

UNIVERZITA KARLOVA

2. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Aplikace MR spektroskopie v neurochirurgii
The use of MR spectroscopy in neurosurgery

Alberto Malucelli

Praha, 2021

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Neurovědy 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy na Oddělení magnetické rezonance Pracoviště radiodiagnostiky a intervenční radiologie v Institutu Klinické a Experimentální Medicíny.

Školitel: Ing. Milan Hájek, DrSc.

Konzultant: prof. MUDr. Martin Sameš, CSc.

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady Neurovědy dne v od hod.
Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu:
prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Děkan fakulty:
prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Tato práce vznikla za podpory:
Ministerstva zdravotnictví České republiky - koncepční rozvoj výzkumné organizace („Institut klinické a experimentální medicíny - IKEM, IN 00023001“)
Projektu Interní Grantové Agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky č. NS/9654-4
Projektu FNUSA-ICRC CZ.1.05/1.1.00/02.0123 financovaný z Evropského fondu pro regionální rozvoj (ERDF)

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 (tel. 224 435 836).

Obsah

Abstrakt.....	4
Abstract.....	5
1. Úvod.....	6
2. Cíle práce.....	7
3. Metodika.....	8
4. Výsledky.....	13
5. Diskuze.....	17
6. Závěry.....	20
7. Literatura.....	21
Přehled publikací autora.....	23

Abstrakt

Protonová MR spektroskopie mozku je neinvazivní metoda měření *in vivo* koncentrací několika intracerebrálních metabolitů. Cílem této práce bylo otestovat její použitelnost a spolehlivost ve dvou specifických oblastech lékařské praxe: neuroonkologická a cerebrovaskulární.

Neuroonkologická studie korelovala multivoxel protonovou MR spektroskopii v magnetickém poli 3T s histopatologickými vzorky, klinickým stavem a radiologickým sledováním u skupiny pacientů s novými kontrastně se sytícími lézemi po radio- a chemoterapii pro vysokostupňový gliom. Více metod metabolické analýzy bylo testováno, aby se zjistilo, která z nich nejlépe rozlišuje recidivu tumoru od radionekrózy u jedné prospektivní kohorty pacientů. Do studie bylo zahrnuto 26 pacientů s celkem 37 nově kontrastně se sytícími lézemi. Konečná diagnóza byla provedena na podkladě histologie či radiologického sledování. Nejlepších výsledků bylo dosaženo interhemisferálním srovnáním cholinu, kreatinu a laktátu (senzitivita 93,3 % a specificita 78,6 %). Snížení kreatinu bylo zjištěno ve všech lézích ve srovnání s kontralaterální oblastí, což mělo za následek zvýšení poměru cholin/kreatin ve všech skupinách pacientů a následně špatnou specificitu metod zakládaných pouze na tomto poměru. Podle očekávání bylo zjištěno, že probíhající radio- a chemoterapie má inhibiční účinek na mozkový a nádorový metabolismus, což činí diferenciální diagnostiku obtížnější. Z tohoto důvodu by měla být diagnóza radionekrózy během probíhající onkologické léčby potvrzena pozdějším vyšetřením po jejím ukončení. Na základě výsledků této studie se rozlišení regresivní recidivy jako samostatné histologické a radiologické entity jeví jako žádoucí krok směrem k lepšímu roztrídění komplexních histopatologických a radiologických nálezů při sledování neuroonkologických pacientů.

Cílem cerebrovaskulární studie bylo vyhodnotit MR spektroskopické změny vyskytující se u pacientů s jednostrannou okluzí arteria carotis interna a korelovat tyto metabolické změny s hemodynamickými a anatomickými údaji. Do studie bylo zahrnuto 22 pacientů s jednostrannou okluzí vnitřní krkavice a 20 zdravých subjektů. V obou skupinách byla provedena MR spektroskopie centra semiovale, poloautomatická hipokampální volumetrie v T1 vážených řezech a transkraniální dopplerovské vyšetření. Poměr N-acetylaspartát/cholin byl významně nižší v obou hemisférách pacientů ve srovnání s kontrolami ($p = 0,005$ pro stranu s okluzí, $p = 0,04$ pro stranu bez okluze). Objem hipokampu byl významně nižší u pacientů v obou hemisférách ve srovnání se zdravými jedinci ($p = 0,049$). Tato studie prokázala, že pacienti s jednostrannou okluzí vnitřní krkavice vykazují nižší poměr N-acetylaspartát/cholin v bílé hmotě obou hemisfér a mají oboustrannou atrofii hipokampu. MR spektroskopie je proveditelný a spolehlivý nástroj pro vyšetření pacientů s cerebrovaskulárním onemocněním a potenciální identifikaci rizikových faktorů pro budoucí mozkovou příhodu.

Abstract

Proton MR spectroscopy is a non-invasive method of measuring *in vivo* concentrations of several intracerebral metabolites. The aim of this thesis was to test its applicability and reliability in two specific fields of medical praxis: neurooncologic and cerebrovascular.

The neurooncologic study correlated multivoxel proton MR spectroscopy at 3T with histopathologic specimens, clinical and radiological follow-up in a group of patients with new contrast enhancing lesions after radio- and chemotherapy for high-grade glioma. Multiple methods for metabolic analysis were applied to test which one performed best in discriminating recurrent tumor from radionecrosis in a single prospective cohort of patients. Twenty-six patients for a total of 37 new enhancing lesions were included in the study. The final diagnosis was assessed by histology or radiological follow-up. The best diagnostic yield was achieved by interhemispherical comparison of choline, creatine and lactate (sensitivity 93.3 % and specificity 78.6 %). A decrease in creatine was found in all lesions compared to contralateral region, resulting in an increase in choline/creatine ratio in all patient groups and consequent poor specificity of methods using this ratio alone. Ongoing oncologic treatment, as expected, was found to have an inhibiting effect on cerebral and tumoral metabolism, making differential diagnosis trickier. Indeed, a diagnosis of radiation changes assessed during ongoing radio- and chemotherapy should be confirmed when the oncologic treatment is terminated. Based on these results the distinction of regressive recurrence as a separate histologic and radiologic entity seems to be helpful in the effort to discern the complexity of events leading to new enhancing lesions in the follow-up of neurooncologic patients.

The aim of the cerebrovascular study was to evaluate MR spectroscopic brain changes occurring in patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery and correlate these metabolic alterations with cerebral hemodynamic and anatomic changes. Twenty-two patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery and 20 age and sex matched healthy subjects were included in the study. MR spectroscopy of the centrum semiovale, semi-automated hippocampal volumetry in T1-weighted scans and transcranial doppler examination were performed in both groups. The N-acetylaspartate/choline ratio was significantly lower in both hemispheres of enrolled patients compared to controls ($p=0.005$ for the side with occlusion, $p=0.04$ for the side without occlusion). The hippocampus volume was significantly reduced bilaterally in patients compared to healthy subjects ($p=0.049$). This study showed that patients with unilateral occlusion of the internal carotid artery have reduced N-acetylaspartate/choline ratio in the white matter of both hemispheres and have bilateral atrophy of hippocampus. MR spectroscopy is a feasible and reliable tool to examine patients with cerebrovascular disease and potentially identify risk factors for future stroke.

