k-tej składowej sygnału
- $\phi_k$  — faza k-tej składowej sygnału
- $R(\nu')$  — rzeczywista część widma
- $I(\nu')$  — urojona część widma
- $\delta$  — przesunięcie chemiczne pików w widmie
- $\delta_W$  — przesunięcie chemiczne pików wody w widmie
- $\delta_M, \delta_R$  — przesunięcie chemiczne pików metabolitu referencyjnego w widmie
- $\delta_{W-R}, \delta_{W-M}$  — różnica przesunięcia chemicznego pików wody i metabolitu referencyjnego
- $\chi$  — podatność magnetyczna tkanki
- $a$  — stała temperaturowa
- $T$  — temperatura
- $uT$  — niepewność obliczonej temperatury
- $T_{ref}$  — temperatura referencyjna ustalona w czasie kalibracji
- $uT_{ref}$  — niepewność temperatury referencyjnej
- $\alpha$  — nachylenie krzywej regresji
- $u\alpha$  — niepewność nachylenia krzywej regresji
- $\beta$  — punkt przecięcia linii regresji
- $u\delta_{W-M}$  — niepewność wyznaczenia położenia pików na osi częstotliwości
- $FO_{ref}$  — różnica pomiędzy częstotliwością położenia pików wody i wybranego pików metabolitu zarejestrowanego w temperaturze  $T_{ref}$
- $uFO_{ref}$  — niepewność wyznaczenia położenia pików na osi częstotliwości w temperaturze referencyjnej  $T_{ref}$
- $T_{Cho}, T_{Cre}, T_{NAA}$  — Temperatura wyznaczone przy pomocy wody oraz odpowiedniego metabolitu referencyjnego
- $A_{Cho}, A_{Cre}, A_{NAA}$  — to amplitudy pików NAA, Cre i Cho
- $uA_i$  — niepewność wyznaczenia amplitudy pików NAA, Cre i Cho
- $T_{AWC}$  — temperatura uśredniona ważona kwadratem amplitudy pików metabolitów
- $uT_{AWC}$  - niepewność uśredniona temperatury  $T_{AWC}$

# Spis Rysunków

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

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

Rysunek 3. Przykład dwóch sygnałów w dziedzinie czasu (a) i częstotliwości (b). Wykres (a) przedstawia sygnał w dziedzinie czasu (FID), gdzie linia niebieska reprezentuje składową rzeczywistą, a linia szara składową urojoną. Wykres (b) przedstawia widmo w dziedzinie częstotliwości, z którego wynika, że sygnał składa się z jednego piketu położonego na częstotliwości 2, niebieska linia oznacza składową rzeczywistą widma, a jasniebieska składową urojoną. Źródło: [https://resources.drcmr.dk/www/Docs/fid\\_spec\\_1peak.html](https://resources.drcmr.dk/www/Docs/fid_spec_1peak.html).....20

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

Rysunek 5. (A) Całkowite widmo po przekształceniu sygnału FID transformatą Fouriera, z przedstawieniem części rzeczywistej (niebieska linia) i urojonej (czerwona linia) widma. Wskazano obszar (pomarańczowe zaznaczenie), którego przybliżenie przedstawiono w panelu poniżej. (B) Przybliżenie widma z wyraźnym pikem wody oraz widocznymi pikami metabolitów. Obszar zaznaczony pomarańczowym kolorem wskazuje region przybliżony w panelu (C). (C) Przybliżenie widma uwidaczniające metabolity: NAA (2.0 ppm), Cre (3.0 ppm) i Cho (3.2 ppm). Widmo uzyskano z fantomu badanego w skanerze 3T (PRESS, TE = 25 ms, TR = 2000 ms, 4096 punktów, woksel  $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ , 3T GE Discovery 750w). Praca własna.....23

Rysunek 6. Diagram sekwencji PRESS przedstawiający: 3 impulsy ( $90^\circ$ ,  $180^\circ$ ,  $180^\circ$ ), po których następuje sygnał echa spinowego w górnej linii; TE – definicja czasu echa; 3 linie odzwierciedlające impulsy gradientu do kodowania przestrzennego i wynikającej z tego definicji przestrzeni prostopadłościanu woksela. Przedruk z <https://mriquestions.com/press.html>, dzięki uprzejmości Allena D. Elstera, MRIquestions.com.....25

Rysunek 7. (A) Widmo typu WS z częściowo tłumionym sygnałem wody: w czerwonym zaznaczeniu rząd wielkości amplitudy sygnału, w zielonym zaznaczeniu widoczne piki metabolitów. (B) Widmo typu WU z nietłumionym sygnałem wody: w czerwonym zaznaczeniu rząd wielkości amplitudy sygnału, w zielonym zaznaczeniu brak widocznych metabolitów. (C) Porównanie amplitud widm typu WS i WU. Praca własna.....28

Rysunek 8. Diagram sekwencji impulsów dla modułu CHES do tłumienia sygnału wody. Moduł CHES składa się z trzech impulsów RF, po których następują rozfazowujące impulsy gradientowe o dużej amplitudzie i czasie trwania. Efektem tych impulsów jest wzbudzenie oscylacyjnego ruchu i dekoherencja magnetyzacji poprzecznej sygnału wody w wąskim zakresie częstotliwości (wokół piku wody), przy minimalnym wpływie na sygnały poza tym zakresem częstotliwości. W każdym okresie TR moduł CHES poprzedza akwizycję danych, w tym przypadku z wykorzystaniem sekwencji PRESS. Supresja sygnału wody za pomocą modułu CHES powoduje, że sygnał pochodzący z wody pojawia się w widmie w minimalnym stopniu. Praca własna..... 29

Rysunek 9. Przykład słabej korekcji pola (lewy obraz) z widocznymi szerokimi pikami i niewyraźnymi pikami znajdującymi się koło siebie w porównaniu z przykładem poprawnej korekcji pola (prawy obraz) gdzie obserwujemy wąskie piki z uwidocznionymi pikami, które znajdują się blisko siebie. Ilustracja dzięki uprzejmości Allena D. Elstera, MRIquestions.com.....30

Rysunek 10. Widmo spektroskopii rezonansu magnetycznego (MRS) białej materii w zdrowym mózgu. (Lewa strona) Widma z średnim czasem echa (TE) 135-144 ms mają mniejsze zniekształcenie linii bazowej i są łatwiejsze w obróbce i analizie, ale wykazują mniej metabolitów niż widma z krótkim TE. (Prawa Strona) Krótkie TE pokazują piki większej ilości metabolitów, włączając lipidy i makromolekuły, glutaminę, glutaminian i myo-inozytol.....36

Rysunek 11. Obraz metabolitów występujących w mózgu in vivo wraz z ich położeniem na osi przesunięcia chemicznego. Na pomarańczowo N-acetyloasparaginan (NAA) z położeniem 2.02 ppm, na żółto Kreatyna (Cr) z położeniem na 3.03 ppm i na fioletowo Cholina (Cho) z położeniem na 3.20 ppm. Praca własna.....37

Rysunek 12. Schematyczne wytłumaczenie zależności pomiędzy temperaturą a przesunięciem chemicznym związku wody;  $\omega$  to częstotliwość rezonansowa protonów w wodzie,  $\sigma$  to stała ekranowania spowodowana przez chmurę elektronów znajdujących się w pobliżu protonu, a  $\gamma$  to współczynnik żyromagnetyczny. Praca własna.....52

Rysunek 13. Struktura danych w pliku zawierającym widmo MRS zarejestrowane w skanerze GE. Praca własna.....58

Rysunek 14. Schemat wstępnej obróbki danych spektroskopowych zawierający w sobie kombinację sygnału z wielu kanałów cewek MR, wyliczanie widma uśrednionego z wielu pobudeń w widmie spektroskopowym oraz korekcję fazową widma spektroskopowego. Praca własna.....60

Rysunek 15. Graficzne przedstawienie danych  modelowej funkcji Lorentza  oraz sparametryzowanej funkcji dopasowanej Lorentza . Praca własna.....62

Rysunek 16. Przykładowa strona z pliku PDF pełniąca funkcję wstępnego raportu, jednocześnie stanowiąca kontrolę jakości przeprowadzonej analizy i widma uzyskanego we wcześniejszych etapach. Na tej stronie znajdują się informacje dotyczące pliku Pfile zawierającego danego widma. Przedstawione są 3 wykresy: (A) wykres zawierający dane z widma WS obrazujący położenie metabolitów w widmie: NAA (pomarańczowe), Cr (żółte), Cho (fioletowe). (B) Sygnał wody widoczny w widmie typu WS. (C) Sygnał wody widoczny w widmie typu WU. Praca własna.....63

Rysunek 17. A. Fantom GE Spectroscopy Braino zawierający 8 metabolitów, kontrast gadolinowy i azydek sodowy. Naklejony termometr pozwala na zgrubną kontrolę temperatury fantomu. B. Kulisty szklany fantom używany do kontrolowanej cyrkulacji temperatury; pokazano pozycje sondy światłowodowej, związku organicznego i próbki (np. roztworu metabolitów). Praca własna.....64

Rysunek 18. Skaner GE z fantomem umieszczonym w cewce nadawczo-odbiorczej (Zdjęcie A.). Fantom podłączony jest do przepływu wody przy pomocy dwóch rur pcv doprowadzających i odprowadzających wodę (niebieskie rury) do łaźni wodnej Thermo pozwalająca na kontrolę temperatury (Prawy dolny róg, niebieska strzałka, zdjęcie C). Temperatura w fantomie mierzona jest przy pomocy dwóch światłowodowych sond temperaturowych, doprowadzonych do skanera (brązowe kable) do przetwornik firmy Osensa (Prawy górny róg, żółta strzałka, zdjęcie B). Praca własna.....67

Rysunek 19. Przykładowe widma z fantomu. Na górze widmo typu WS z częściowo tłumionym pikiem wody (WS), gdzie widoczne są istotne dla nas piki N-acetyloasparagianu (NAA), Kreatyny (Cre) i Cholicy (Cho). Na dole widmo typu WU z nietłumionym sygnałem wody (WU) w widmie brak widocznych pików metabolitów. Fioletowe linie przedstawiają połączenie pików metabolitów z widma WS z pikiem wody z widma WU. Linie żółta, pomarańczowa i zielona oznaczają połączenia metabolitów z widma WS z pikiem wody z widma WS. Praca własna.....69

Rysunek 20. Położenie woksela badanego w badaniu in vivo położony w prawym dolnym płatku ciemieniowym (rIPL). Praca własna.....71

Rysunek 21. Przykład rozmieszczenia dwóch wokseli w badaniach in vivo mózgu zobrazowanego w sekwencji T2. Po lewej przedstawiono woksel w kolorze zielonym, umieszczony kontralateralnie do zmiany, a po prawej woksel w kolorze czerwonym, zlokalizowany w obszarze zmiany. Praca własna.....74

Rysunek 22. Porównanie danych fantomowych: (a) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (b) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Wykresy pudełkowe przedstawiają medianę, kwartyle oraz wartości minimalne i maksymalne FWHM oraz położenia pików wody dla widm WS i WU. Praca własna.....76

Rysunek 23. Porównanie korelacji z danych fantomowych: (A) korelacja szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x) (B) korelacja położenia pików centralnego pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x). Z linią dopasowania (fioletowa linia). Praca własna.....77

Rysunek 24. Wyniki kalibracji. Porównanie liniowych regresji korzystających z różnic pomiędzy położeniem pików wody z widma WS a pikami każdego z trzech metabolitów referencyjnych: NAA (czerwony), Kreatyną (zielony) i Choliną (niebieski) od zmierzonej temperatury w fantomie. Punkty oznaczają dane pomiarowe, a linie modele regresji liniowej. Wyniki zostały wykorzystane do wyznaczenia równań kalibracyjnych, ponieważ temperatura fantomu była znana. Praca własna. ....78

Rysunek 25. Wyniki kalibracji. Porównanie liniowych regresji korzystających z różnic pomiędzy położeniem pików wody z widma WU a pikami każdego z trzech metabolitów referencyjnych: NAA (czerwony), Kreatyną (zielony) i Choliną (niebieski) od zmierzonej temperatury w fantomie. Punkty oznaczają dane pomiarowe, a linie modele regresji liniowej.

Wyniki zostały wykorzystane do wyznaczenia równań kalibracyjnych, ponieważ temperatura fantomu była znana. Praca własna. ....	79
Rysunek 26. Różnica temperatury pomiędzy temperaturą zmierzoną w fantomie za pomocą sond temperaturowych, a temperaturą zmierzoną z widm typu WS i WU za pomocą obliczonych funkcji kalibracyjnych. Praca własna.....	81
Rysunek 27. Przykład widm in vivo typu WS i WU. Z rozdzieleniem na metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cre i Cho), wodę i metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cr, Cho oraz pik wody) w widmie typu WS oraz na widmo WU z widocznym jedynie pikem wody. Praca własna.....	82
Rysunek 28. Porównanie danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (B) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna.....	84
Rysunek 29. Porównanie korelacji z danych in vivo: (A) korelacja szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x) (B) korelacja położenia pików centralnego pików wody w widmie WU (oś y) vs w widmie WS (oś x). Z linią dopasowania (fioletowa linia). Praca własna.....	85
Rysunek 30. Porównanie temperatury ciała mierzonej w prawym uchu przed (po lewej) i po (po prawej) badaniu. Praca własna.....	86
Rysunek 31. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm WS i WU z wybranymi pikami odniesienia NAA (T NAA WS i T NAA WU), Cre (T CRE WS i T CRE WU) lub Cho (T CHO WS i T CHO WU). Obliczenia temperatury przedstawione w stanie przed (niebieski) i po (czerwony) akwizycji fMRI. Gwiazdki na obrazku oznaczają istotność statystyczną. Praca własna.....	88
Rysunek 32. Korelacja temperatury mierzonej przy pomocy pików wody z widm WS i WU z NAA( niebieskie kropki), Cre (czerwone kwadraty) i Cho (żółte trójkąty). Z linią $y = x$ przecinającą całość. Praca własna.....	89
Rysunek 33. Przykład widm in vivo z tkanki zdrowej i nowotworowej. Z rozdzieleniem na: (A i C) metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cre i Cho); (B i D) wodę i metabolity (zaznaczone metabolity NAA, Cr, Cho oraz pik wody) w widmie typu WS. Praca własna....	91
Rysunek 34. Porównanie danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w widmie WS (po lewej) i WU (po prawej) (B) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS (po lewej) i WU (po prawej). Praca własna. ....	92
Rysunek 35. Porównanie korelacji danych in vivo wraz z wartościami korelacji r Pearsona z danych in vivo: (A) szerokości połówkowej (FWHM) pików wody w WS vs WU (B) położenia pików centralnego pików wody w widmach WS vs WU. Praca własna.....	93
Rysunek 36. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WS lub WU z wybranymi metabolitami odniesienia NAA, Cre lub Cho oraz przy pomocy uśredniania amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.....	96
Rysunek 31. Porównanie obliczeń średniej temperatury przy użyciu pików wody z widm typu WU z wybranymi pikami odniesienia NAA, Cre i Cho oraz przy pomocy uśredniania	

amplitudowego (AWC) w przypadku zmienionej (czerwone) i zdrowej (niebieski) tkanki. Praca własna.....97

## Spis Tabel

**Tabela 1.** Przegląd współczynników kalibracyjnych MRSt wyznaczonych przez innych badaczy. Z zaznaczeniem metabolitu (NAA, Cre lub Cho) użytego w odniesieniu do przesunięcia chemicznego pików wody. W tabeli pokazano wzór funkcji liniowej, gdzie temperatura (T) wyznaczana jest za pomocą iloczynu nachylenia kalibracji ( $\alpha$ ) i różnicy pomiędzy przesunięciem chemicznym pików wody i metabolitu referencyjnego ( $\Delta$ ), zsumowanego z współczynnikiem punktu przecięcia z osią y ( $\beta$ ). Pokazano w jakim środowisku przeprowadzona została kalibracja termometrii MRS (Fantom, model zwierzęcy). Wskazane zostały także konkretne metabolity referencyjne, na których oparta została kalibracja, natężenie pola magnetycznego ( $B_0$ ), nachylenie kalibracji ( $\alpha$ ), punkt przecięcia z osią y ( $\beta$ ), wartość dopasowania ( $R^2$ ). Tam, gdzie to możliwe, w nawiasach przedstawiono zmienność opartą na błędzie dopasowania.....50

**Tabela 2.** Stężenia substancji zawartych w fantomie badawczym.....65

**Tabela 3.** Współczynniki wyliczone dla wzoru 43 wraz z niepewnościami (nachylenie prostej ( $\alpha$ ), wartość różnicy przesunięcia chemicznego pomiędzy pikami wody z widm WS lub WU i wybranego metabolitu (NAA, Cre lub Cho) dla temperatury  $36,7^\circ\text{C}$  ( $F0_{ref}$ )) oraz stopień dopasowania ( $R^2$ ). Parametry uzyskane dla relacji pomiędzy położeniem pików wody z widma WS (WS-metabolit) lub pików wody z widma WU (WU-metabolit) a metabolitami NAA, Kreatyna i Cholina. Przykładowo WS-NAA oznacza różnicę przesunięć chemicznych pomiędzy pikami wody z widma WS i pikami NAA.....80

**Tabela 4.** Porównanie średnich temperatur zmierzonych przed i po akwizycji fMRI z odchyleniami standardowymi i niepewnościami pomiaru wykorzystując wyznaczone funkcje kalibracyjne.....87

**Tabela 5.** Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi próbki na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WS. Wraz z różnicą pomiędzy zmianą a normą z poziomem istotności.....94

**Tabela 6.** Porównanie średnich temperatur (w nawiasach błęd pomiaru) obliczonych z odchyleniami standardowymi próbki na podstawie trzech krzywych regresji wraz z uśrednieniem amplitudowym (AWC) między pomiarami na zmienionej i zdrowej tkance przy wykorzystaniu pików wody z widma WU. Wraz z różnicą pomiędzy zmianą a normą z poziomem istotności.....96

**Tabela A.** Dane pomiarów temperatury z badań na fantomie. Tabela zawiera pomiary temperatury zmierzone sondą wewnątrz fantomu wraz z temperaturą obliczoną za pomocą pików wody tłumionej (WS) i nietłumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, CRE, CHO), wraz z odpowiadającej im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.....110

**Tabela B1.** Dane z pomiarów temperatury przed badaniem fMRI. Tabela zawiera numer pacjenta, wiek oraz płeć. Przedstawiono w niej temperaturę wyznaczoną z pików wody

tłumionej (WS) i nietłumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, Cre, Cho), a także odpowiadające im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.....112

**Tabela B2.** Dane z pomiarów temperatury po badaniu fMRI. Tabela zawiera numer pacjenta, wiek oraz płeć. Przedstawiono w niej temperaturę wyznaczoną z pików wody tłumionej (WS) i nietłumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, Cre, Cho), a także odpowiadające im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.....116

**Tabela C.** Dane z pomiarów temperatury zmiany nowotworowej i normy w mózgu. Tabela zawiera numer pacjenta. Przedstawiono w niej temperaturę wyznaczoną z pików wody tłumionej (WS) i nietłumionej (WU) z wykorzystaniem metabolitów referencyjnych (NAA, Cre, Cho), a także odpowiadające im niepewności pomiaru temperatury uT dla każdej z metod.....121