

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

В.О. Рогожин,
З.З. Рожкова,
Л.Г. Кириллова

Науковий діагностичний
центр «Здоров'я літніх людей»,
м. Київ

Застосування методу in vivo магнітнорезонансної спектроскопії на ядрах ^1H для дослідження метаболізму головного мозку плода

In vivo ^1H magnetic resonance spectroscopy in investigation of fetus brain metabolism

Цель работы: Изучить возможности in vivo магнитнорезонансной спектроскопии на ядрах ^1H для исследования метаболизма головного мозга плода (ГМП).

Материалы и методы: Методом in vivo магнитнорезонансной спектроскопии на ядрах ^1H исследованы 36 женщин с одноплодной беременностью: 15 здоровых женщин с нормально протекающей и 21 — с осложненной (у 7 выявлен высокий титр антител к цитомегаловирусу и герпес-вирусу, а у 14 в анамнезе имелись данные об осложнениях в предшествующих беременностях). Сигнал воды использован в качестве внутреннего стандарта для определения абсолютных значений концентраций основных метаболитов ткани ГМП.

Результаты: Из спектров ^1H определено содержание (ммоль/л) в ткани ГМП следующих четырех основных метаболитов: NAA ($5,034 \pm 1,3$), Cr ($4,24 \pm 1,1$), Cho ($3,6 \pm 0,7$) и Ino ($8,14 \pm 1,3$). Содержание NAA не всегда удается определить с достаточно высокой точностью вследствие перекрытия сигналов липидов от смежной жировой ткани брюшной полости матери и сигналов NAA от ткани ГМП.

Выводы: In vivo магнитнорезонансная спектроскопия на ядрах ^1H (МРС) является высокоэффективным и неинвазивным методом мониторинга состояния плода. Полученные в работе данные о содержании в ткани ГМП четырех основных метаболитов соответствуют наблюдаемым для новорожденных в возрасте 36–41 неделя с момента зачатия.

Ключевые слова: магнитнорезонансная спектроскопия, головной мозг плода, метаболит, гипоксия, энцефалопатия.

Objective: To study the capabilities of in vivo ^1H magnetic resonance spectroscopy in investigation of the fetal brain metabolism.

Material and Methods: In vivo ^1H magnetic resonance spectroscopy was used to investigate 36 women with single pregnancy, of them 15 healthy subjects with normal pregnancy and 21 with complicated pregnancy (7 with high antibody titer to cytomegalovirus and herpes virus, 14 with the history of complications during previous pregnancies). Water signal was used as an inner standard for determining absolute values and concentrations of main metabolites in the fetal brain.

Results: The following amounts of four main metabolites were determined from ^1H spectra (mmol/l): NAA (5.034 ± 1.3), Cr (4.24 ± 1.1), Cho (3.6 ± 0.7), Ino (8.14 ± 1.3). It was not always possible to determine NAA amount with high accuracy as they were covered by lipid signals from the adjacent fat tissue of the abdominal cavity of the mother and NAA signals from the fetal brain tissue.

Conclusion: In vivo ^1H magnetic resonance spectroscopy is a highly effective noninvasive technique for the fetus state monitoring. The obtained data about the amount of the four main metabolites in the fetal brain tissue correspond to those observed in the newborns at 36–41 weeks of gestation.

Key words: magnetic resonance spectroscopy, fetus brain, metabolite, hypoxia, encephalopathy.

Рівень насичення головного мозку плода (ГМП) киснем і його метаболічний склад є важливими показниками, які характеризують стан плода в процесі його розвитку. Як відомо, основною проблемою, з якою стикаються сучасні методи моніторингу стану плода, є їх низька чутливість для детектування гіпоксії ГМП — однієї з головних причин розвитку неврологічної патології [1]. Це стосується, насамперед, таких методів, як ультрасонографія та кардіотокографія, які дозволяють отримати лише непрямі дані щодо процесів оксигенації й не дають інформації про вміст метаболітів у ГМП.

In vivo магнітнорезонансна спектроскопія на ядрах ^1H (МРС) — вискоєфективний і неінвазивний метод, який дозволяє отримувати

in vivo та in vitro інформацію про метаболічний склад тканини ГМП [1–4]. У педіатрії МРС застосовують для діагностики гіпоксично-ішемічної енцефалопатії, деяких видів лейкоенцефалопатії, мітохондріальних порушень та інших захворювань, пов'язаних із патологічною зміною метаболізму [5]. В спектрі ^1H мозку здорових людей спостерігаються сигнали чотирьох основних метаболітів: N-ацетиласпартату (NAA), креатину (Cr), холіну (Cho) та інозитолу (Ino). Нейрони та аксони вміщують NAA, отже, зменшення концентрації даного метаболіту в тканині головного мозку стає ознакою нейронального дефіциту, що розвивається внаслідок ушкодження зазначених клітин (наприклад, через гіпоксію). Інтенсивність

сигналу Cr віддзеркалює сумарний вміст Cr та фосфокреатину (PCr) — метаболітів, які беруть участь у процесах енергообміну. При гіпоксії концентрації цих сполук зменшуються. В процесі мієлінізації бере участь Cho, і його вміст відбиває процеси метаболізму мембранних ліпідів. Головна функція Ino — участь у процесах осморегуляції, живлення клітин та детоксикації.

Мета даної роботи — вивчення особливостей метаболізму ГМП людини в нормі та в разі підозри патології розвитку шляхом кількісного визначення вмісту чотирьох основних метаболітів — NAA, Cr, Cho та Ino.

Методика дослідження

В експерименті взяли участь 36 жінок з одноплідною вагітністю: 15 здорових, з її нормальним перебігом, та 21 з ускладненою вагітністю (в 7 виявлено високий титр антитіл до цитомегаловірусу та герпес-вірусу, у 14 в анамнезі були ускладнення попередніх вагітностей). Усіх жінок ознайомили з особливостями даного експерименту, який проводили без седування. Добровільність участі в дослідженні підтверджувало письмове погодження кожної пацієнтки.

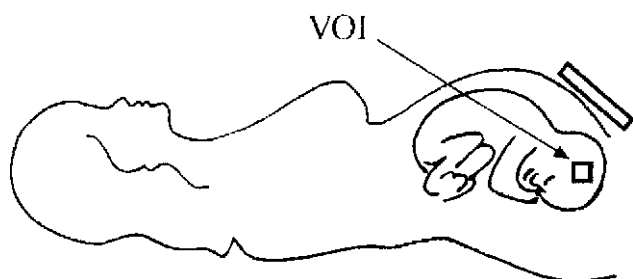


Рис. 1 — Приклад розташування приймальної котушки для отримання МР-зображень головного мозку плода та ^1H -спектрів у виділеній ділянці

Fig. 1 — Location of the receiving coil for obtaining MR images of H-1 spectra of the fetal brain in the defined region

Аналізували ^1H -спектри ГМП на 35–40-му тижні внутріутробного розвитку. Стан плода оцінювали за такими ознаками: відсутність уроджених аномалій розвитку, відповідність морфологічних показників терміну внутріутробного розвитку на момент проведення дослідження, нормальні реологічні показники крові пупкової артерії (за даними доплеросонографії) та нормальні параметри серцевої діяльності до і після МР-дослідження. Пацієнток досліджували в термін вагітності 35–40 тижнів, для всіх спостерігалось положення «передлягання головою», що забезпечувало мінімальну рухливість плода під час проведення обстеження й дозволяло уникнути в спектрах та на зображеннях артефактів, пов'язаних з рухами плода.

Магнітнорезонансні зображення й спектри ^1H отримали на томографі 1.5 T Magnetom Vision («Siemens»). На рис. 1 показано приклад розташування приймальної котушки для отримання МР-зображень ГМП та ^1H -спектрів у виділеній ділянці ГМП (volume of interest — VOI). Пацієнтку поміщали в томографі у положенні лежачи на спині вперед головою. Приймальну котушку закріплювали в ділянці малого таза. Щільність прилягання котушки й одночасно мінімальний тиск на ділянку порожнистої вени пацієнтки забезпечували спеціальною амортизуючою прокладкою. При такому взаємному розташуванні ГМП і активної зони приймальної котушки в ділянці локалізації (VOI), в якій отримують спектри ^1H , забезпечувалася висока однорідність зовнішнього магнітного поля.

Зображення ГМП у трьох проекціях: фронтальній, сагітальній та аксіальній були отримані з використанням імпульсної послідовності HASTE [6]. За цими зображеннями, наведеними на рис. 2, проводили позиціонування ділянки локалізації, в якій реєструвалися спектри. Відзначимо, що послідовності HASTE, які широко використовуються для сильно зважених T2 зображень органів черевної порожнини, із характерними великими значеннями часу спин-спинової релаксації T2 дуже ефективні для отримання за короткої час чітких зображень структур ГМП. Методи HASTE — це комбінація швидких послідовностей спінового еха (FSE) та швидких методів реконструкції МР-зображень (half-Fourier reconstruction — HASTE). Застосування цих методів дозволяє збирати половину даних уздовж виділеного в k-просторі напрямку k_y (позитивні та негативні лінії Фур'є). В результаті скорочення часу отримання сильно зважених за T2 зображень вдається провести збір даних від кількох шарів протягом одного акту затримки дихання. На такому зображенні контрастність зростає в $\sqrt{2}$ разів порівняно з отриманим за допомогою звичайної послідовності спінового еха. Просторове розрізнення при цьому не погіршується. Викори-

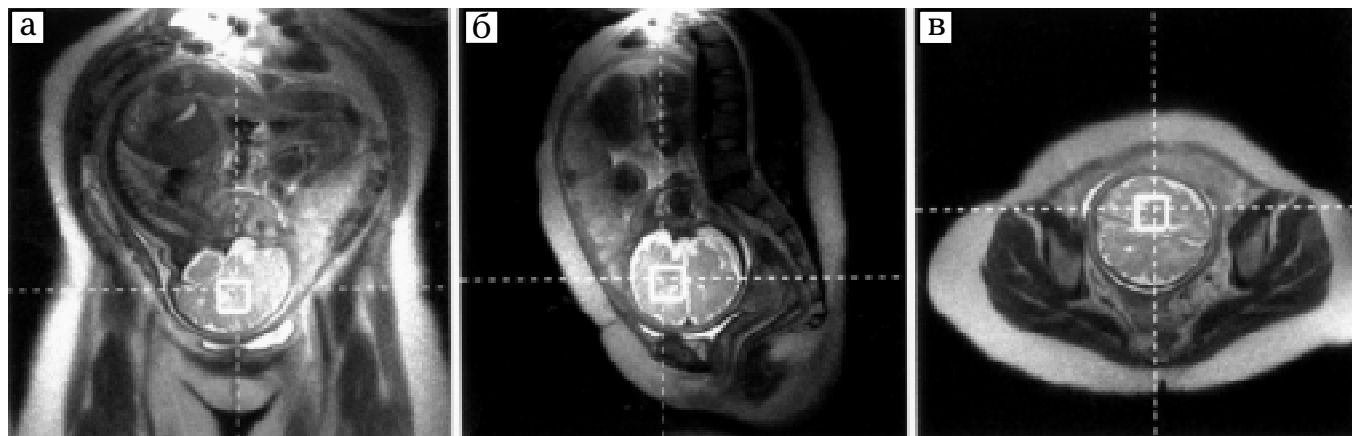


Рис. 2 — Зображення головного мозку плода (36 тижнів внутріутробного розвитку) в трьох проекціях: а — фронтальній, б — сагітальній та в — аксіальній

Fig. 2 — The image of the fetal brain (36 weeks of gestation) in three projections: a — frontal, б — sagittal, в — axial

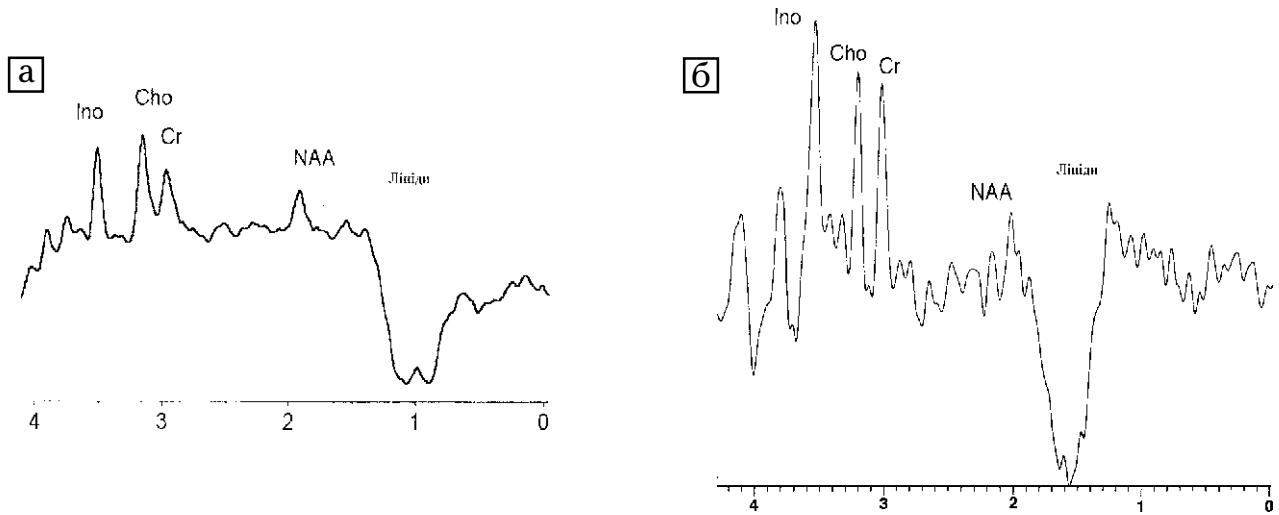


Рис. 3 — ^1H -спектр головного мозку плода (36-й тиждень внутріутробного розвитку): а — який розвивається нормально; б — з підозрою на гіпоксичне ураження

Fig. 3 — ^1H -spectrum of fetus brain at 36 weeks of gestation: a – normal development; б – suspected hypoxic lesion

стання періоду повторювання (TR) й періоду формування спінового еха (TE) більшої тривалості дає високу концентрацію структур із більшим вмістом води.

На рис. 2 наведено зображення ГМП (36 тижнів вагітності) у трьох проекціях: фронтальній (а), сагітальній (б) та аксіальній (в). Куб розміром $10 \times 10 \times 10 \text{ см}^3$ відповідає ділянці локалізації (VOI), в якій були отримані спектри ^1H , подані на рис. 3.

Для отримання спектрів використана імпульсна послідовність STEAM із такими параметрами збору даних: TR = 2500 мс, TE = 20 мс, час змішування TM = 30 мс, VOI = $10 \times 10 \times 10 \text{ см}^3$, NS = 128. У кожному VOI як внутрішній стандарт використано сигнал води.

Результати та їх обговорення

На рис. 3 наведені приклади спектрів ГМП на 36-му тижні внутріутробного розвитку. На рис. 3а — спектр головного мозку плода, який розвивається нормально, а на рис. 3б — спектр ГМП в тому випадку, коли в матері виявлено високий титр антитіл до цитомегаловірусу та, як наслідок, припускається гіпоксичне ураження ГМП.

У спектрі визначаються сигнали таких основних метаболітів: NAA ($\delta = 2,04 \text{ м.д.}$), Cr ($\delta = 2,04 \text{ м.д.}$), Cho ($\delta = 3,24 \text{ м.д.}$) та Ino ($\delta = 3,52 \text{ м.д.}$). У протифазі до основних сигналів спостерігається уширений сигнал ліпідів (в інтервалі значень хімічних зсувів від $\delta = 0,9$ до $1,5 \text{ м.д.}$). У різних ділянках головного мозку новонароджених при аналогічних параметрах збору й обробки даних спостерігають схожі спектри. Рухи плода є основними факторами, які суттєво погіршують якість спектрів. Зокрема, за рахунок рухів плода погіршується

відношення сигнал/шум, розрізнення спектральних ліній, що ускладнює вимірювання значень інтегральної інтенсивності МР-сигналів. У деяких випадках через накладання сигналу NAA від ГМП і сигналу ліпідів від сусідньої з ним жирової тканини черевної порожнини матері немає можливості точно визначити вміст цього метаболіту. На підставі аналізу спектрів ми знаходили абсолютні значення вмісту основних метаболітів у тканині ГМП. Отримані в даному дослідженні середні значення вмісту основних метаболітів ГМП у віці від 36 до 40 тижнів вагітності наведені в табл. 1 (другий стовпчик). Для порівняння, за результатами [2, 3, 7], у стовпчиках 3–5 табл. 1 наведені абсолютні значення вмісту метаболітів у тканині головного мозку новонароджених, які народилися на 36–40-му тижні внутріутробного розвитку.

Відзначимо, що в даній роботі параметри збору даних оптимізовані для отримання спектрів доброї якості, в яких забезпечується високе розрізнення сигналів чотирьох основних метаболітів, відсутня неточність визначення значень інтегральної інтенсивності сигналів за рахунок їх неідеально настроєної фази та викривлення базової лінії. В спектрах, отриманих з більшими значеннями TE, не вдається точно виміряти інтегральну інтенсивність сигналу Ino [8], а отже, з високою точністю визначити вміст усіх чотирьох метаболітів. Як можна побачити з рис. 3, у спектрах спосте-

Таблиця 1 — Середні значення абсолютної концентрації метаболітів (ммоль/л) у тканині ГМП
Mean values of absolute concentration of metabolites (mmol/l) in the fetal brain

Показник	Результати даного дослідження	Результати, наведені в працях		
		[2]	[3]	[7]
Вік внутріутробного розвитку (тижні)	36–41	38,7 ± 0,7	29–40	36–41
Ділянка локалізації	Тім'я — скроня	Тім'я — скроня	Тім'я — потилиця	Лоб — скроня
NAA	5,034 ± 1,3	4,82 ± 0,54	3,6 ± 1,2	5,23 ± 0,57
Cr	4,24 ± 1,1	6,33 ± 0,32	6,6 ± 2,1	4,69 ± 0,7
Cho	3,6 ± 0,7	2,41 ± 0,11	2,0 ± 0,7	2,61 ± 0,54
Ino	8,14 ± 1,3	10,1 ± 1,1	—	6,99 ± 1,98
Напруженість поля	1,5 Тл	1,5 Тл	2,4 Тл	1,5 Тл
Імпульсна послідовність	STEAM	STEAM	PRESS	STEAM
TR, мс	2500	1500–5000	5000	2000
TE, мс	20	30	270	7

рігається високе значення відношення сигнал/шум, і, таким чином, вибрана нами кількість накопичень $NC = 128$ також є оптимальною для даної задачі: відсутні артефакти внаслідок рухів плода й водночас спостерігається спектр доброї якості. В спектрах ГМП з нормальним перебігом вагітності спостерігаються сигнали NAA, Cr, Cho та Ino, й відношення NAA/Cr, NAA/Cho, Cho/Cr, Cho/Ino інтегральних інтенсивностей цих метаболітів приблизно однакові. Під дією постійної гіпоксії в спектрах зростає інтенсивність сигналу лактату й убуває відношення NAA/Cho. Зменшення відношення NAA/Cho, певно, є наслідком убування інтенсивності сигналу NAA, оскільки, згідно з [9], вміст Cho не повинен змінюватися під впливом гіпоксії. Це припущення базується також на даних роботи [10], в якій показано, що убування інтенсивності сигналу NAA є наслідком нейронального дефіциту або патологічної зміни функцій нейронів, що виникає під дією мітохондріальних порушень. Нині специфічні біохемічні функції Ino невідомі, проте в [5] показано, що цей метаболіт бере участь у процесах осморегуляції. Інтенсивність сигналу Ino істотно змінюється в спектрах головного мозку хворих на діабет залежно від вмісту глюкози в крові [11], стану хворого, тривалості й тяжкості хвороби, а також наявності супровідних захворювань. У [12] показано, що сигнал Ino може бути маркером такого захворювання, як синдром Дауна.

Оскільки метод 1H МРС дає можливість визначати вміст даних метаболітів й досліджувати їх зміну в процесі розвитку ГМП, можна оцінити також і неврологічний статус плода. Зокрема, визначати, наскільки відповідає нормі метаболізм ГМП на даному етапі його розвитку й у випадку, якщо є підозра на несприятливий перебіг вагітності, оцінювати ступінь вираженості асфіксії.

У табл. 1 наведені абсолютні концентрації основних метаболітів, які містяться в тканині ГМП, і для порівняння — результати, отримані в [2, 3, 7] при 1H МРС-дослідженні головного мозку новонароджених, вік яких становив 36–41 тиждень з моменту зачаття. Дані про вміст NAA та Ino, отримані нами, відповідають наведеним у [2, 3, 7] для дітей, народжених вчасно, а також у результаті передчасних пологів. Втім у нашому дослідженні спостерігається більш низький вміст Cr та більш високий — Cho. Відзначена відмінність може бути пов'язаною з просторовою неоднорідністю розподілу метаболітів у тканині головного мозку [13–15] та неточністю локалізації VOI в ГМП, а також віковою залежністю вмісту метаболітів, що є найбільш суттєвим для ГМП, який розвивається. Згідно з даними [16], гіпоталамус і базальні ганглії належать до більш зрілих структур головного мозку. Цим пояснюється більш високий вміст NAA і Cr в цих ділянках головного мозку. Поряд з тим периферичні зони мозку визрівають повільніше,

і в цих ділянках визначається більш низький вміст метаболітів [7]. Оскільки ми отримуємо спектр у досить великому об'ємі тканин головного мозку, ми визначаємо усереднене по кількох ділянках головного мозку значення концентрації метаболітів (вибір більшого об'єму диктується необхідністю отримання спектра з високим значенням відношення сигнал/шум). Ідеальним варіантом для вивчення зміни метаболізму головного мозку людини в процесі його розвитку є дослідження групи волонтерів у процесі внутрішнього розвитку, в ранньому дитячому та зрілому віці, а потім у процесі старіння. Це дозволить не тільки оцінити внесок у вміст метаболітів регіонарних та вікових особливостей головного мозку, але й урахувати вплив на ці значення таких факторів, як умови проведення експерименту й методи обробки даних.

Як уже було зазначено вище, значення інтегральної інтенсивності сигналу НАА не завжди вдається визначити з досить високою точністю внаслідок перекривання в цій ділянці спектра сигналу НАА й ліпідів від сусідньої з ГМП жирової тканини черевної порожнини матері. Щоб запобігти перекриванню цих спектральних ліній, а також сигналів, для яких різниця хемічних зсувів менше 2,0 м.д. (наприклад, лактату), доводиться варіювати тривалість TE і розмір VOI, ретельніше проводити вибір шару, а також віднімання зі спектра сигналів від периферичних ділянок VOI. Зменшення розміру VOI спричиняє скорочення внеску від сигналів ліпідів, але водночас зменшує відношення сигнал/шум. Експериментально підібраний розмір VOI забезпечує досить високу точність визначення інтегральної інтенсивності сигналів основних метаболітів і одночасно мінімальний внесок від ліпідів суміжних з ГМП структур. У разі збільшення TE (при TE = 135 або 270 мс) інтенсивність сигналів протонів тригліцеридів знижується, оскільки зменшується внесок сигналів із короткими T2. У цьому випадку за рахунок включення руйнівальних градієнтів (spoiler gradients) вдається більш ефективно пригнітити остаточну поперечну намагніченість та, як наслідок, зменшити внесок від сигналів ліпідів і підвищити розрізнення для детекту-

вання сигналів протонів метильних груп НАА.

Висновки

1. ^1H МРС — високоефективний неінвазивний метод вивчення метаболізму ГМП в процесі його розвитку.

2. Незважаючи на певні технічні труднощі вдається підібрати умови проведення дослідження, які забезпечують отримання спектрів високої якості і дозволяють кількісно визначати вміст основних метаболітів у тканині ГМП. Отримані нами дані сприяють кращому розумінню метаболічних процесів у тканині головного мозку, який нормально розвивається, а також такого, що зазнає гіпоксії, та у разі загрози гіпоксичної ішемічної енцефалопатії.

Література

1. Barkovich A.J., Baranski K., Vigneron D. et al. // *Am. J. Neuroradiol.* — 1999. — Vol. 20. — P. 1399–1405.
2. Kreis R., Ernst T., Ross B.D. // *Magn. Reson. Med.* — 1993. — Vol. 30. — P. 424–437.
3. Cady E.B., Penrice J., Amess P.N. et al. // *Ibid.* — 1996. — Vol. 36. — P. 878–886.
4. Inder T.E., Huppi P.S. // *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* — 2000. — Vol. 6. — P. 59–67.
5. Huppi P.S., Barnes P.D. // *Clin. Perinatol.* — 1997. — Vol. 24. — P. 693–723.
6. C.Goede, J.F.Debatin // *Ultrafast Magnetic Resonance Imaging of the Abdomen.* — 1999. — P. 218–242.
7. Huppi P.S., Fusch C., Boesch C. et al. // *Pediatr. Res.* — 1995. — Vol. 37. — P. 145–150.
8. Heerschap A., van den Berg P.P. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1994. — Vol. 170. — P. 1150–1151.
9. Van Cappelen van Walsum A.M., Heerschap A., Nijhuis J.G. et al. // *Ibid.* — 1999. — Vol. 181. — P. 1537–1545.
10. De Stephano N., Matthews P.M., Arnold D.L. // *Magn. Res. Med.* — 1995. — Vol. 34. — P. 721–727.
11. Kreis R., Ross B.D. // *Radiol.* — 1992. — Vol. 184. — P. 123–130.
12. Berry G.T., Wang Z.J., Dreba S.F., Finucane B.M. et al. // *J. Pediatr.* — 1999. — Vol. 135. — P. 94–97.
13. Pouwels P.J., Frahm J. // *Magn. Reson. Med.* — 1998. — Vol. 39. — P. 53–60.
14. Frahm J., Bruhn H., Gyndell M.L. et al. // *Ibid.* — 1989. — Vol. 11. — P. 47–63.
15. Knaap van der M.S., van den Grond J., van Rijen P.C. et al. // *Radiol.* — 1990. — Vol. 176. — P. 509–515.
16. Peden C.J., Cowen F.M., Bryant D.J. et al. // *J. Comput. Assist. Tomogr.* — 1990. — Vol. 14. — P. 886–894.

Дата надходження: 12.07.2002.

Адреса для листування:
Рожкова Зінаїда Залманівна,
НДЦ «Здоров'я літніх людей» АМНУ,
вул. Мануїльського, 32, Київ, 04050, Україна