



UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI
FAKULTET
DEPARTMAN ZA FIZIKU



Obrazovanje kao prevencija gubitka N-acetilaspartata tokom starenja

-master rad-

Mentor: Doc. dr Jelena Ostojić

Kandidat: Anja Lazović

Novi Sad, 2015

Zahvaljujem se mentorki Doc. dr Jeleni Ostojić na predloženoj temi, savetima, pomoći i podršci pri izradi ovog rada. Takođe dugujem neizmernu zahvalnosti svojim roditeljima koji su me podržavali i bili uz mene tokom studiranja.

Sadržaj:

1. Uvod.....	1
2. Objasnjenje fenomena NMR.....	2
2.1 Magnetne osobine jezgra.....	2
2.2 Jezgra u spoljašnjem magnetnom polju i indukcija rezonancije	2
2.3 Spinski prelazi	5
2.4 Relaksacija	6
2.4.1 Uzroci relaksacije	7
2.5 Pozicioniranje voksla.....	8
2.5.1 Gradijent-Eho Impulsna Sekvenca	8
2.5.2 Turbo Spin Echo.....	10
3. Magnetno Rezonantna Spektroskopija.....	12
3.1 Fizičke osnove MRS.....	12
3.2 Hemijski pomeraj	13
3.2.1 Hemijski pomeraj pri ekscitaciji.....	14
3.3 Tehnike lokalizacije	15
3.3.1 Single-voxel Spektroskopija.....	15
3.3.2 Stimulisani Eho signali	17
3.3.3 Magnetno Rezonantni Spektroskopski Imidžing.....	17
3.3.4 Poređenje SVS i MRSI.....	19
3.4 Poređenje dugog i kratkog vremena eha	19
3.5 Supresija vodenog signala.....	20
3.5.1 Gašenje vodenog signala metodom frekventno selektivne ekscitacije.....	21
3.6 Metod spoljašnjeg suzbijanja volumena tkiva (OVS)	22
3.7 Shimming	23
3.8 Obrada signala	24
3.8.1 Obrada signala u vremenskom domenu.....	24
3.8.2 Furijeova transformacija	24
3.8.3 Obrada signala u frekventnom domenu	25
3.9 Artefakti.....	26
4. Spektar	28
4.1 Odlike spektra.....	28
4.2 Metaboliti mozga	28

4.2.1 N-acetilaspartat (NAA).....	28
4.2.2 Kreatin (Cr).....	29
4.2.3 Holin (Cho).....	30
4.2.4 Laktat (Lac)	30
4.2.5 Lipidi (Lip)	30
4.2.6 Mioinozitol (Myo)	30
4.2.7 Alanin (Ala).....	31
4.2.8 Glutamat-Glutamin (Glx)	31
4.3 Regionalne varijacije u spektru	31
4.4 Spektri kod ljudi starijeg doba.....	32
4.5 Uticaj jačine magnetnog polja na kvalitet spektra ^1H MRS	32
5. Eksperimentalni deo.....	33
5.1 Uvod u problematiku	33
5.2 Istraživanja N-acetilaspartata.....	34
5.3 Cilj istraživanja.....	36
5.4 Materijali i metode	36
5.4.1 Učesnici	36
5.4.2 MRI i MRS protokol.....	37
5.4.3 Obrada podataka	37
5.4.4 Deskriptivna statistika	39
5.5 Diskusija i zaključak.....	43
Bibliografija.....	46
Biografija	52

Glava 1

1. Uvod

Razvoj i unapređenje neinvazivnih imidžing tehnika umnogome povećavaju mogućnosti detaljnijeg i temeljnijeg istraživanja anatomije mozga, kao i njene povezanosti sa moždanim funkcijama. Strukturne informacije do kojih dolazimo zahvaljujući upotrebi magnetno rezonantnog imidžinga (MRI) omogućavaju jasnu separaciju sive i bele moždane mase *in vivo*, što dalje dozvoljava identifikaciju funkcionalnih regiona u mozgu i utvrđivanje njihove povezanosti. Mozak je bez sumnje najkomplikovanija struktura u ljudskom organizmu. Oslikavanje je veoma korisna tehnika koja pruža mogućnost navigacije kroz moždane strukture, kao i identifikaciju mesta na kojima se odvijaju važni biološki procesi.

Standardna magnetno rezonantna imidžing tehnika predstavlja neinvazivnu trodimenzionalnu tehniku koja omogućava potpunu karakterizaciju anatomije mozga, uz relativno kratko vreme akvizicije. Problem koji se javlja pri standardnom magnetno rezonantnom imidžingu jeste degeneracija velikog broja bioloških podataka, što dovodi do smanjene osetljivosti metoda na određene biološke procese. Magnetno rezonantni imidžing zasnovan je na signalima koji potiču iz jezgara atoma vodonika sadržanih u molekulima vode. Sam signal je indirektan indikator bioloških procesa u mozgu, čije precizno utvrđivanje pri interpretaciji MRI rezultata oduvek predstavlja veliki problem.

Magnetno rezonantna spektroskopija predstavlja tehniku koja se kao analitički metod prvobitno koristila za identifikaciju molekula na osnovu njihovih biofizičkih svojstava. U kliničkoj upotrebi omogućava *in vivo* neurološko i fiziološko proučavanje metabolita, čije se koncentracije kreću između 0,5-10 mM. Ovo pruža jedinstven uvid u metaboličke puteve, kao i u fiziologiju i patologiju mozga.

Magnetno rezonantna spektroskopija (MRS) predstavlja analitički metod koji omogućava identifikaciju i kvantifikaciju metabolita unutar ispitivanog uzorka. Razlika u odnosu na konvencionalni magnetno rezonantni imidžing ogleda se u tome što na osnovu spektra dobijamo podatke vezane za hemiju i fiziologiju tkivne strukture, dok nam MRI pruža informacije anatomske i morfološke prirode.

Glava 2

2. Objasnjenje fenomena NMR

2.1 Magnetne osobine jezgra

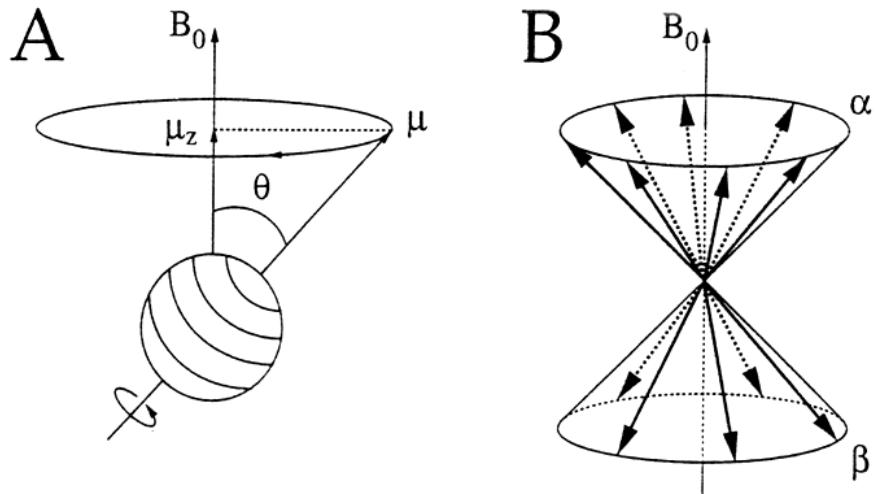
Naelektrisanja u kretanju stvaraju magnetno polje. Jačina naelektrisanjem stvorenog polja proporcionalna je njegovom magnetnom momentu. Iako bi se usled neutralnosti neutrona, tj. činjenice da je njegovo efektivno naelektrisanje jednako nuli, moglo pogrešno pretpostaviti da će mu i magnetni momenat uzimati vrednost nula, neutron ipak poseduje nenulti magnetni momenat usled kompleksne strukture. Nukleoni unutar jezgra neprestano vrše kretanje po orbitalama, tako da im se analogno slučaju elektrona unutar atomskog omotača pridružuje sopstveni ugaoni moment impulsa. Međutim, atomsko jezgro sa parnim brojem nukleona neće posedovati magnetna svojstva, što je direktna posledica činjenice da parovi neutrona i protona imaju jednakе vrednosti suprotno usmerenih magnetnih momenata, koji će se time međusobno poništavati. Činjenica je da približno dve trećine jezgara poseduju neparan broj nukleona, te se posledično ponašaju kao mali magneti (*Catherine Westbrook, Carolyn Kaut, 1998*).

Magnetno rezonantna tehnika snimanja zasniva se na magnetnim osobinama jezgra i pruža mogućnost dobijanja visoko kvalitetnih slika unutrašnjosti ljudskog organizma neinvazivnim putem. Jezgro čije ispitivanje drži prvenstvo u medicinskoj dijagnostici jeste jezgro atoma vodonika. Razlog tome je činjenica da je koncentracija atoma vodonika u ljudskog organizmu mnogostruko veća od koncentracije atoma bilo kog drugog elementa.

2.2 Jezgra u spoljašnjem magnetnom polju i indukcija rezonancije

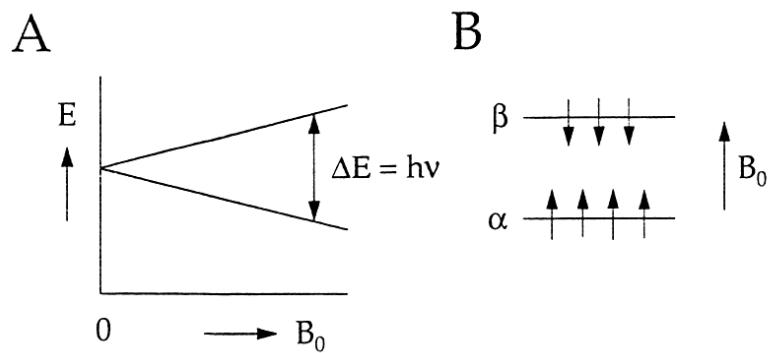
Jezgro poseduje jasno definisan ugaoni momenat (spin jezgra) kojem se pridružuje magnetni momenat i koji u jezgrenom okruženju dovodi do magnetnih interakcija. Model ljske predlaže da je magnetni momenat jezgra suma magnetnih momenata svih pojedinačnih nukleona sadržanih unutar posmatranog jezgra. Spin jezgra, kao i njemu pridružen magnetni momenat, predstavlja fundamentalnu osobinu nukleona. Za svaki element sa parnim brojem protona (parnim rednim brojem: ${}^4\text{He}$, ${}^{12}\text{C}$, ${}^{16}\text{O}$) može se naći stabilan izotop sa neparnim brojem neutrona (neparnim masenim brojem: ${}^3\text{He}$, ${}^{13}\text{C}$, ${}^{17}\text{O}$), što čini detekciju magnetno rezonantnog signala mogućom.

Uzorak koji poseduje veći broj jezgara ne mora ispoljavati magnetne osobine na makroskopskom nivou. Uzrok tome je činjenica da su u odsustvu spoljašnjeg magnetnog polja, a usled termičkog kretanja, nuklearni spinovi nasumično orijentisani. Prisustvo magnetnog polja znatno menja stanje, jer će ga jezgra (mali magneti) osetiti i izvršiti preorientaciju svojih magnetnih momenata u pravcu spoljašnjeg polja. Orijentacija će se usled kvantne prirode same pojave izvršiti isključivo u smeru polja ili u smeru suprotnom u odnosu na vektor magnetnog polja (Slika 1.). Usled ovoga dolazi do cepanja energetskog nivoa na dva dela, s obzirom da paralelna orijentacija ima različitu energiju od antiparalelne (Slika 2.). