

**ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ  
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ**

**СОГЛАСОВАНО**

Главный внештатный детский  
специалист нейрохирург  
Департамента здравоохранения  
города Москвы



**Ж.Б. Семенова**

2019 г.

**РЕКОМЕНДОВАНО**

Экспертным советом по науке  
Департамента здравоохранения  
города Москвы № 17



30.05.2019 г.

**ВОЗМОЖНОСТИ МУЛЬТИВОКСЕЛЬНОЙ МАГНИТНО-  
РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ПРИ ЧЕРЕПНО-  
МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ И ЕЕ ПОСЛЕДСТВИЯХ**

Методические рекомендации № 96

Москва 2019

**ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ**

**НИИ НЕОТЛОЖНОЙ ДЕТСКОЙ ХИРУРГИИ  
И ТРАВМАТОЛОГИИ**

**ВОЗМОЖНОСТИ МУЛЬТИВОКСЕЛЬНОЙ МАГНИТНО-  
РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ПРИ ЧЕРЕПНО-  
МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ И ЕЕ ПОСЛЕДСТВИЯХ**

*Методические рекомендации №*

**Москва 2019**

УДК 616.073

ББК 53.6

С-

**Организация-разработчик:**

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения города Москвы

**Составители:**

- Семенова Н.А., д.б.н., г.н.с. отдела лучевых методов диагностики;

- Ахлебинина М.И., врач-рентгенолог отдела лучевых методов диагностики;  
Манжурцев А.В., к.ф.-м.н., н.с. отдела лучевых методов диагностики;  
Мельников И.А., к.м.н., заведующий отделом КТ-МРТ;  
Ублинский М.В., к.б.н., н.с. отдела лучевых методов диагностики;  
Божко О.В., к.м.н., врач-рентгенолог отдела лучевых методов диагностики;  
Ахадов Т.А. д.м.н., проф., руководитель отдела лучевых методов диагностики;

**Рецензент:** Варфоломеев Сергей Дмитриевич, научный руководитель ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, член-корр. РАН

**Предназначение:** Методические рекомендации разработаны на основе данных мультивоксельной магнитно-резонансной спектроскопии на протонах ( $^1\text{H}$  МРС) и ядрах фосфора ( $^{31}\text{P}$  МРС) у детей с черепно-мозговой травмой, исследованных с целью выявления спектра повреждений головного мозга. Подобный системный анализ данных мультивоксельной МРС проведён в России впервые. В рекомендациях подробно описаны методики  $^1\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$  МРС, адаптированных к различным возрастным категориям и степени тяжести ЧМТ у детей, что позволяет в короткие сроки получать максимальную информацию о метаболизме головного мозга и причинах заболевания. Предназначены для врачей, научных сотрудников отделения лучевой диагностики, неврологов/эпилептологов, нейрохирургов, реаниматологов.

Данные методические рекомендации разработаны в ходе выполнения научно-исследовательской работы: "Организация и совершенствование методов лечебно-диагностического процесса у детей с нейрохирургической патологией и нейротравмой"

*Данный документ является собственностью Департамента здравоохранения города Москвы и не подлежит тиражированию и распространению без соответствующего разрешения.*



## АННОТАЦИЯ-

В последнее время разрабатываются новые биологически безопасные неинвазивные методы обнаружения и анализа повреждений, вызванных черепно-мозговой травмой (ЧМТ). Несмотря на то, что диагностика ЧМТ по-прежнему базируется на поиске нарушений анатомической структуры головного мозга, накапливаются данные, свидетельствующие о том, что для целого ряда заболеваний, нарушения метаболизма более чувствительны, чем повреждения анатомических структур. При ЧМТ эти данные свидетельствуют о значимости метаболических сдвигов в структурно сохранных церебральных зонах для диагностики ЧМТ, прогноза ее исхода и контроля эффективности терапии.

Магнитно-резонансная спектроскопия (МРС) — уникальный метод, позволяющей прижизненно измерять концентрации важнейших метаболитов, присутствующих в различных зонах мозга, и выявлять нарушения обменных процессов, обусловленные ЧМТ. Показателями повреждений обменных процессов являются изменения интенсивностей сигналов - клеточных и метаболических маркеров, по этому параметру определяют изменения концентраций соответствующих веществ в объеме интереса. Наиболее точным количественным методом определения локальных концентрационных сдвигов, а следовательно, повреждений метаболизма является одновоксельная МРС. Наряду с этим видом МРС возможны и менее точные оценки нарушений обменных процессов в локусах одного или нескольких томографических срезов (мультивоксельная МРС). Применение мультивоксельной МРС к исследованиям ЧМТ различной степени тяжести представляется привлекательным, поскольку позволяет провести скрининг метаболических сдвигов по соответствующим сигналам – маркерам и быстро принять решение относительно стратегии лечения, что в ЧМТ бывает необходимо.

Исследования тяжелой ЧМТ (тЧМТ) выявили эффективность мультивоксельной  $^1\text{H}$ МРС для оценки прогноза отрицательного исхода комы. Применение мультивоксельной  $^{31}\text{P}$  МРС в остром периоде тЧМТ позволило установить увеличение рН внутриклеточной среды в сером и белом веществе, что указывает на нарушение протонно-натриевого обмена, являющееся причиной внутриклеточного накопления воды. Важно отметить, что чувствительность структурной магнитно-резонансной томографии МРТ не позволяет выявить признаки отека в неповрежденном веществе мозга. Применение мультивоксельной  $^{31}\text{P}$  МРС при анализе метаболических сдвигов в мозге под влиянием потенциальных терапевтических факторов, например, гипербарической оксигенации, выявило эффективность этой методики, позволило определить

биохимические показатели действия кислорода под повышенным давлением и обнаружить возможный механизм его положительного влияния на нервную ткань

Оценка диагностической значимости мультिवоксельной  $^1\text{H}$  МРС при МР-негативной ЧМТ (сотрясение мозга) не дала положительных результатов вследствие низкой точности определения концентраций метаболитов.

Методические рекомендации разработаны на основе данных МРС у 143 пациентов в норме и с ЧМТ различной степени тяжести в остром и подостром посттравматических периодах, исследованных в течение трех лет с 2017 по 2019 год.

В методических рекомендациях описана оптимальная методика мультिवоксельной магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах  $^1\text{H}$  и созданная авторами оптимизированная методика  $^{31}\text{P}$  МРС, адаптированная к различным периодам и степени тяжести ЧМТ, определены границы и целесообразность использования метода для получения максимально полных сведений о прогнозе исхода тЧМТ и способах повышения эффективности лечения.

медицинской помощи.

Методические рекомендации предназначены для врачей лучевой диагностики, нейрохирургов, реаниматологов, научных сотрудников.

## ТЕРМИНЫ И СОКРАЩЕНИЯ:

**АДФ** – аденозиндифосфат

**АТФ** – аденозинтрифосфат

**Время сканирования** – время сканирования для получения изображения по одному протоколу

**Градиентное ЭХО (GE)** – сигнал, получаемый из сигнала затухания свободной индукции посредством биполярного переключения градиента, не осуществляет рефокусировки, устраняющей влияние неоднородности основного поля, и поэтому обычно используется с коротким временем ЭХО

**ГФХ** – глицерофосфорилхолин

**ГФЭ** – глицерофосфоэтаноламин

**Импульсная последовательность (ИП)** – совокупность радиочастотных (или градиентных) электромагнитных импульсов, используемых в сочетании с приемом МР сигнала.

**МР сигнал** – электромагнитный сигнал радиочастотного диапазона, создаваемый процессией поперечной намагниченности ядерных спинов.

**МРС** – магнитно-резонансная спектроскопия

**Спектр** – график зависимости амплитуды сигнала от частоты.

**Спин** – собственный угловой момент элементарной частицы или ядра, обуславливающий магнитный момент (поле)

**ФК** – фосфокреатин

**Фн** – неорганический фосфат

**ФС** – фосфаты сахаров

**ФХ** – фосфохолин

**ФЭ** – фосфоэтаноламин



**Cr** – креатин+фосфокреатин

**Cho** – холинсодержащие метаболиты

**FLAIR** (Fluid Attenuated Inversion Recovery) – импульсная последовательность инверсия восстановления с длинным временем инверсии для получения изображений со сниженным сигналом свободной воды.

**Glx** – глутамин+глутамат

**Lac** – лактат

**Lip** – липиды

**mI** – миоинозитол

**NAA** – N-ацетиласпартат

**NAD<sup>+</sup>** – никотинамиддинуклеотид

**TE** – время появления эхо – интервал времени между центрами 90-градусного импульса и эхо-сигналом

**TR** – интервал времени между началом цикла импульсной последовательности и началом следующего цикла импульсной последовательности

**VOI** (volume of interest – объем интереса) – область, в которой проводится исследование МРС.

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является широко распространенным заболеванием. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) частота ЧМТ составляет 3-4 на 1000 чел. населения. От ЧМТ ежегодно в мире гибнет 1,5 млн. чел., а 2,4 млн. становятся инвалидами. У больных с тяжелой ЧМТ (тЧМТ) в 100% случаев не удается полностью восстановить функции центральной нервной системы, и более 90% пациентов имеют выраженный неврологический дефицит. Уменьшение количества неблагоприятных исходов тЧМТ может быть достигнуто за счет повышения информативности оценок нарушений, развивающихся под влиянием ЧМТ.

Использование метода магнитно-резонансной спектроскопии (МРС) при исследовании ЧМТ в эксперименте и клинике показало, что в структурно сохранных церебральных зонах развиваются нарушения метаболизма, которым соответствуют нарушения функций центральной нервной системы (ЦНС), восстановление поврежденных травмой биологических функций сопровождается восстановлением нарушенных обменных процессов. Эти наблюдения явились доказательством целесообразности внедрения МРС в клинику для диагностики ЧМТ, прогноза ее исхода и контроля эффективности терапии.

В настоящее время в клинических исследованиях в основном применяется одновоксельная МРС, когда выбирается определённый объём (воксель), из которого получается только один спектр. Современные МР - томографы с напряженностью постоянного магнитного поля 3Тл позволяют получать данные о концентрациях протонсодержащих метаболитов объемах ткани порядка 3 см<sup>3</sup>. Поскольку протоны имеют максимальную магнитную восприимчивость, время исследования при работе на ядрах <sup>1</sup>Н минимально. Спектры с удовлетворительным соотношением сигнал/шум как правило, получают за несколько минут.

В <sup>1</sup>Н МР спектрах мозга в норме (рис 1) детектируется сигналы N-ацетильной группы N-ацетиласпартата (NAA,  $\delta = 2.0$  ppm), протонов группы  $-N^+(CH_3)_3$  холинсодержащих соединений (Cho,  $\delta = 3.2$  ppm), фосфокреатина + креатина (Cr,  $\delta = 3.0$  ppm),  $-CH_2-$  групп глутамата и глутамин (Glx,  $\delta = 2.2$  и  $3.7$  ppm), сигнал 1,3,4,6 - протонов шестичленного кольца инозитола (ml,  $\delta = 3.56$  ppm) [5]. В условиях гипоксии и ишемии в спектрах появляются сигналы метильной группы лактата (Lac,  $\delta = 1.34$  ppm). Сигнал метильных и метиленовых протонов (Lip,  $\delta = 0.9$  и  $1.3$ ), возникающий при некоторых патологических состояниях, обычно относят к жирнокислотным фрагментам липидов [5].



Два сигнала – NAA и mI используются как клеточные маркеры. Сигнал имеет примесь (~15%) N-ацетиласпартилглутамата (NAAG). NAA – аминокислота, содержащаяся исключительно в нейронах [12, 15], и представленная в мозге в относительно высоких концентрациях (~10-15 мМ) [15]. Основной путь синтеза NAA – из аспартата и ацетилкоэнзима-А [7]. Подавляющее большинство заболеваний центральной нервной системы характеризуется снижением интенсивности сигнала NAA в

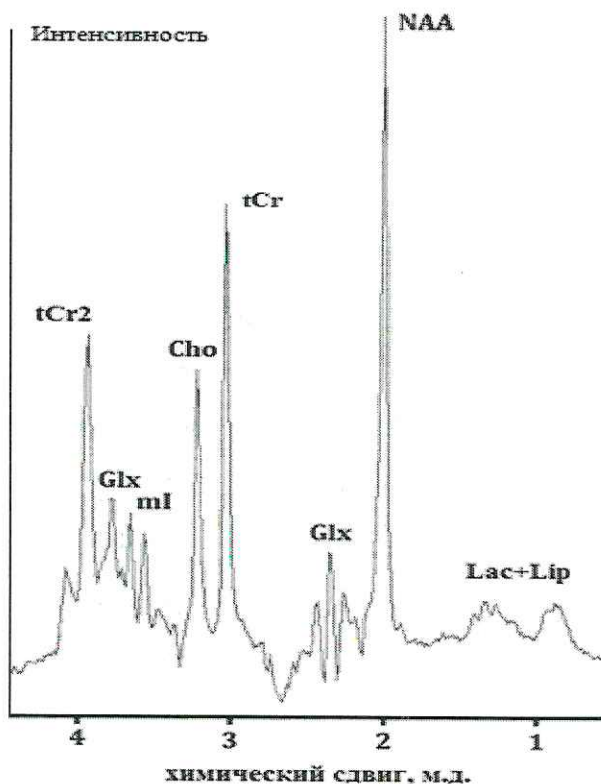


Рис. 1. Типичный  $^1\text{H}$  МР спектр головного мозга человека *in vivo*, зарегистрированный на томографе с напряженностью постоянного магнитного поля 3 Тл. NAA – N-ацетиласпаратат, Glx – суммарный сигнал глутамата и глутамина, tCr – суммарный сигнал креатина и фосфокреатина, Cho – холинсодержащие соединения, mI – миоинозитол, Lac+Lip – сигналы лактата и липидов

различных церебральных структурах. Восстановление NAA сопровождается восстановлением функции, поэтому концентрацию NAA связывают с уровнем нормально функционирующих нейронов [3, 4, 6]. Таким образом, сигнал NAA используется как неинвазивный нейрональный маркер, снижение и восстановление интенсивности этого сигнала является, соответственно, индикатором развития нейрональной дисфункции и восстановления функции нейронов в исследуемом объеме [2]. Сигнал mI - маркер астроцитов; рост интенсивности этого сигнала указывает на активацию глии или активацию пролиферации астроцитов [19]. Остальные сигналы относятся к соединениям, распространенным во всех типах клеток нервной ткани. Их используют как метаболические маркеры [20]. Суммарный сигнал креатина и креатинфосфата (tCr)

формируется участниками обратимой реакции фосфорилирования креатина ( $Cr$ ) фосфатной группой молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) с образованием креатинфосфата ( $PCr$ ) и молекулы аденозиндифосфата (АДФ) под действием фермента креатинкиназы. Равновесие смещается в сторону образования АТФ и  $Cr$  при необходимости восполнить энергозатраты, интенсивность сигнала  $tCr$  при этом остается постоянной [19]. Холинсодержащие соединения ( $Cho$ ) – суперпозиция участников липидного обмена: фосфохолина ( $PC$ ), глицерофосфохолина ( $GPC$ ) и холина. Раздельный анализ уровней  $PC$  и  $GPC$  возможно осуществлять с помощью  $^{31}P$  МРС [19].  $Glx$  включает в себя основной возбуждающий нейромедиатор центральной нервной системы  $Glu$ , который, является главным источником аспартата [14] и единственным субстратом  $\gamma$ -аминомасляной кислоты ( $GABA$ ) [8] – основного тормозного нейромедиатора. Наряду с  $Gln$  церебральный  $Glu$  вовлечен в цикл нейромедиаторов ( $Glu-Gln-GABA$ ), работа которого обеспечивает регуляцию процессов возбуждения - торможения [10, 13, 21]. Концентрация  $Lac$  в мозге человека в норме  $<1$  мМ, поэтому в нормальном мозге сигнал  $Lac$  не детектируется. Наличие этого сигнала в спектрах при ЧМТ указывает на развитие цитотоксического отека, который возникает вторично по отношению к тканевой гипоксии.

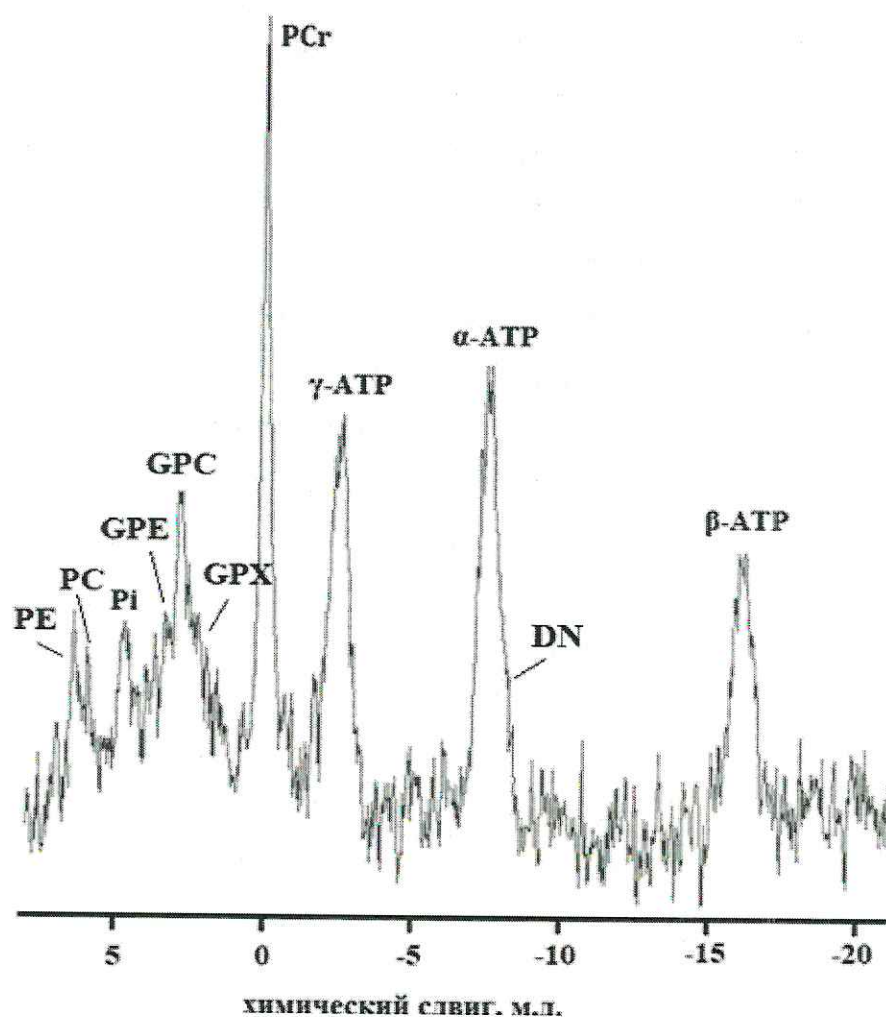




Рис. 6. Типичный  $^{31}\text{P}$  МРС спектр головного мозга человека *in vivo*,  $B_0 = 3$  Тл. PE –16GPX – неидентифицированные фосфодиэфиры, PCr – фосфокреатин, ATP – АТФ, DN – никотинамидадениндинуклеотид

$^{31}\text{P}$  МРС - уникальный метод для получения количественной информации об участниках энергетического и липидного обменных процессов. Ядро  $^{31}\text{P}$  обладает как преимуществами, так и недостатками по сравнению с ядром  $^1\text{H}$ . К преимуществам относится широкий диапазон  $\delta$ , в результате чего сигналы в спектре не перекрываются и их интенсивности могут быть легко подсчитаны. Отсутствует необходимость избавляться от интенсивного сигнала воды, который мешает получению спектральных данных при работе на ядрах  $^1\text{H}$ . К недостаткам  $^{31}\text{P}$  МРС относится низкая чувствительность. Магнитная восприимчивость ядер  $^{31}\text{P} = 0.066$  от магнитной восприимчивости ядер  $^1\text{H}$ , следовательно, чувствительность  $^{31}\text{P}$  МРС составляет 6.6 % от чувствительности протонов [11]. Это означает, что для получения сравнимого с протонными спектрами отношения сигнал\шум в спектрах  $^{31}\text{P}$  МРС необходимо соответственно увеличить VOI или время сканирования.

Метод  $^{31}\text{P}$  МРС позволяет детектировать вещества, являющиеся основными участниками энергетического обмена: АТФ, АДФ, фосфокреатин (ФК), неорганический фосфат (Фн), никотинамиддинуклеотид ( $\text{NAD}^+$ ), фосфаты сахаров (ФС), а также промежуточные продукты липидного обмена: фосфохолин (ФХ), фосфоэтанолламин (ФЭ), глицерофосфорилхолин (ГФХ), глицерофосфорилэтанолламин (ГФЭ) (см. рис. 2).

Из данных спектров  $^{31}\text{P}$  МРС могут быть вычислены значения pH внутриклеточной среды по величине химического сдвига сигнала неорганического фосфата  $\delta_{\text{Фн}}$  [16], который измеряют относительно химического сдвига фосфокреатина  $\delta_{\text{ФК}}$ . Поскольку  $\text{pK}_{\text{aФК}} = 4.6$ , значение  $\delta_{\text{ФК}}$  является константой в диапазоне pH, наблюдаемом в биологических системах, тогда как  $\text{pK}_{\text{aФн}} = 6.75$  и  $\delta_{\text{Фн}}$  зависит от кислотности среды в этом диапазоне pH. Регистрируемый в спектрах сигнал Фн относится к цитоплазматическому неорганическому фосфату, поэтому  $\delta_{\text{Фн}}$  является индикатором кислотности внутриклеточной среды. Кислотность вычисляют из формулы [5].

$$\text{pH}_{\text{int}} = 6.77 + \log\{(\delta_{\text{Фн}} - 3.29)/(5.68 - \delta_{\text{Фн}})\}$$

Изменения интенсивностей сигналов в спектрах (что соответствует изменению концентраций метаболитов) служат прижизненными индикаторами нарушений



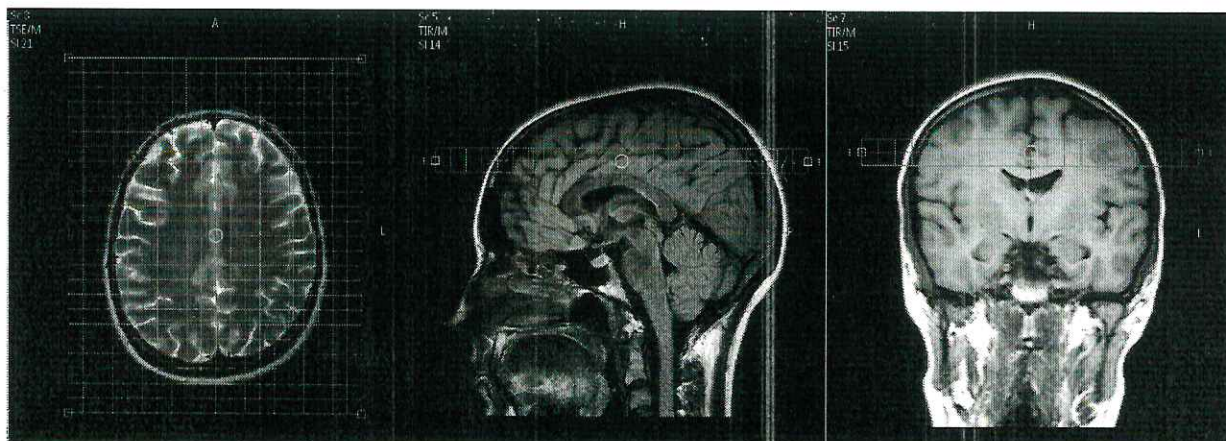
основных обменных процессов - аминокислотного, энергетического, липидного - в различных структурах мозга, дают информацию об особенностях метаболизма нейронов и глиальных клеток и могут использоваться как чувствительные диагностические и прогностические показатели патологических состояний мозга.

При мультिवоксельной МРС выбранный объем интереса делится на воксели, для каждого из которых получают спектр. Это, несомненно, увеличивает информативность исследования и представляется перспективным для проведения скрининга метаболических повреждений, когда необходимо быстро принять решение относительно выбора методов лечения. Однако применение мультिवоксельной МРС создает методические проблемы, связанные с необходимостью введения фазового кодирования, что увеличивает по сравнению с одновоксельной МРС зашумленность спектров. Кроме того, в большом объеме ткани, который исследуют методами мультिवоксельной МРС, неизбежно возрастет неоднородность постоянного магнитного поля, что также снижает соотношение сигнал-шум и спектральное разрешение. Перечисленные проблемы приводят к тому, что серьезно ухудшается точность определения концентраций и, соответственно, увеличивается риск ошибок в интерпретации данных. Отсюда возникает необходимость оценить целесообразность использования протонной и фосфорной мультिवоксельной МРС для исследования нарушений метаболизма при ЧМТ различной степени тяжести в разные периоды посттравматической болезни.

### Мультिवоксельная $^1\text{H}$ МРС

Исследования проводились на медицинском магнитно-резонансном томографе Phillips Achieva 3.0 Тл. Напряженность постоянного магнитного поля 3Тл, программное обеспечение – встроенный программный пакет ViewForum. Использовали 32-канальную приемную катушку для головы. Объем интереса (volume of interest, VOI) ориентировали по результатам диагностической МРТ - аксиальным, сагиттальным и коронарным изображениям (рис 3). Размер поля интереса (FOV) 230 x 190 мм, толщина среза 15,0 мм. Размеры VOI 100 мм x 150 мм x 10 мм. VOI располагали строго параллельно основанию черепа, над мозолистым телом в белом и сером веществе лобной и теменной долей. Однородность поля в зоне интереса оптимизировали с помощью автоматического шиммирования. Спектры регистрировали с помощью ИП 2D PRESS, время эха TE = 144 мс и релаксационная задержка TR = 2000 мс. Для сокращения времени набора спектра с помощью метода SENSE уменьшали число шагов фазового кодирования. Приемлемые значения сигнал/шум получали при NSA = 1 (NSA – число накоплений). Для подавления

сигнала воды использовали преднасыщающий импульс, параметры которого определялись автоматически.



а б в

Рис 3. Ориентация VOI 2D MPC на белое и серое вещество лобных и теменных долей мозга: а) аксиальная проекция T2ВИ SE, б) сагиттальная проекция T2ВИ ИП FLAIR, в) коронарная проекция T1ВИ ИП FLAIR. Спектры регистрировали с помощью оптимизированной ИП ISIS

### *Сегментация МР-анатомических изображений*

Одной из проблем при расчете концентраций и анализе спектральных данных, полученных из 2D МР спектров, является различный состав воксела - различные компартменты – серое вещество ГМ (GM), белое вещество ГМ (WM), и спинномозговую жидкость (CSF). Концентрации МР видимых метаболитов в GM и WM достоверно различаются (см. табл.1). Концентрации метаболитов в CSF на порядки ниже чем в веществе ГМ (мкМ/л в CSF по сравнению с мМ/л для GM и WM). Так как чувствительность  $^1\text{H}$  MPC не позволяет выделять на фоне шума сигналы метаболитов с концентрациями ниже 1мМ/л, в CSF их концентрация приравнивается к нулю. Все вышеперечисленные факты указывают на то, что сравнительный анализ относительных концентраций метаболитов, полученных в зонах мозга с различным содержанием компартментов, может привести к ошибкам. Серьезность этих ошибок значительно увеличивается в случае нормировки на сигнал неподавленной воды

Целью данной части работы является написание автоматизированной программы по созданию бинарных масок, выбранных VOI мультивоксельной MPC, полученных на МР томографах Philips, для дальнейшего ее использования в современном программном пакете обработки изображений FSL, который позволяет провести сегментацию на GM, WM и CSF по анатомическим МР изображениям. Используя полученные значения удастся ввести поправки для измерения более точного измерения концентраций:



$$[M] = \frac{S_{met} \times (f_{GM} \cdot R_{H_2O\_GM} + f_{WM} \cdot R_{H_2O\_WM} + f_{CSF} \cdot R_{H_2O\_CSF})}{S_{H_2O}(1 - f_{CSF}) \cdot R_M} \times \frac{\#H_{H_2O}}{\#H_{met}} \times [H_2O] \quad (1)$$

где  $S_{met}, S_{H_2O}$  – интегральные интенсивности сигналов метаболита и  $H_2O_{unsup}, \#H_{met}, \#H_{H_2O}$  – число протонов, которые дают сигнал интересующего метаболита и сигнал воды (для воды  $\#H_{H_2O} = 2$ ),  $[H_2O]$  – концентрация чистой воды в паренхиме мозга равная 55.51 моль/кг.  $f_{GM}, f_{WM}, f_{CSF}$  – фракции серого, белого вещества и спинномозговой жидкости, рассчитываемые согласно формулам:

$$f_{GM} = \frac{v_{GM} \times 0.78}{v_{GM} \times 0.78 + v_{WM} \times 0.65 + v_{CSF} \times 0.97}$$

$$f_{WM} = \frac{v_{WM} \times 0.65}{v_{GM} \times 0.78 + v_{WM} \times 0.65 + v_{CSF} \times 0.97} \quad (2)$$

$$f_{CSF} = \frac{v_{CSF} \times 0.97}{v_{GM} \times 0.78 + v_{WM} \times 0.65 + v_{CSF} \times 0.97}$$

где 0.78, 0.65, 0.97 – относительные плотности МР-видимого сигнала воды в сером, белом веществе и спинномозговой жидкости,  $v_{GM}, v_{WM}$  и  $v_{CSF}$  – относительные содержания серого, белого вещества и спинномозговой жидкости в спектроскопическом VOI,  $R_{H_2O\_GM}, R_{H_2O\_WM}, R_{H_2O\_CSF}, R_M$  – поправочные коэффициенты, учитывающие T1 и T2 времена релаксации для воды, входящей в состав серого, белого вещества, спинномозговой жидкости и для искомого метаболита, определяемые формулой:

$$R_i = e^{-\frac{TE}{T_{2i}}} \times (1 - e^{-\frac{TR}{T_{1i}}}) \quad (3)$$

В итоге данная программа была написана в программе Matlab. Эффективность разработанной программы апробировалась с использованием специально изготовленного фантома (рис 4), а также на добровольцах (рис 5, 6). Она с успехом прошла тесты на воспроизводимость и точность. Все 2D спектральные после разработки данной программы данные были обработаны с учетом полученных поправок, однако достоверные эффекты не были обнаружены.



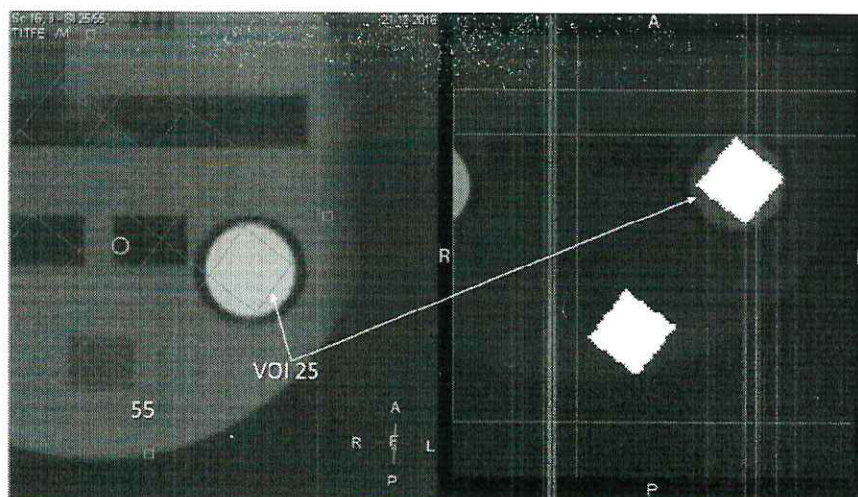


Рис 4. Проверка работы программы при анализе 2D спектроскопических данных специально изготовленного фантома

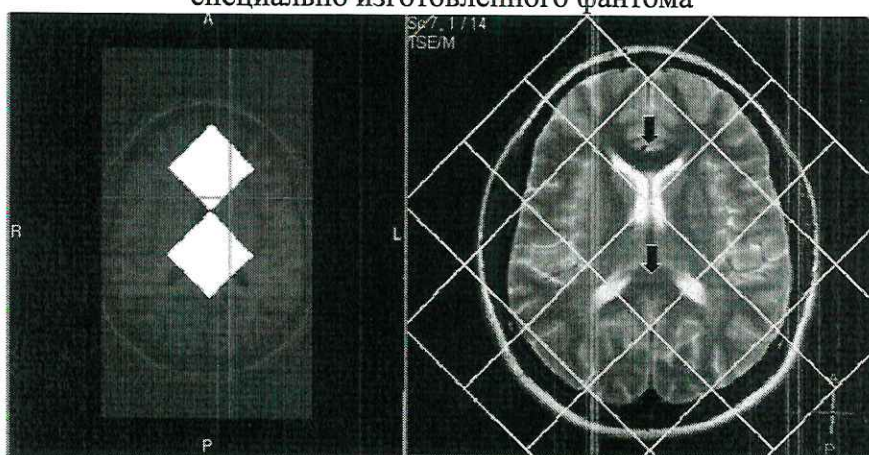


Рис 5. Проверка работы программы при анализе in vivo 2D спектроскопических данных

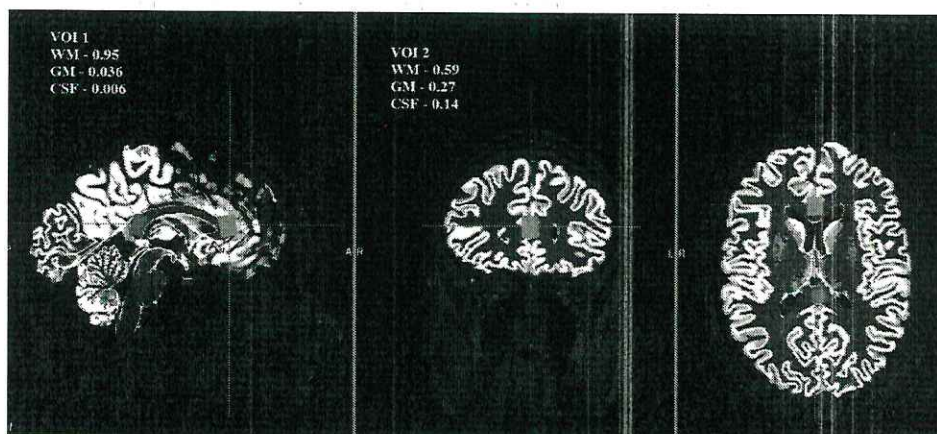


Рис 6. Пример расчета значений компартов WM, GM, CSF в мозге человека.

### *Определение содержания метаболитов в различных зонах мозга в норме, <sup>1</sup>H*

#### *MPC.*

Изменение под влиянием ЧМТ локальных уровней метаболитов в сером веществе и белом веществе в сравнении с нормой является эффективным предиктором

возникновения посттравматических функциональных нарушений, особенно важным в тех случаях, когда МРТ не выявляет анатомических нарушений.

С целью оценить возможности мультिवоксельной и одновоксельной  $^1\text{H}$  МРС для определения метаболических характеристик различных локусов серого вещества, белого вещества больших полушарий головного мозга и гиппокампа нами проведены исследования здоровых испытуемых с применением обеих методик. В зонах коры мультिवоксельный подход оказался неэффективным из-за высокой неоднородности поля  $B_0$  на границе кость – ткань мозга и ложных сигналов липидов, возникающих вследствие попадания в зону интереса сигналов подкожного жира. Удовлетворительное спектральное разрешение и надежные данные для нормы удается получить лишь в глубинном белом веществе. Следовательно, предполагаемое преимущество мультिवоксельной  $^1\text{H}$  МРС – одновременное получение информации для коры и глубинных отделов мозга при современных технических возможностях МР-томографов оказывается проблематичным.

Данные средних значений метаболитов в структурах головного мозга у здоровых пациентов, полученные методом одновоксельной  $^1\text{H}$  МРС, представлены в таблице. Можно видеть, что в сером веществе коры больших полушарий уровни метаболитов одинаковы в различных зонах коры.

Различия количественного состава метаболитов обнаруживаются между серым и белым веществом. В коре выше содержание NAA и Cr, тогда как в белом веществе выше содержание Cho. Эти различия связаны с различным морфологическим составом серого и белого вещества. Серое вещество состоит в основном из тел нейронов, а белое — из аксонов, содержащих олигодендроциты в миелиновых оболочках. Олигодендроциты и нейроны имеют разные метаболические потребности.

**Таблица 1.** Средние значения ( $\pm$  стандартное отклонение) уровней метаболитов в структурах головного мозга у здоровых пациентов.

Метаболиты	ЛИ	НИ	ЛТК	БВ	Г
NAA/ $\text{H}_2\text{O}$	0,87 $\pm$ 0,08	0,87 $\pm$ 0,08	0,75 $\pm$ 0,10	0,65 $\pm$ 0,15*	0,68 $\pm$ 0,06
Cr/ $\text{H}_2\text{O}$	0,56 $\pm$ 0,07	0,53 $\pm$ 0,08	0,57 $\pm$ 0,07	0,45 $\pm$ 0,05*	0,49 $\pm$ 0,07
Cho/ $\text{H}_2\text{O}$	0,34 $\pm$ 0,09	0,31 $\pm$ 0,07	0,27 $\pm$ 0,08	0,43 $\pm$ 0,08*	0,39 $\pm$ 0,09
mI/ $\text{H}_2\text{O}$ .	0,23 $\pm$ 0,1 0,23 $\pm$ 0,08	0,18 $\pm$ 0,05 0,21 $\pm$ 0,09	0,19 $\pm$ 0,05	0,16 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,06



Glx/H <sub>2</sub> O.	0,53±0,22	0,40±0,09	0,48±0,05
-----------------------	-----------	-----------	-----------

\*p<0,05 по сравнению с серым веществом. ЛИ — префронтальная кора средней лобной извилины, НИ — надкраевая извилина, ЛТК — лобно-теменная кора, БВ — белое вещества глубинных структур, Г — гиппокамп.

Важно учитывать, что содержание NAA увеличивается в течение первых пяти лет жизни в процессе созревания мозга. Детская популяция характеризуется значениями уровня NAA, отличающимися от таковых у взрослых [24].

***Оценка целесообразности внесения мультивоксельных <sup>1</sup>H МРС исследований в диагностический протокол при ЧМТ различной степени тяжести.***

Для оценки диагностической значимости <sup>1</sup>H 2D МРС исследованы как пациенты с подтверждённым диагнозом тЧМТ, так и пациенты с подтверждённым диагнозом лЧМТ. Всем пациентам выполнялись одновоксельная и мультивоксельная <sup>1</sup>H МРС. В результате сравнения данных, полученных при использовании обеих методик, обнаружены следующие преимущества одновоксельной МРС по сравнению с мультивоксельной МРС:

- 1) более высокое соотношение значения "сигнал/шум";
- 2) лучшая коррекция базовой линии за счёт более высокого качества подавления сигнала воды;
- 3) отсутствие ложных сигналов липидов;
- 4) возможность использовать методы спектрального редактирования для получения сигналов «скрытых метаболитов» (например, γ-аминомасляная кислота, N-ацетиласпартилглутамат, аспартат);
- 5) меньшая длительность исследования.

Полученные нами результаты позволяют заключить, что именно одновоксельная <sup>1</sup>H МРС является оптимальным методом для оценки состояния белого (область мозолистого тела) и серого (область таламуса) вещества головного мозга при ЧМТ.

Таким образом, при настоящем уровне технических характеристик МР томографов мы не считаем целесообразным включать <sup>1</sup>H 2D МРС в диагностический протокол исследования при ЧМТ.

***Исследование детей с тЧМТ при последующем летальном исходе.***

В остром периоде тяжелого церебрального повреждения различной этиологии с применением метода мультивоксельной <sup>1</sup>H МРС исследованы дети с глубоким неврологическим дефицитом (3–4 балла по шкале Кома-Глазго). Получены изменения спектрограммы в виде повышения интенсивности сигналов Lac, Lip, ml и Cho при



значительном снижении интенсивности сигналов N-ацетил NAA и Cr в стволе, коре и подкорковых структурах головного мозга у больных с проявлением формирования синдромакомплекса, соответствующего острому церебральному поражению мозга. На основании анализа  $^1\text{H}$  МР спектров мозга детей с острым церебральным поражением уточнены критерии необратимого повреждения мозга. Рост содержания Lac и падение NAA обнаружены у каждого больного во всех анализируемых структурах мозга. Все пациенты погибли в сроки от 12 до 31 суток после острого церебрального поражения. Однородность анализируемой группы больных (острое тяжелое церебральное поражение мозга, устойчивое состояние атонической комы к моменту исследования) а также однотипность полученных  $^1\text{H}$  МР спектрограмм позволяет утверждать, что выявленные изменения являются прогностически значимыми. Согласно полученным данным признаком неблагоприятного прогноза являлось сочетание следующих спектральных параметров: интенсивного сигнала Lac и резко сниженного сигнала NAA при их одновременном выявлении в различных структурах мозга (рис 3, 4).

Собственные [1] и литературные данные [17] показывают, что даже значительное уменьшение интенсивности сигнала только NAA может иметь обратимый характер.

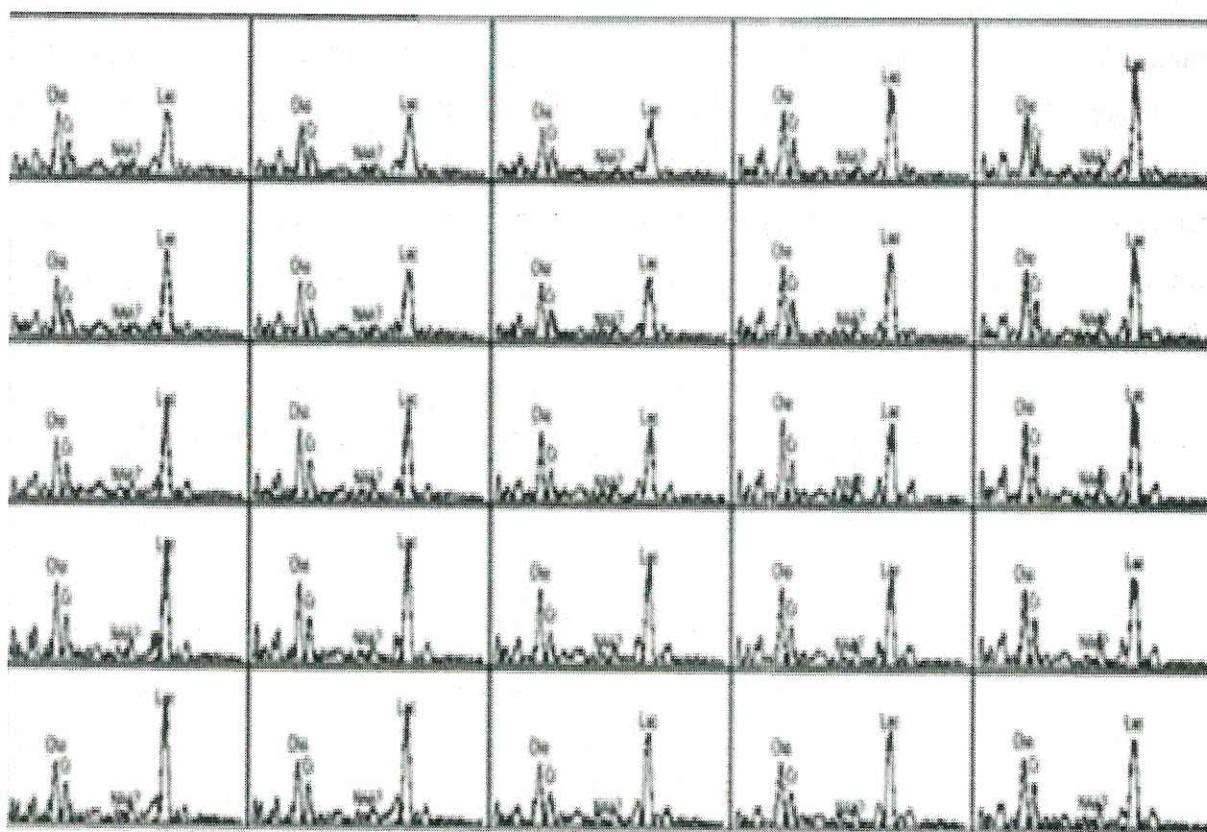


Рис 7. Фрагмент 2D  $^1\text{H}$  МР спектра коматозного больного на 3 сутки после тяжелой ЧМТ и за 28 суток до смерти. Обращает на себя внимание интенсивный сигнал лактата (Lac) и крайне низкий, практически не детектируемый сигнал NAA

При этом одновременно с ростом NAA наблюдалась и положительная динамика неврологических проявлений [17]. Именно сочетание доминирующего сигнала Lac в  $^1\text{H}$  МР спектрах коры больших полушарий, подкорковых структур и в стволе мозга и с низким сигналом NAA в анализируемых наблюдениях, являлось прогностически значимым неблагоприятным признаком у больных с острым церебральным повреждением в коме.

Таким образом, можно заключить, что  $^1\text{H}$  МРС является неинвазивным прогностическим методом у больных с острым церебральным повреждением мозга в коме.

Сочетание высокого сигнала Lac и низкого сигнала NAA на различных уровнях мозга (в стволе, таламусе, в коре и белом веществе мозга) прогностически соответствует неблагоприятному исходу.

Выявленные закономерности определяют необходимость дальнейшего исследования для определения неинвазивных критериев повреждения мозга при остром церебральном поражении.

### **Мультивоксельная $^{31}\text{P}$ МРС**

Низкая чувствительность  $^{31}\text{P}$  МРС делает предпочтительной мультивоксельную методику, позволяющую получить значительно более высокое пространственное разрешение, чем в случае одновоксельной  $^{31}\text{P}$  МРС. При одном и том же значении напряженности постоянного магнитного поля  $B_0$  резонансная частота для ядер  $^{31}\text{P}$  составляет 0,405 от частоты ядер  $^1\text{H}$ . Поэтому для проведения исследований на ядре  $^{31}\text{P}$  необходима специальная катушка, настроенная на резонансную частоту для ядер  $^{31}\text{P}$ . В наших исследованиях использовалась объёмная головная приёмно-передающая квадратурная катушка Dual-Tuned  $^{31}\text{P}/^1\text{H}$  Head Coil V-XQ-HQ-030-01000, разработанная и сконструированная компанией Rapid Biomedical (Германия). Эта катушка имеет два контура, позволяет проводить спектроскопические исследования на ядрах  $^{31}\text{P}$  и  $^1\text{H}$ , регистрация сигналов от ядер  $^{31}\text{P}$  и протонов происходит по двум отдельным каналам. Такая конструкция даёт возможность повысить отношение сигнал/шум (SNR) в фосфорных спектрах за счёт эффектов взаимодействия ядер  $^{31}\text{P}$  с протонами.

### ***Оптимизация отношения сигнал/шум в $^{31}\text{P}$ МР спектрах***



Для позиционирования вокселя  $^{31}\text{P}$  МРС использовали трёхмерный набор прескан-изображений и набор 2D аксиальных T2-взвешенных изображений. Спектроскопический воксель размером 80x60x60 мм размещали так, чтобы с учётом артефакта химического сдвига для всех сигналов [23] он максимально захватывал ткань мозга.

Для локализации объема интереса использовали ИП ISIS со следующими параметрами:  $TE = 0.1$  мс, число точек  $N_{pts} = 1024$ , ширина полосы пропускания  $BW = 4000$  Гц, угол поворота вектора намагничённости  $FA = 35^\circ$ , число пустых сканов для установления равновесной намагничённости = 2.

Увеличение  $SNR$   $^{31}\text{P}$  спектров достигали, модифицируя ИП ISIS двумя способами:

- включая широкополосную развязку от спин-спинового ( $J$ )-взаимодействия ядер  $^1\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$  с применением ИП Waltz [22] в течение практически всего времени, отведенного на регистрацию сигнала, максимальная напряженность РЧ поля ( $B_{1max}$ ) составляла = 2.3 мкТ

- включая на заданное время (смешивания) широкополосное облучение протонов для реализации ядерного эффекта Оверхаузера (NOE-nuclear Overhauser effect) с помощью ИП Waltz [22],  $B_{1max} = 2.84$  мкТ, перед возбуждающим  $^{31}\text{P}$  импульсом.

Схема модифицированной ИП ISIS приведена на рисунке 5.

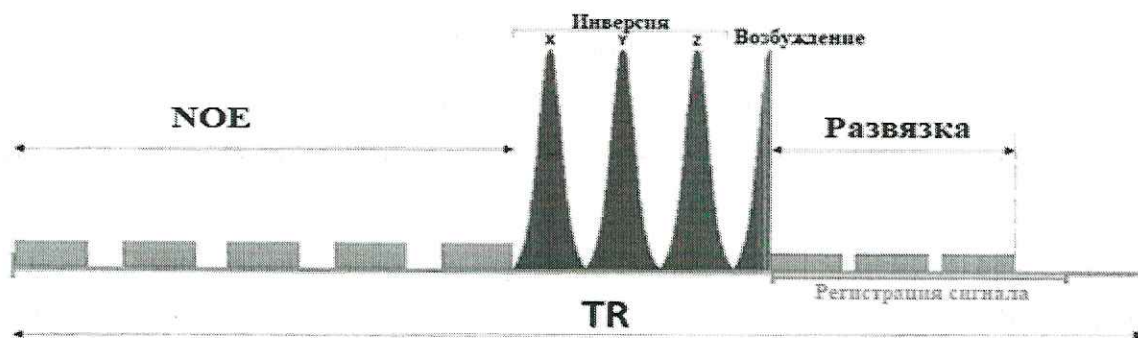


Рис. 8. Схема модифицированной импульсной последовательности ISIS. Здесь Инверсия – инвертирующие РЧ импульсы в присутствии градиентов вдоль X, Y и Z направлений, Возбуждение – возбуждающий РЧ импульс. Синие блоки справа и слева от красных «импульсов» – облучение на резонансной частоте протонов.

Развязка от протонов NOE и реализуются в разное время (рис. 5), поэтому применять их для увеличения  $SNR$  следует совместно.



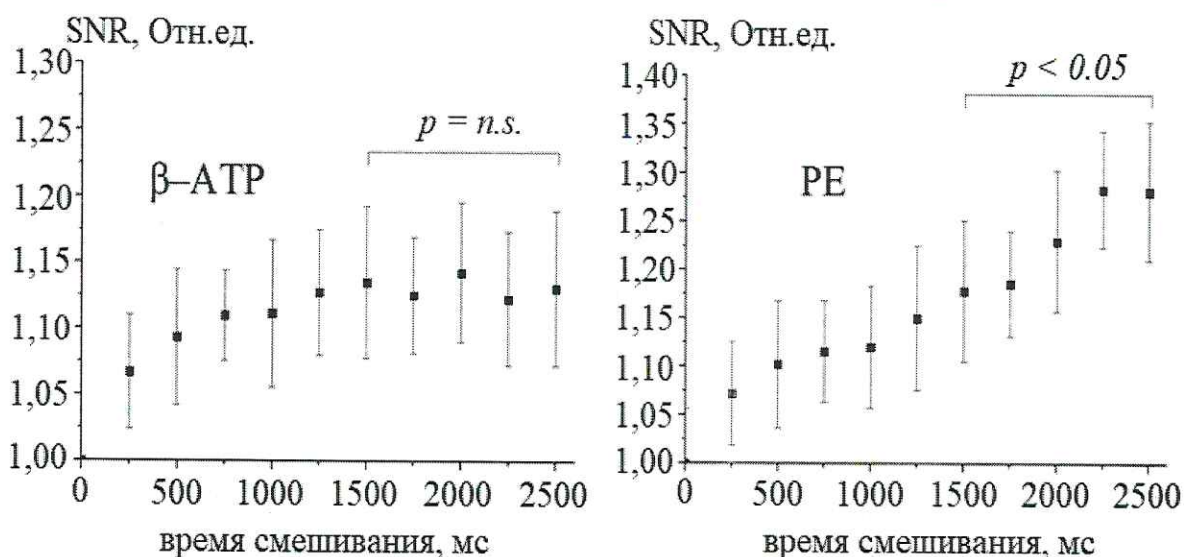
Исследование по оптимизации  $^{31}\text{P}$  МРС состояло из двух серий. В первой серии оценили, насколько можно снизить TR, не потеряв при этом в сигнале из-за неполной  $T_1$  релаксации ядер  $^{31}\text{P}$ . При переходе от TR = 2 с к TR = 3 с для сохранения времени регистрации сигнала придётся снизить NSA на 33,3%, что автоматически снизит SNR на 22,4%. Поэтому большее TR нужно использовать, если прирост SNR какого-либо резонанса превысит это значение. При выборе между TR = 3 с и TR = 4 с большее значение оправданно, если SNR увеличится более чем на 15,3%. Аналогично, при сравнении TR = 2 с и 4 с прирост SNR должен превысить 41,4%. Значения приростов SNR при изменении TR приведены в табл. 2. Из таблицы 1 следует, что TR = 3 с эффективнее чем TR = 2 с для сигналов *PME*, *PDE*, *PCr* и *Pi*. При увеличении TR до 4 с эффект усиливается для *PE*, *PC* и *GPE*, поэтому TR = 4 с следует использовать если необходим максимальный SNR сигналов-участников фосфолипидного обмена (например, в опухолях). Увеличение TR не эффективно для сигналов *ATP* и *DN*, поэтому для анализа интенсивностей резонансов макроэргов следует выбрать TR = 2 с. Эта величина не оптимальна для *PCr*, но в большинстве случаев его количественная обработка не вызывает трудностей.

**Таблица 2.** Медиана прироста SNR в % (в скобках – квартильный размах). \* – прирост, достоверно ( $p < 0.05$ ) превышающий порог эффективности.

Резонанс	TR=3 с vs TR=2 с	TR=4 с vs TR=3 с	TR=4 с vs TR = 2 с
	Порог 22,4 %	Порог 15,3%	Порог 41,4%
PCr	32,6 (7,6)*	11,0 (4,4)	48,9 (8,4)*
$\gamma$ ATP	14,5 (3,8)	5,2 (2,9)	21,2 (3,6)
$\alpha$ ATP	11,4 (3,1)	6,7 (2,1)	17,1 (6,4)
$\beta$ ATP	13,0 (4,6)	7,2 (4,1)	16,3 (4,5)
Pi	33,3 (7,6)*	12,8 (6,0)	49,1 (10,5)*
PE	35,1 (9,6)*	17,7 (4,4)*	53,2 (11,7)*
PC	29,2 (7,5)*	21,2 (8,3)*	40,1 (10,1)*
GPE	37,8 (9,2)*	23,4 (8,2)*	58,2 (19,4)*
GPC	38,2 (6,3)*	12,1 (6,0)	61,1 (27,8)*
GPX	22,5 (8,7)	11,1 (6,5)	34,2 (14,3)*
DN	16,2 (8,9)	9,1 (7,6)	24,3 (15,1)

Во второй серии оценен прирост SNR за счет ЯЭО. SNR всех сигналов возрастает с увеличением длительности применения ЯЭО (времени смешивания), однако, для *ATP* и *DN* прирост останавливается при времени смешивания ~1500 мс. Для *PE*, *PC*, *Pi*, *GPE*,

*GPC*, *GPX* и *PCr* рост прослеживается вплоть до значения времени смешивания 2500 мс. Примеры зависимостей *SNR* от времени смешивания представлены на рис. 9.



**Рис. 9.** Зависимость прироста *SNR* в относительных единицах (медиана  $\pm$  кварт.размах) сигналов  $\beta$ -АТФ и РЕ от времени смешивания (*mix time*).

Согласно полученным данным, увеличение *SNR* сигналов АТФ и *DN* составило  $\sim 15\%$ , для остальных сигналов  $\sim 25-30\%$ . Максимальный ЯЭО для ядер  $^{31}\text{P}$  и  $^1\text{H}$  равен  $\frac{1}{2}$  отношения гиромагнитных отношений этих ядер ( $\sim 124\%$ ). В реальности, достичь этого значения не удастся из-за сильной зависимости диполь-дипольного взаимодействия от расстояния между ядрами. Применение стационарного ЯЭО позволяет поддерживать постоянной населённость возбуждённого уровня  $^1\text{H}$ , поэтому разница заселённостей уровней фосфора за счет ЯЭО должна монотонно увеличиваться до достижения равновесного состояния.

Таким образом, оптимальные для разных сигналов значения *TR*, полученные в первой серии, не ограничивают усиление сигнала за счет ЯЭО этих сигналов. При *TR* = 4 с большие значения времени смешивания позволят получить максимальный прирост *SNR* для сигналов фосфолипидов. Для достижения максимума *SNR* сигналов АТФ и *DN*, следует использовать *TR* = 2 с и время смешивания 1500 мс.

### **Оценка роли $^{31}\text{P}$ 2D МРС в анализе механизмов метаболических сдвигов в мозге под влиянием терапевтических факторов (гипербарическая оксигенация)**

Гипербарическую оксигенацию (ГБО) - помещение пациента в атмосферу кислорода при повышенном давлении применяют как терапевтическое воздействие т при



острой ишемии, черепно-мозговой травме, отравлениях угарным газом (СО). Эта процедура увеличивает концентрацию оксигенированного гемоглобина и повышает концентрацию растворенного в плазме крови кислорода [9]. Под действием ГБО увеличивается активность сукцинатдегидрогеназы, одного из основных ферментов цикла Кребса и цепи электронного транспорта; также увеличивается потребление глюкозы в структурах головного мозга.

Измерения  $^{31}\text{P}$  2D MRS проводили в мозге нормальных испытуемых до сеанса ГБО и сразу после него.

Для локализации объема интереса использовали импульсную последовательности ISIS (Image-Selected In-vivo Spectroscopy) [18] со следующими параметрами: поле обзора FOV 200x200 мм, размер вокселей 40x40мм, число накоплений сигналов NSA = 16, время эхо (TE) — 0.3 мс, время повторения (TR) – 1900 мс, угол отклонения вектора суммарной намагниченности (FA) = 35°. Для оптимизации отношения сигнал/шум получаемых спектров применялись широкополосная развязка от протонов и NOE с параметром времени смешивания 1560 мс.

Сеанс ГБО проводил персонал отделения ГБО. Общая длительность сеанса составляла 50 минут. В течение первых 5 минут происходил постепенный выход на режим постоянного давления (1.2 атмосферы), которое поддерживалось в течение 40 минут. В последующие 5 минут давление кислорода постепенно снижали до атмосферного.

Спектр из каждого вокселя обрабатывали индивидуально в программе SpectroView, входящей в пакет Philips Extended Workstation. Перед количественной обработкой спектры подвергали аподизации с помощью гауссового и экспоненциального множителей и осуществляли коррекцию фазы первого и второго порядка. В результате обработки получали значения интегральных интенсивностей резонансных линий PМЕ, P<sub>i</sub>, PDE, PCr,  $\gamma$ -АТФ,  $\alpha$ -АТФ,  $\beta$ -АТФ.

Для сравнения данных у одного и того же испытуемого до и после ГБО, параметры, полученные в каждом вокселе каждого испытуемого, нормировали на суммарный фосфор ( $\sum^{31}\text{P} = \text{PМЕ} + \text{PDE} + \text{P}_i + \text{PCr} + \gamma\text{-АТФ} + \alpha\text{-АТФ} + \beta\text{-АТФ}$ ) в том же вокселе. Величина  $\sum^{31}\text{P}$  является одним из наиболее устойчивых параметров в спектрах *in vivo*, она была использована как внутренний стандарт для нормировки всех сигналов спектра. Полученные нормированные величины после ГБО относили к соответствующим величинам до ГБО. Значение  $\text{pH}_{\text{int}}$  определяли по разнице  $\delta$  сигналов PCr и P<sub>i</sub> ( $\delta_{\text{P}_i}$ ) (формула 1). В каждом вокселе рассчитывали величину  $\text{pH}_{\text{after}}/\text{pH}_{\text{before}}$ .



$$pH = 6.77 + \log\left(\frac{\delta_{Pi} - 3.29}{5.68 - \delta_{Pi}}\right) \quad (1)$$

Достоверность относительных изменений спектральных параметров всех вокселей всех испытуемых под действием ГБО оценивали по t-критерию Стьюдента.

Мы впервые обнаружили, что ГБО прямо воздействует на содержание фосфатов-участников энергетического метаболизма мозга: вследствие ГБО достоверно увеличивается относительная интенсивность сигнала  $\alpha$ -АТФ (на ~5%,  $p < 0.01$  по t-критерию Стьюдента), влияния ГБО на другие фосфатные параметры не выявлено.

Мы получили косвенное свидетельство увеличения уровня NAD(H) под действием ГБО. Действительно, рост  $\alpha$ -АТФ при постоянстве  $\gamma$ -АТФ и  $\beta$ -АТФ обусловлен повышением концентрации того метаболита, который вносит вклад в интенсивность исключительно сигнала  $\alpha$ -АТФ. Это NAD(H), сигналы окисленной и восстановленной формы которого перекрываются сигналом  $\alpha$ -АТФ. Разделение сигналов NAD и NADH в МР спектрах  $^{31}\text{P}$  возможно только при использовании специальных методик спектрального редактирования и в полях выше 9 Тл, недоступных для клинических томографов. Таким образом, мы можем говорить о вероятном росте суммарного уровня NAD(H).

NAD – ключевой кофермент, который служит медиатором между цитозольными и митохондриальными биохимическими процессами, NAD(H) играет ведущую роль в энергетическом метаболизме клеток. NAD и NADH вовлечены в процессы, связанные с экспрессией генов, антиоксидантной активностью и окислительным стрессом. Известно, что ГБО активирует радикальные реакции в клетках, следствием чего могут быть разрывы цепей ДНК. Есть данные о возникновении повреждений ДНК непосредственно после сеанса ГБО, которые спустя 24 часа уже не обнаруживаются. Это означает, что вместе с повреждением ДНК ГБО запускает механизмы репарации.

Многочисленные исследования установили, что повреждения ДНК активируют процесс поли-АДФ-рибозилирования. Синтез поли(АДФ-рибозы) полимеразы осуществляется при непосредственном участии NAD. Можно ожидать, что обнаруженное нами увеличение [NAD(H)] при ГБО обусловлено активацией синтеза NAD, необходимой для компенсации расходов NAD при поли-АДФ-рибозилировании.

Итак, результаты исследования фосфатного обмена после однократного сеанса ГБО указывают на активацию синтеза NAD под действием ГБО. NAD является активным участником энергетического метаболизма, таким образом прямо показано положительное влияние ГБО на энергетический обмен головного мозга человека.

Полученные нами результаты позволяют заключить, что именно мультивоксельная  $^{31}\text{P}$  МРС является оптимальным методом для мониторинга эффективности лечения ишемических состояний мозга при тЧМТ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Задача визуализации при лечении ЧМТ в разные сроки посттравматического периода вне зависимости от тяжести заболевания состоит в оценке степени повреждений ткани мозга для выбора правильной стратегии лечения и прогноза исхода заболевания. В этой связи магнитно-резонансная спектроскопия имеет уникальные возможности, поскольку в структурно сохранных церебральных зонах развиваются нарушения метаболизма, которым соответствуют нарушения функций центральной нервной системы, восстановление поврежденных травмой биологических функций сопровождается восстановлением нарушенных обменных процессов. Спектральные данные являются характеристиками обменных процессов, связанных с биологической функцией. Их анализ предоставляет новую информацию, расширяющую возможности МРТ.

В этих рекомендациях представлены методики мультивоксельной  $^1\text{H}$  МРС и  $^{31}\text{P}$  МРС при ЧМТ, а также собственные разработки, повышающие эффективность применения этой технологии. К ним относится метод повышения соотношения сигнал\шум при выполнении фосфорной спектроскопии, а также создание программы сегментации МР изображений, необходимой для количественной оценки посттравматических нарушений обменных процессов в зонах мозга различного морфологического состава.

Определены границы применимости мультивоксельной  $^1\text{H}$  МРС и  $^{31}\text{P}$  МРС при исследованиях ЧМТ, охарактеризованы достоинства и недостатки мультивоксельной методики, на основе изложенных в рекомендациях сведений исследователь может сделать выбор в пользу мультивоксельной или одновоксельной спектроскопии в каждом конкретном случае с тем, чтобы провести исследование по оптимальному протоколу.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сидорин С. В. и др. Диагностическое значение магнитно-резонансной томографии при черепномозговой травме у детей //Российский педиатрический журнал. – 2013. – №. 6.



2. Baslow M., Guilfoyle D. N-acetylaspartate: a Unique Neuronal Molecule in the Central Nervous System //Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2006. – T. 576. – C. 95-112.
3. D'Adamo A. F., Gidez L. I., Yatsu F. M. Acetyl transport mechanisms. Involvement of N-acetyl aspartic acid in de novo fatty acid biosynthesis in the developing rat brain //Experimental brain research. – 1968. – T. 5. – №. 4. – C. 267-273.
4. D'Adamo Jr A. F. et al. N-ACETYLASPARTATE AMIDOHYDROLASE: PURIFICATION AND PROPERTIES 1 //Journal of neurochemistry. – 1977. – T. 28. – №. 4. – C. 739-744.
5. Diehl P., et al. (ed.). NMR. Basic principles and progress 28. In vivo Magnetic resonance spectroscopy III: In vivo Magnetic resonance spectroscopy III: potential and limitations. Berlin - Heidelberg - New York: Springer-Verlag, 1992, 190 p
6. Federico F. et al. Prognostic value of proton magnetic resonance spectroscopy in ischemic stroke //Archives of neurology. – 1998. – T. 55. – №. 4. – C. 489-494.
7. Gill S. S. et al. Brain metabolites as <sup>1</sup>H NMR markers of neuronal and glial disorders //NMR in biomedicine. – 1989. – T. 2. – №. 5-6. – C. 196-200.
8. Hertz L., Rothman D. L. Glucose, Lactate,  $\beta$ -Hydroxybutyrate, Acetate, GABA, and Succinate as Substrates for Synthesis of Glutamate and GABA in the Glutamine–Glutamate/GABA Cycle //The Glutamate/GABA-Glutamine Cycle. – Springer, Cham, 2016. – C. 9-42.
9. Jain K. K., Baydin S. A. Textbook of hyperbaric medicine. – Toronto : Hogrefe & Huber, 1996.
10. Kanamori K., Ross B. D. Steady-state in vivo glutamate dehydrogenase activity in rat brain measured by <sup>15</sup>N NMR //Journal of Biological Chemistry. – 1995. – T. 270. – №. 42. – C. 24805-24809.
11. Lynden-Bell R. M., Harris R. K. Nuclear magnetic resonance spectroscopy. – Appleton-Century-Crofts, 1969.
12. Madhavarao C. N. et al. Characterization of the N-acetylaspartate biosynthetic enzyme from rat brain //Journal of neurochemistry. – 2003. – T. 86. – №. 4. – C. 824-835.
13. Mason G. F. et al. Simultaneous determination of the rates of the TCA cycle, glucose utilization,  $\alpha$ -ketoglutarate/glutamate exchange, and glutamine synthesis in human brain by NMR //Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. – 1995. – T. 15. – №. 1. – C. 12-25.
14. McKenna M. C. et al. Neuronal and astrocytic shuttle mechanisms for cytosolic-mitochondrial transfer of reducing equivalents: current evidence and pharmacological tools //Biochemical pharmacology. – 2006. – T. 71. – №. 4. – C. 399-407.



15. Moffett J. R. et al. (ed.). N-acetylaspartate: A unique neuronal molecule in the central nervous system. – New York : Springer, 2006. – T. 576.
16. Moon R. B., Richards J. H. Determination of intracellular pH by <sup>31</sup>P magnetic resonance //Journal of Biological Chemistry. – 1973. – T. 248. – №. 20. – C. 7276-7278.
17. Mutch C. A., Talbott J. F., Gean A. Imaging evaluation of acute traumatic brain injury //Neurosurgery Clinics. – 2016. – T. 27. – №. 4. – C. 409-439.
18. Ordidge R. J., Connelly A., Lohman J. A. B. Image-selected in vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatially selective NMR spectroscopy //Journal of Magnetic Resonance (1969). – 1986. – T. 66. – №. 2. – C. 283-294.
19. Ross B. D. et al. In vivo magnetic resonance spectroscopy of human brain: the biophysical basis of dementia //Biophysical chemistry. – 1997. – T. 68. – №. 1-3. – C. 161-172.
20. Ross B., Bluml S. Magnetic resonance spectroscopy of the human brain //The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists. – 2001. – T. 265. – №. 2. – C. 54-84.
21. Rothman D. L. et al. In vivo NMR studies of the glutamate neurotransmitter flux and neuroenergetics: implications for brain function //Annual review of physiology. – 2003. – T. 65. – №. 1. – C. 401-427.
22. Shaka A. J. et al. An improved sequence for broadband decoupling: WALTZ-16 //Journal of Magnetic Resonance (1969). – 1983. – T. 52. – №. 2. – C. 335-338.
23. van der Graaf M. In vivo magnetic resonance spectroscopy: basic methodology and clinical applications //European Biophysics Journal. – 2010. – T. 39. – №. 4. – C. 527-540.
24. Van der Knaap M. S. van der Grond J, v-an Rijen PC //Faber JAJ, Valk J, Willemse K. Age-dependent changes in localized proton and phosphorus MR spectroscopy of the brain. Radiology. – 1990. – T. 176. – C. 509-515.