1. Úvod

Protonová MR spektroskopie (^1H MRS), založená na stejných fyzikálních principech jako MR zobrazování (MRI), poskytuje informace o metabolickém profilu tkání *in vivo*. Díky jedinečné schopnosti neinvazivně poskytnout metabolické informace hraje MRS důležitou roli v poznacích o centrálním nervovém systému (CNS).

V rámci neuroonkologie nachází MRS uplatnění mimo jiné v diferenciální diagnostice mezi recidivou tumoru a radionekrózou. U pacientů léčených kombinovanou radio- a chemoterapií dochází ve frekvenci až 30 % ke vzniku postradiačního nekrotického poškození, které radiologicky napodobuje recidivu nebo progresi tumoru při konvenčním MRI (Alexiou G.A. et al., 2009). V přítomnosti nové kontrastní látkou se sytící léze je odlišení recidivy nádoru od radionekrózy zásadní pro přizpůsobení specifické terapeutické odpovědi těmto histopatologicky a prognosticky odlišným entitám. Vývoj neinvazivní, vysoce specifické diagnostické techniky je jistě žádoucí. Četné studie naznačují, že MRS dokáže rozlišit s přijatelnou specificitou změny související s léčbou od rekurentního novotvaru (Plotkin M. et al., 2004, Siu A. et al., 2012, Seeger A. et al., 2013, Prat R. et al., 2010). Některé studie prokázaly dobrou korelaci MRS s patologickými vzorky získanými při biopsii nebo resekci (Rock J.P. et al., 2002, Dowling C. et al., 2001). Výše citované studie se často liší metodikou, kritérii zařazení pacientů, technickými specifikacemi MR přístroje a analýzou metabolitů. Heterogenita MRS metodik použitých v literatuře v rámci specifické otázky diferenciální diagnostiky mezi recidivou tumoru a radionekrózou brání doposud širšímu použití MRS v tomto konkrétním diagnostickém kontextu. Okluze vnitřní krkavice (ACI) je známým rizikovým faktorem pro cévní mozkovou příhodu v ipsilaterální hemisféře. Četné studie se zabývají MRS změnami v mozku při akutním či chronickém snížení přítoku krve (Bivard A. et al., 2016, Saito et al., 2012, van der Grond J. et al. 1995). Protože metabolické změny v bílé a šedé hmotě při okluzi ACI hrají důležitou roli v kaskádě událostí vedoucích k cévní mozkové příhodě, možnost neinvazivní detekce těchto změn může také pomoci identifikovat vysoce rizikové pacienty pro budoucí mozkovou příhodu (Klijn C.J.M. et al., 2000). Integrace vyšetření mozkového průtoku krve (Cerebral Blood Flow, CBF) pomocí transkraniální dopplerovské sonografie (TCD) s MRS a MRI umožňuje získat vedle hemodynamických i metabolické a anatomické informace o mozkové tkáni a toto je žádoucí ve snaze prohloubit pochopení komplexních mechanismů vedoucích k ischemické mozkové příhodě při okluzi ACI. Další studie zkoumající vztahy mezi těmito diagnostickými modalitami jsou v tomto ohledu žádoucí.

2. Cíle práce

V rámci aplikace MRS v oboru **neuroonkologie** je tato práce speciálně zaměřena na problematiku diferenciální diagnostiky mezi recidivou a radionekrózou. Tato část práce je prospektivní multivoxelová 2D a 3D 1H MRS studie na 3T MR přístroji, která koreluje 1H MRS metabolická data s histopatologickými vzorky, klinickým a MRI radiologickým sledováním u skupiny pacientů s novými kontrastně se sytícími lézemi po radioterapii a chemoterapii pro vysokostupňový gliom. Specifické cíle této práce a otázky, na které se práce snaží odpovědět v tomto podoboru, jsou:

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

V rámci aplikace MRS v **neurovaskulární** oblasti je tato práce speciálně zaměřena na problematiku chronické okluze ACI. Hlavním cílem této části práce bylo porovnat výsledky TCD vyšetření, kvantitativní 1H MRS a poloautomatizované MR hipokampální volumetrie u skupiny pacientů s jednostrannou okluzí ACI s odpovídající skupinou zdravých jedinců. Specifické cíle této práce a otázky, na které se práce snaží odpovědět v tomto podoboru, jsou:

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

3. Metodika

3.1 Metodika neuroonkologické studie

3.1.1 Soubor pacientů a kontrol

Do studie bylo zařazeno 26 pacientů, 17 mužů a 9 žen (věkové rozmezí 23–71 let; průměrný věk $49,7 \pm 13,9$ let), kteří splňovali následující kritéria: předchozí operace histologicky ověřeného gliomu mozku; předchozí onkologická léčba konvenční radioterapií (R) izolovaně ($n = 3$) či v kombinaci s chemoterapií Temozolomidem (ChT) ($n = 22$) a stereotaktickou radiochirurgií ($n = 1$); nová kontrastně se sytící léze na konvenčním anatomickém MRI v blízkosti primárního novotvaru ($n = 27$) nebo v jiné lokalizaci ($n = 10$). U 9 pacientů byly zachyceny na MRI vícečetné nové kontrastně se sytící léze buď v době zařazení do studie anebo během sledování. V takovém případě byla každá léze analyzována samostatně. Celkový počet lézí zahrnutých do studie byl tedy 37. Třicet osm zdravých subjektů, 23 mužů a 15 žen (věkové rozmezí, 18–79 let; průměrný věk, $44,7 \pm 12,9$ let) bez anamnézy nebo příznaků onemocnění CNS se zúčastnilo této studie jako kontroly.

3.1.3 Klasifikace lézí

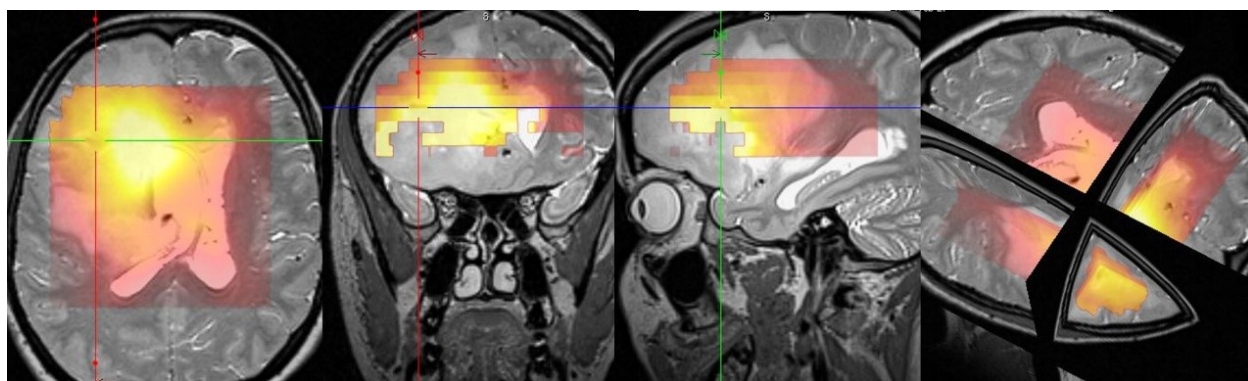
Nové kontrastně se sytící léze byly klasifikovány podle klinických, neuroradiologických a histopatologických kritérií buď jako rekurentní viabilní nádor, nebo jako reakce na onkologickou léčbu. Indikace k eventuální reoperaci pro podezření na recidivu tumoru byla provedena na základě konsensu neuroonkologického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

3.1.4 MR protokol

Po zařazení do studie byl každý pacient vyšetřen na 3T přístroji (Trio, Siemens Healthineers, Německo) vybaveném hlavovou cívkou. Vyšetřovací protokol zahrnoval standardní MRI, 2D a 3D MR spektroskopické zobrazování (MRSI). MRI protokol zahrnoval sagitální, koronální a axiální T2 vážené řezy (T2W, turbo spin echo sekvence) a sagitální T1 vážené řezy (T1W, MPRAGE). Získané obrazy byly použity k lokalizaci léze a zaměření spektroskopické oblasti zájmu (Volume Of Interest, VOI). Data 2D MRSI byla získána sekvencí 2D PRESS-MRSI s TR/TE/NA = 1510 ms/30 nebo 135 ms/4, Field Of View (FOV) 160x160x15 mm, fázové kódování 16x16, objem voxelu 1,5 ml, s a bez potlačení signálu vody. 3D data MRSI byla získána pomocí 3D PRESS-MRSI s potlačením vody, fázové kódování 14x14x12, FOV 160x160x90mm, TR/TE/NA = 1200 ms/135 ms/1. VOI ve skupině pacientů byl umístěn tak, aby zahrnoval, pokud možno, celou kontrastně se sytící lézi včetně potenciálního cíle biopsie. Kvůli zohlednění prostorové závislosti koncentrací metabolitů v mozku byly VOI u zdravých subjektů umístěny v různých oblastech mozku, aby byla získána kontrolní data z celého mozkového parenchymu.

3.1.5 Korelace MRI-MRS-histologie

U 3 pacientů byl pro intraoperační navigaci použit 3D datový soubor MRI/MRS (Obrázek 1). Když byl chirurgický zákrok z provozních důvodů proveden s odstupem 7 dní či více od MRS vyšetření, bylo provedeno před operací nové 3D MRI vyšetření a tento výsledek byl použit k neurochirurgické navigaci. Nová MRS nebyla měřena z důvodu nezatežování pacienta dalším časově náročným vyšetřením. V tomto případě, aby byla zajištěna nejlepší korelace mezi histologickými a MRS daty, přesné místo bioptického vzorku bylo označeno intraoperačně na 3D MRI a takto označená poloha byla následně použita k získání odpovídajícího voxelu MRS.



Obr. 1 Vizualizace sloučených obrazů 3D MRI-3D cholin (Cho) v navigačním systému během stereotaktické biopsie u léze č. 29. 3D obrázky Cho na transverzální, koronální, sagitální a 3D multiplanární MRI. Žlutá barva - vysoké hodnoty Cho, červená barva - normální hodnoty Cho.

3.1.6 Zpracování MRSI dat

Data 2D i 3D MRSI byla analyzována pomocí programu jSIPRO s grafickým datovým rozhraním LCModel-SI (Jiru F. et al., 2013, Provencher S.W., 1993). V případě 2D MRSI hodnoty intenzit signálů metabolitů odpovídaly jejich koncentracím v institucionálních jednotkách. Jako vnitřní standard pro výpočet metabolické koncentrace byl použit signál vody. Nebyly provedeny korekce na relaxační časy, ani na obsah mozkomíšního moku v měřeném VOI. Hodnoty koncentrací metabolitů při použití 3D MRSI odpovídaly intenzitě signálu (plocha pod křivkou) v laboratorních jednotkách, bez přepočtu na referenční signál vody.

3.1.7 Analýza dat

Na všech zahrnutých lézích bylo testováno šest různých metod vyhodnocení dat pro diferenciální diagnostiku mezi recidivou a radionekrózou:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.1.8 Statistická analýza

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

3.2 Metodika cerebrovaskulární studie

3.2.1 Soubor pacientů a kontrol

Do této studie bylo zařazeno celkem 36 pacientů s jednostrannou okluzí ACI. Diagnóza okluze ACI byla potvrzena CT angiografií. Okluze byla definována jako úplná obliterace cévy bez detekovatelné kontrastní látky distálně od uzávěru. Kritéria pro vyloučení byla: modifikovaná Rankinova škála (mRS) vyšší než 1, více než 50%-ní stenóza kontralaterální ACI na CT angiografii, přítomnost jakéhokoli souběžného onemocnění CNS, anamnéza kouření, abusus alkoholu nebo drog, index tělesné hmotnosti (BMI) vyšší než 30. Po vyloučení nevhodných subjektů bylo do studie zahrnuto celkem 22 pacientů (16 mužů a 6 žen, průměrný věk 62 ± 7). Okluze byla asymptomatická u 8 pacientů, zbývající subjekty utrpěly mozkovou ischemickou příhodu minimálně 6 měsíců před zařazením nebo dříve (drobná cévní mozková příhoda u 5 pacientů, přechodná ischemická ataka u 9 pacientů). Žádný pacient nevykazoval stupeň neurologického postižení vyšší než 1 podle mRS (mRS = 0 u 17 subjektů, mRS = 1 z 5 subjektů). Osm subjektů vykazovalo určitý stupeň stenózy kontralaterální ACI (20% N = 2, 30% N = 2, 40% N = 3, 50% N = 1). Do této studie byla zároveň zařazena skupina 20 zdravých kontrol odpovídajících skupině pacientů podle věku a pohlaví (10 mužů a 10 žen, průměrný věk 63 ± 8). Zdravým dobrovolníkům byly krční tepny vyšetřeny ultrazvukem, aby nebyli zatěžováni radiačním rizikem CT. V kontrolní skupině mělo 7 subjektů stenózu jedné karotické tepny, ve všech případech byla stenóza pod 50 % (20% N = 3, 30% N = 2, 40% N = 2). U všech diagnostických modalit byla do analýzy zahrnuta pouze jedna hemisféra u kontrolních subjektů (N = 20), aby odpovídala velikosti podskupin pacientů: ipsilaterální (N = 22) a kontralaterální (N = 22) hemisféra vůči straně okluze ACI. U 7 kontrolních subjektů, kteří měli stenózu karotické tepny, byla vybrána k analýze hemisféra ipsilaterální ke karotidě bez jakéhokoli stupně stenózy, jinak byla u ostatních kontrolních subjektů paušálně použita levá hemisféra.

3.2.2 Ultrazvukové vyšetření TCD

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

3.2.3 MR poloautomatická hipokampální volumetrie

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

3.2.4 1H MRS protokol

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

minimalizací inkluze šedé hmoty. Pečlivě byly vyloučeny oblasti s alterací signálu T1, aby nebyly případně zahrnuty do VOI postischemické léze. Byly použity následující parametry: TR/TE = 1500/144 ms, τ (zpoždění mezi 1. a 2. excitačním pulzem) = 12 768 ms, počet akvizic = 128, velikost vektoru = 4096, spektrální šířka = 5 000 Hz. LCModel (Provencher S.W., 1993) byl použit ke kombinaci signálů z jednotlivých kanálů cívky a k odhadu koncentrací mozkových metabolitů. Signál bez potlačení vody byl získáván s 16 akvizicemi a byl použit jako vnitřní standard pro odhad koncentrace metabolitů. Vypočtené koncentrace byly korigovány na individuální obsah vody ve VOI a T1/T2 relaxaci vody v bílé hmotě/šedé hmotě/CSF. Nakonec byly koncentrace celkového Cho, celkového Cr a celkového NAA korigovány na relaxační časy T1 a T2 pomocí hodnot z literatury (Isobe T. et al., 2002). Tato korekce nebyla aplikována na Lac, protože dle našich znalostí dosud nebyly publikovány žádné *in vivo* T1 a T2 relaxační časy pro Lac v magnetickém poli 3T. Kvůli tomu zůstaly koncentrace Lac v institucionálních jednotkách.

3.2.5 Statistická analýza

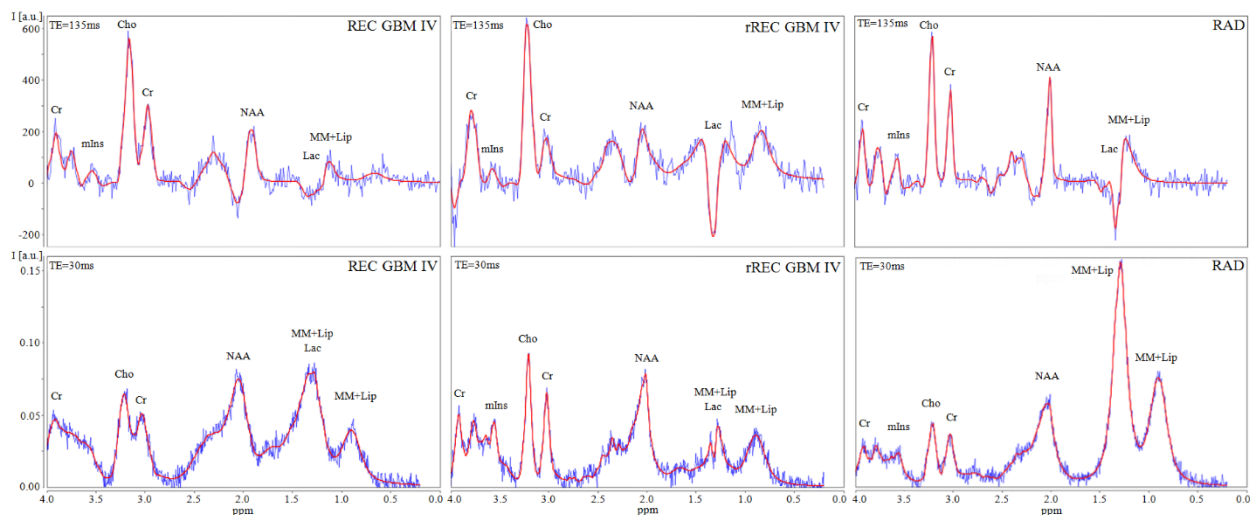
Korelační analýza byla založena na výpočtu Spearmanova korelačního koeficientu. Vzhledem ke kontinuálnímu charakteru proměnných (např. BHI, NAA), bylo porovnání dat v následujících třech skupinách: a) pacienti, ipsilaterální strana; b) pacienti, kontralaterální strana; a c) zdraví dobrovolníci (kontroly)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

4. Výsledky

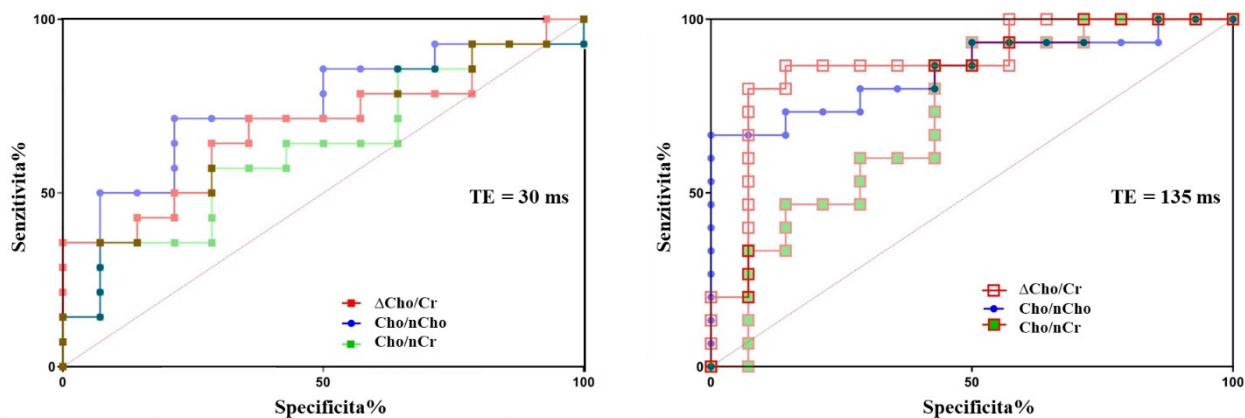
4.1 Výsledky neuroonkologické studie

Do této studie bylo zahrnuto 37 nově kontrastně se sytících lézí. Dvacet jedna lézí bylo klasifikováno pomocí klinických a radiologických kritérií popsaných v části Materiály a metody bez indikace chirurgického zákroku. V 16 případech byla diagnóza založena na histologii: z těchto lézí 3 případy byly klasifikovány jako radionekróza, 9 lézí jako recidiva, 4 vzorky jako regresivní recidiva. Celkem bylo 22 lézí klasifikováno jako recidiva tumoru (recidiva + regresivní recidiva) a 15 lézí jako radiační změny (radionekróza). Doba od MRS do diagnózy se pohybovala v celé kohortě mezi 1 a 245 dny (průměr $99 \pm 75,6$ dnů).

Při použití 2D MRSI s TE = 30 ms byl nalezen statisticky významný rozdíl v interhemisferálních hodnotách ΔCho mezi recidivami a radionekrózami, kde ΔCho byl významně vyšší u recidiv, a totéž v interhemisferálních hodnotách ΔCr mezi recidivami a regresivními recidivami, kde ΔCr byl významně nižší u regresivních recidiv. 3D MRSI s TE = 135 ms vykázalo statisticky významný rozdíl v interhemisferálních hodnotách ΔCho a $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ mezi recidivami a radionekrózami, kde ΔCho a $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ byly významně vyšší u recidiv. Skupiny recidiv tumoru a radionekróz se statisticky lišily také v hodnotách poměrů Cho/Cr a NAA/Cr, kde Cho/Cr byl významně vyšší a NAA/Cr byl významně nižší u recidiv. Ostatní metabolity zahrnuté do analýzy a jejich interhemisferální poměry nevykazovaly statisticky významný rozdíl mezi skupinami. Tabázek 2 ukazuje příklad spekter s dlouhým a krátkým TE u recidivy, regresivní recidivy a radionekrózy. Jelikož statistická analýza u skupin recidiv a radionekróz ukázala významný rozdíl v proporcionálních interhemisferálních hodnotách ΔCho a $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$, byly vypočítány ROC (Receiver Operating Characteristic) křivky založené na těchto MRS parametrech, aby byly identifikovány prahové hodnoty s nejlepší senzitivitou a specificitou v diferenciální diagnostice mezi recidivou a radionekrózou (Obrázek 3). Nejširší oblast pod ROC křivkami byla získána interhemisferálním porovnáním ΔCho při dlouhém TE. Šest testovaných metod ukázalo odlišnou senzitivitu a specificitu. Kromě toho se senzitivita a specificita lišily ve stejné metodě v závislosti na TE (Tabulka 1).



Obr. 2 Příklad spekter s dlouhým a krátkým TE při aktivní recidivě tumoru, regresivní recidivě tumoru a radionekróze. TE, Echo time; REC, aktivní recidiva tumoru; rREC, regresivní recidiva tumoru; RAD, radionekróza; GBM IV, multifonní glioblastom IV. stupně; I, intenzita v institucionálních jednotkách [a.u.] (TE = 135 ms: bez reference na signál vody, TE = 30 ms: s referencí na signál vody); ppm, části na milion; Cr, celkový kreatin; mIns, myo-inositol; Cho, sloučeniny obsahující cholin; NAA, celkový N-acetylaspartát; Lac, laktát; MM + Lip, makromolekuly a lipidy.



Obr. 3 ROC křivky pro $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ (červená barva), Cho/nCho (modrá barva) a Cho/nCr (zelená barva) při $\text{TE} = 30$ ms vlevo a $\text{TE} = 135$ ms vpravo. $\Delta\text{Cho}/\text{Cr}$ je proporcionální rozdíl mezi Cho/Cr v lézi a na kontralaterální straně, Cho je koncentrace či intenzita Cho v lézi, nCho (respektive nCr) jsou koncentrace či intenzity Cho (respektive Cr) v kontralaterální hemisféře.

Tab.1 Senzitivita a specifická diferenciální diagnostiky mezi recidivou tumoru a radiačně indukovanými změnami pro každou metodu. Aktivní recidivy (REC) a regresivní recidivy (rREC) jsou zahrnuty do jedné skupiny „recidivy tumoru“. Viz text pro podrobný popis metod M1-6.

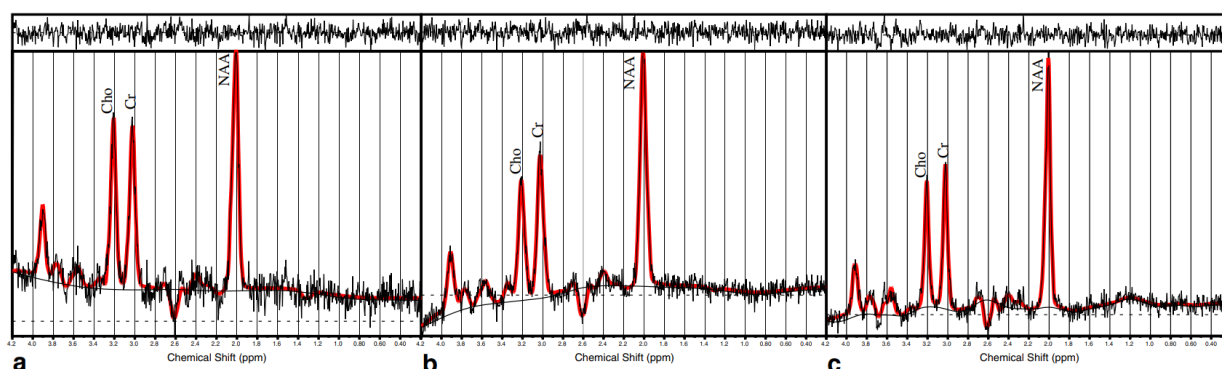
	TE = 135 ms		TE = 30 ms	
	REC+rREC %		REC+rREC %	
	Senzitivita	Specifická	Senzitivita	Specifická
M1	94.1	20	82.4	20
M2	94.1	50	66.7	64.3
M3	93.3	50	78.6	35.7
M4	93.3	78.6	78.6	57.1
M5	100	42.9	78.6	64.3
M6	93.3	64.3	78.6	50.0

4.2 Výsledky cerebrovaskulární studie

Statisticky významný rozdíl v hodnotách BHI byl pozorován u pacientů mezi stranou s okluzí ($0,56 \pm 0,48$) a bez okluzí ($0,79 \pm 0,54$), $p = 0,037$, stejně jako mezi stranou s okluzí a zdravými dobrovolníky ($0,82 \pm 0,47$), $p = 0,014$. Výsledky BHI v hemisféře bez okluzí nevykázaly statisticky významný rozdíl ve srovnání se zdravými kontrolami ($p = 0,810$). Z hlediska koncentrací mozkových metabolitů byly statisticky testovány Cho, Cr, NAA, Lac a jejich poměry. Ve skupině pacientů nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v hodnotách NAA mezi stranou

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

Co se týče výsledků poloautomatizované hipokampální volumetrie, osobní variabilita člověka provádějícího měření byla 3 %. Hodnoty v hemisféře ipsilaterální k okluzi byly významně nižší (3287 ± 410 mm³) ve srovnání se zdravými dobrovolníky (3325 ± 350 mm³), $p = 0,049$. Nebyl pozorován žádný významný rozdíl hodnot objemu hipokampu ve skupině pacientů při porovnání ipsilaterální a kontralaterální (3285 ± 417 mm³) strany, $p = 0,954$. Rozdíl mezi objemem hipokampu u pacientů na kontralaterální straně a u zdravých dobrovolníků vykázal trend blížící se statistické významnosti, $p = 0,051$. Korelační analýza mezi parametry BHI, 1H MRS metabolity a objemem hipokampu neprokázala žádný významný vztah. Nebyl nalezen žádný významný rozdíl mezi podskupinami pacientů (symptomatická versus asymptomatická okluze, pacienti s versus bez stenózy kontralaterální ACI).



Obr. 4 Typické 1H MR spektrum na straně okluze ACI (a), na kontralaterální straně (b) a u zdravého kontrolního subjektu (c). Je vyobrazen základní výstup z LCModelu (hladká černá čára) a křivka po fitování (červená čára); černá čára v boxech nahoře představuje rozdíl mezi korigovanou čarou a měřeným signálem. Cho, sloučeniny obsahující cholin; Cr, celkový kreatin; NAA, celkový N-acetylaspartát; ppm, části na milion.

5. Diskuze

5.1 Diskuze k neuroonkologickým výsledkům

V této studii byly korelovány MRI, MRS a histologická data s cílem posoudit a porovnat senzitivitu a specificitu 6 metod diferenciální diagnostiky mezi recidivou a radionekrózou. Tyto metody byly odvozeny z dostupné literatury a upraveny tak, aby byly ROC křivky optimalizovány. V této studii se senzitivita a specificita každé metody měnily v závislosti na TE. Tuto skutečnost lze nejspíše vysvětlit změnami T2 relaxačních časů metabolitů v lézi oproti kontrolám či kontralaterální straně. Metabolity v tumorech, které mají větší obsah vody, pomaleji relaxují oproti zdravé tkáni. Dochází tak k výraznějšímu rozdílu v intenzitách signálů metabolitů při použití dlouhého TE. Nejlepších výsledků u dlouhých TE bylo dosaženo metodou M4 (senzitivita 93,3 % a specificita 78,6 %), která měla nejvyšší plochu pod ROC křivkou (Tabulka 1, Obrázek 3).

Data aktuální studie potvrdila statisticky významný rozdíl v hodnotách Cho/Cr mezi recidivou a radionekrózou, jak již bylo poukazováno jinými autory (Siu A. et al., 2012, Seeger A. et al., 2013). Tento rozdíl byl významný pouze při použití 3D MRSI s TE = 135 ms. Statisticky významné rozdíly mezi recidivujícím tumorem a postradiačními změnami byly zjištěny u interhemisferálních poměrů Cho/nCho a Cho/nCr v souladu se studií od Seeger et al., kde Cho/nCr byl významně vyšší u rekurentního gliomu než u radionekrózy. Další autoři uvádějí Cho/Cr jako spolehlivý metabolický parametr pro diferenciální diagnostiku mezi viabilním tumorem a radionekrózou (Dowling C. et al., 2001, Plotkin M. et al., 2004). S různými prahovými hodnotami v různých studiích se senzitivita Cho/Cr pohybuje mezi 64 a 87 %, specificita mezi 83 a 89 %. V aktuální studii byl poměr Cho/Cr testován při metodice M1 v porovnání se zdravými kontrolami, dále byl použit v metodice M3 a porovnán s kontralaterální hodnotou nCho/nCr. Obě metody M1 i M3 dosáhly dobré senzitivity, v případě dlouhého TE dokonce lepší než ve výše zmíněných studiích, ale specificita byla nízká (M1: 20 %, M3: 35-50 %). Tento špatný výsledek může souviset se společným metabolickým poškozením, které nastalo po onkologické léčbě napříč oběma skupinami recidiv i radionekróz. V aktuální studii, obdobně jako u jiných autorů (Siu A. et al., 2012), byl Cr v obou skupinách nižší ve srovnání s kontrolami, což mělo za následek nízkou prediktivní hodnotu poměru Cho/Cr. Podle aktuální studie by poměr Cho/Cr neměl být považován za vhodný marker recidivy tumoru, pokud je hodnocen samostatně, ale může být užitečný v kombinaci s dalšími parametry.

Nález 4 histologických vzorků klasifikovaných jako regresivní recidiva tumoru si zaslouží zvláštní komentář, protože faktická kombinace viabilního nádoru s nekrotickou tkání je běžným rysem *in vivo* vzorků a ve své podstatě omezuje diagnostickou výtěžnost jakékoli radiologické metody. MRS profil těchto 4 lézí vykazoval nízký energetický metabolismus a nebyl zjištěn statistický

rozdíl v hodnotách Cr mezi regresivními recidivami a radionekrózami. Co se týče interhemisferálního srovnání, hodnoty NAA, Cr a NAA/Cr se v regresivních recidivách lišily od kontralaterálních oblastí výraznějším způsobem než v radionekrózách. Pokles Cr ve všech lézích v důsledku onkologické léčby je klíčovým faktorem, který ve své podstatě snižuje specificitu MRS. Pokud je MRS prováděno za probíhající radio- a chemoterapie, očekává se, že energetický metabolismus v lézi bude inhibován současnou onkologickou léčbou a přítomnost viabilních, ale metabolicky potlačených nádorových buněk, lze obtížně detekovat. Když je onkologická léčba pozastavena nebo ukončena, klidové nádorové buňky mají tendenci se znovu aktivovat. Stanovení prahových hodnot metabolitů pro diferenciální diagnostiku mezi recidivujícím tumorem a postradiačními změnami je proto komplikované a vyvolává etickou otázku, zda je lepší dosáhnout vyšší senzitivity na úkor specificity, nebo naopak. S ohledem na klinické důsledky tohoto rozhodovacího procesu je nejspíš vhodnější nastavit parametry tak, aby nejméně skutečných recidiv bylo chybně diagnostikováno jako radionekróza. Proto byly v této studii prahové hodnoty u všech metod vyladěny tak, aby se získala lepší senzitivita na úkor specificity. Data aktuální studie navíc naznačují, že radiologické rozdělení do kategorií recidiva, regresivní recidiva a radionekróza, spíše než dichotomický systém recidiva versus radionekróza, by mohlo blíže odpovídat histologické realitě a lépe odrážet složitost těchto často smíšených lézí.

5.2 Diskuze k cerebrovaskulárním výsledkům

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

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

že metabolické poškození mozkové tkáně v případech chronické okluze hlavní přívodné mozkové cévy nemusí být omezeno na postiženou stranu, ale může také zahrnovat kontralaterální hemisféru. K tomuto bilaterálnímu postižení může přispět více faktorů. Jednostranná okluze ACI může způsobit snížení perfuze kontralaterální hemisféry skrz „steal phenomenon“ (Sharma V.K. et al., 2008). V přítomnosti okluze na jedné straně je průtok krve částečně přesměrován ze zdravé hemisféry na postiženou, což mírně snižuje perfuzi hemisféry kontralaterálně k okluzi. I když tato hemodynamická kompenzace nemusí být detekovatelná při TCD vyšetření, může mít vliv na mozkový metabolismus obou hemisfér. Kromě toho může patofyziologický mechanismus vedoucí k ischemické cévní mozkové příhodě u pacientů s ACI okluzí zahrnovat kombinaci makroskopických hemodynamických faktorů, které vedou ke snížení perfuze na postižené straně detekovatelné TCD vyšetřením, a mikroembolických nebo mikroangiopatických faktorů, které ovlivňují obě hemisféry. Použitím této teorie lze předpokládat, že systémové cerebrovaskulární rizikové faktory ve skupině pacientů mohly přispět k poškození kontralaterální hemisféry, jak bylo zmíněno autory Walker et al. (Walker P.M. et al., 2006). Jinými slovy, chronická okluze hlavní mozkové cévy a hemodynamické poškození ipsilaterální hemisféry mohou být makroskopickým vyjádřením širšího onemocnění malých cév postihujícího obě hemisféry. Tuto hypotézu dále podporují van der Grond et al., kteří zjistili, že poměr NAA/Cho je v hemisféře kontralaterální k okluzi ACI o něco nižší ve srovnání se zdravými kontrolami (van der Grond J. et al., 1995). Saito et al. podobně zjistili v souboru pacientů před a po endarterektomii ACI, že poměr NAA/Cr v kontralaterální mozkové hemisféře byl vyšší u pacientů s pooperačně zlepšenou kognicí než u pacientů s pooperačně nezměněným nebo zhoršeným kognitivním stavem, což naznačuje bilaterální metabolické poškození v přítomnosti unilaterální stenózy ACI korelující s kognitivní funkcí (Saito H. et al., 2013). Snížení koncentrace NAA bylo pozorováno v souvislosti s poruchou kognitivních funkcí, která je popsána u pacientů se symptomatickou okluzí ACI (Bakker F.C. et al., 2000). Navíc byla prokázána korelace mezi objemem hipokampu a kognitivními funkcemi (Persson J. et al., 2012) souvisejícími s chronickou hypoperfuzí (Cechetti F. et al., 2012). V souladu s těmito studii bylo v aktuální práci nalezeno statisticky významné snížení objemu hipokampu u pacientů s okluzí ACI ve srovnání se zdravými kontrolami. Objem hipokampu byl nižší v obou hemisférách bez významných rozdílů mezi postiženou a kontralaterální stranou. V souladu s výsledky aktuální studie Avelar et al. zjistili významnou atrofii šedé a bílé hmoty obou hemisfér u kohorty 25 pacientů s těžkou karotickou stenózou/okluzí ve srovnání s kontrolami (Avelar W.M. et al., 2015). Tyto bilaterální anatomické změny spolu s dříve popsanými metabolickými změnami naznačují, že alterovaná hemodynamika na postižené straně nemůže zcela vysvětlit komplexní patologické jevy vyskytující se u pacientů s chronickou okluzí ACI.

6. Závěry

V podoboru **neuroonkologie** tato práce potvrzuje použitelnost a účinnost MRS jako neinvazivního radiologického nástroje v diferenciální diagnostice mezi recidivou tumoru a radionekrózou. Na specifické výzkumné otázky lze v závěru práce odpovědět takto:

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

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

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

7. Literatura

1. Alexiou GA, Tsiouris S, Kyritsis AP, Voulgaris S, Argyropoulou MI, Fotopoulos AD (2009) Glioma recurrence versus radiation necrosis: accuracy of current imaging modalities. *J Neurooncol* 95:1–11.
2. Avelar WM, D'Abreu A, Coan AC, Lima FO, Guimarães R, Yassuda CL, Oliveira GP, Guillaumon AT, Filho AA, Min LL, Cendes F (2015) Asymptomatic Carotid Stenosis is Associated with Gray and White Matter Damage. *International Journal of Stroke* 10:1197–1203.
3. Bakker FC, Klijn CJ, Jennekens-Schinkel A, Kappelle LJ (2000) Cognitive disorders in patients with occlusive disease of the carotid artery: a systematic review of the literature. *J Neurol* 247:669–676.
4. Bivard A, Yassi N, Krishnamurthy V, Lin L, Levi C, Spratt NJ, Mittef F, Davis S, Parsons M (2016) A comprehensive analysis of metabolic changes in the salvaged penumbra. *Neuroradiology* 58:409–415.
5. Cechetti F, Pagnussat AS, Worm PV, Elsner VR, Ben J, da Costa MS, Mestriner R, Weis SN, Netto CA (2012) Chronic brain hypoperfusion causes early glial activation and neuronal death, and subsequent long-term memory impairment. *Brain Res Bull* 87:109–116.
6. Dowling C, Bollen AW, Noworolski SM, McDermott MW, Barbaro NM, Day MR, Henry RG, Chang SM, Dillon WP, Nelson SJ, Vigneron DB (2001) Preoperative proton MR spectroscopic imaging of brain tumors: correlation with histopathologic analysis of resection specimens. *AJNR Am J Neuroradiol* 22:604–612.
7. Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N, Rosen B, Dale AM (2002) Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 33:341–355.
8. Isobe T, Matsumura A, Anno I, Yoshizawa T, Nagatomo Y, Itai Y, Nose T (2002) Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magn Reson Imaging* 20:343–349.
9. J. van der Grond, Balm R, Kappelle LJ, Eikelboom BC, Mali WP (1995) Cerebral metabolism of patients with stenosis or occlusion of the internal carotid artery. A ^1H -MR spectroscopic imaging study. *Stroke* 26:822–828.
10. Jiru F, Skoch A, Wagnerova D, Dezortova M, Hajek M (2013) jSIPRO – Analysis tool for magnetic resonance spectroscopic imaging. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 112:173–188.

11. Klijn CJM, Kappelle LJ, van der Grond J, Algra A, Tulleken CAF, van Gijn J (2000) Magnetic Resonance Techniques for the Identification of Patients With Symptomatic Carotid Artery Occlusion at High Risk of Cerebral Ischemic Events. *Stroke* 31:3001–3007.
12. Persson J, Pudas S, Lind J, Kauppi K, Nilsson L-G, Nyberg L (2012) Longitudinal structure-function correlates in elderly reveal MTL dysfunction with cognitive decline. *Cereb Cortex* 22:2297–2304.
13. Plotkin M, Eisenacher J, Bruhn H, Wurm R, Michel R, Stockhammer F, Feußner A, Dudeck O, Wust P, Felix R, Amthauer H (2004) 123 I-IMT SPECT and 1 HMR-Spectroscopy at 3.0T in the Differential Diagnosis of Recurrent or Residual Gliomas: A Comparative Study. *J Neurooncol* 70:49–58.
14. Prat R, Galeano I, Lucas A, Martínez JC, Martín M, Amador R, Reynés G (2010) Relative value of magnetic resonance spectroscopy, magnetic resonance perfusion, and 2-(18F) fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography for detection of recurrence or grade increase in gliomas. *Journal of Clinical Neuroscience* 17:50–53.
15. Provencher SW (1993) Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 30:672–679.
16. Rock JP, Hearshen D, Scarpace L, Croteau D, Gutierrez J, Fisher JL, Rosenblum ML, Mikkelsen T (2002) Correlations between magnetic resonance spectroscopy and image-guided histopathology, with special attention to radiation necrosis. *Neurosurgery* 51:912–919; discussion 919-920.
17. Saito H, Ogasawara K, Nishimoto H, Yoshioka Y, Murakami T, Fujiwara S, Sasaki M, Kobayashi M, Yoshida K, Kubo Y, Beppu T, Ogawa A (2013) Postoperative Changes in Cerebral Metabolites Associated with Cognitive Improvement and Impairment after Carotid Endarterectomy: A 3T Proton MR Spectroscopy Study. *AJNR Am J Neuroradiol* 34:976–982.
18. Seeger A, Braun C, Skardelly M, Paulsen F, Schittenhelm J, Ernemann U, Bisdas S (2013) Comparison of Three Different MR Perfusion Techniques and MR Spectroscopy for Multiparametric Assessment in Distinguishing Recurrent High-Grade Gliomas from Stable Disease. *Academic Radiology* 20:1557–1565.
19. Sharma VK, Tsivgoulis G, Ning C, Teoh HL, Bairaktaris C, Chong VF, Ong BK, Chan BP, Sinha AK (2008) Role of Multimodal Evaluation of Cerebral Hemodynamics in Selecting Patients with Symptomatic Carotid or Middle Cerebral Artery Steno-occlusive Disease for Revascularization. *J Vasc Interv Neurol* 1:96–101.

20. Siu A, Wind JJ, Iorgulescu JB, Chan TA, Yamada Y, Sherman JH (2012) Radiation necrosis following treatment of high grade glioma--a review of the literature and current understanding. *Acta Neurochir (Wien)* 154:191–201; discussion 201.
21. Walker PM, Ben Salem D, Giroud M, Brunotte F (2006) Is NAA reduction in normal contralateral cerebral tissue in stroke patients dependent on underlying risk factors? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:596–600.
22. Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, Gerig G (2006) User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: Significantly improved efficiency and reliability. *NeuroImage* 31:1116–1128.

Přehled publikací autora

Publikace s IF, které jsou podkladem disertační práce

1. **Malucelli A**, Skoch A, Ostry S, Tomek A, Urbanova B, Martinkovic L, Buksakowska I, Mohapl M, Netuka D, Hort J, Sroubek J, Vrana J, Moravec T, Bartos R, Sames M, Hajek M, Horinek D (2021) Magnetic resonance markers of bilateral neuronal metabolic dysfunction in patients with unilateral internal carotid artery occlusion. *Magn Reson Mater Phy* 34:141-151. IF: 1,956
2. Bartoš R, Ospalík D, **Malucelli A**, Vachata P, Sameš M, Kazda T, Šmejkalová-Musilová D, Třebický F (2019) Retrospektivní autoevaluace výsledků operací intrinsických mozkových nádorů – konsekutivní kohorta 270 operací v rámci jednoho neurochirurgického centra NOS ČOS (Neuroonkologické sekce České onkologické společnosti) z let 2015-2017. *Cesk Slov Neurol N* 82/115:401-409. IF: 0,355
3. Wagnerova D, Herynek V, **Malucelli A**, Dezortova M, Vymazal J, Urgosik D, Syrucek M, Jiru F, Skoch A, Bartos R, Sames M, Hajek M (2012) Quantitative MR imaging and spectroscopy of brain tumors: A step forward? *Eur Radiol* 22:2307-18. IF: 3,594
4. Bartoš R, Sameš M, **Malucelli A**, Hejčl A, Ospalík D, Třebický F, Němcová V (2021) Komplexní léčba difuzních nízkostupňových gliomů – technika operování a onkologická léčba rezidua. *Cesk Slov Neurol N* 84/117:72-78. IF: 0,355

5. Hejčl A, Jiránková K, **Malucelli A**, Sejkorová A, Radovnický T, Bartoš R, Orlický M, Brušáková Š, Hrach K, Kastnerová J, Sameš M (2020) Selective internal carotid artery cross-clamping increases the specificity of cerebral oximetry for indication of shunting during carotid endarterectomy. *Acta Neurochir (Wien)* Oct 27. IF: 1,817
6. Bartoš R, Šoula O, Šimonová G, **Malucelli A**, Šmejkalová Musilová D, Třebický F, Liščák R, Klener J, Sameš M (2018) Léčba recidivy či rezidua multiformního glioblastomu pomocí stereotaktické radiochirurgie gama nožem – společně hodnocený soubor dvou neurochirurgických pracovišť. *Cesk Slov Neurol N* 81:556-562. IF: 0,355
7. Herynek V, Wagnerova D, **Malucelli A**, Vymazal J, Sames M, Hajek M (2015) Alterations in the basal ganglia in patients with brain tumours may be due to excessive iron deposition. *Oncology letters* 9:43-46. IF: 1,554

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

Publikace bez IF, které jsou podkladem disertační práce

8. **Malucelli A**, Pajuelo D, Dezortova M, Bartos R, Sames M, Hajek M. The best MR spectroscopy cut-off parameters in differential diagnosis between glioma recurrence and radionecrosis: a prospective study. V recenzním řízení časopisu *Eur Radiol*
9. Bartoš R, **Malucelli A**, Hejčl A, Humhej I, Bolcha M, Radovnický T, Orlický M, Vachata P, Sameš M, Třebický F, Pukyová J, Musilová D, Šulc D. Resekce recidivy multiformního glioblastomu – vyhodnocení komplikací a významu pro pacienta. Kapitola v knize: „Gliomy: současná diagnostika a léčba“, Pavel Šlampa a kol., Maxdorf 2013, ISBN 978-80-7345-321-3

Publikace s IF bez vztahu k tématu disertační práce

10. Bartoš R, Bejšovec D, **Malucelli A**, Prokšová J, Lodin J, Čapek Š, Sameš M (2017) „Awake“ resekce gliomu v poloze pacienta v polosedě – kazuistika. *Cesk Slov Neurol N* 80/113:220-223. IF: 0,508
11. Bartoš R, Němcová V, Radovnický T, Sejkorová A, **Malucelli A**, Orlický M, Třebický F, Sameš M (2016) Gliomy limbického a paralimbického systému, technika a výsledky resekcí. *Cesk Slov Neurol N* 79/112:131-147. IF: 0,368
12. Bartoš R, **Malucelli A**, Bartoš P, Adámek D, Zárubová J, Sameš M (2015) Ovlivnění výsledku traktografie pyramidové dráhy volbou oblastí zájmu trasování – kazuistika. *Cesk Slov Neurol N* 78/111:354-358. IF: 0,209

13. Bartoš R, **Malucelli A**, Radovnický T, Hejčl A, Ceé J, Bartoš P, Sameš M (2014) Volumetrické hodnocení resektability gliomů inzuly. *Cesk Slov Neurol N* 77/110:568-575. IF: 0,165
14. Bartoš R, Třebický F, **Malucelli A**, Hejčl A, Zárubová J, Hořínek D, Peter R, Sameš M (2014) Volumetrické vyhodnocení efektu následné onkologické léčby při inoperabilní progresi či reziduu nízkostupňového gliomu. *Cesk Slov Neurol N* 77/110:216-222. IF: 0,165
15. Zolal A, Hejcl A, **Malucelli A**, Novakova M, Vachata P, Bartos R, Derner M, Sames M (2013) Distant white-matter diffusion changes caused by tumor growth. *Journal of Neuroradiology* 40:71-80. IF: 1,753
16. Zolal A, Hejcl A, Vachata P, Bartos R, Humhej I, **Malucelli A**, Novakova M, Hrach K, Derner M, Sames M (2012) The use of DTI images of the corticospinal tract in intrinsic brain tumor surgery - a comparison with direct subcortical stimulation. *Neurosurgery* 71:331-40. IF: 3,298
17. Zolal A, Sames M, Burian M, Novakova M, **Malucelli A**, Hejcl A, Bartos R, Vachata P, Derner M (2012) The effect of a gadolinium-based contrast agent on diffusion tensor imaging. *Eur J Radiol* 81:1877-82. IF: 2,941
18. Zolal A, Vachata P, Hejcl A, Bartos R, **Malucelli A**, Novakova M, Derner M, Sames M (2012) Anatomy of the supraventricular portion of the pyramidal tract. *Acta Neurochir (Wien)* 154:1097-104. IF: 1,329
19. Hejčl A, Bartoš R, Zolal A, **Malucelli A**, Sameš M, Petrovický P (2012) Laboratorní preparace drah z mediálního pohledu na mozkovou hemisféru. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:707-713. IF: 0,372
20. Bartoš R, **Malucelli A**, Provazníková E, Radovnický T, Zolal A, Hejčl A, Sameš M (2012) Zadní interhemisférický prekuneální/transspleniální přístup k intrinsickým mozkovým lézím. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:354-358. IF: 0,372
21. Šlampa P, Fadrus P, Ehrmann J, Kolář Z, Dubinský P, Bolješiková E, Šedo A, **Malucelli A**, Malinová B, Růčka J, Slabý O, Lakomý R (2012) Novinky v diagnostice a léčbě primárních nádorů mozku – závěry mezioborového setkání „Winter GLIO TRACK Meeting“ 2012. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:261-262. IF: 0,372
22. Bartoš R, Hejčl A, Zolal A, **Malucelli A**, Sameš M, Petrovický P (2012) Laboratorní disekce drah laterálního aspektu mozkové hemisféry. *Cesk Slov Neurol N* 75/108:30-37. IF: 0,372
23. Bartoš R, Vachata P, Hejčl A, Zolal A, **Malucelli A**, Radovnický T, Posltová M, Cihlár F, Derner M, Sameš M (2011) Vliv funkčního mapování na výsledky operací nízkostupňových gliomů WHO grade II. *Cesk Slov Neurol N* 74/107:292-298. IF: 0,279

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

Publikace bez IF bez vztahu k tématu disertační práce

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

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

Celkový IF: 23,703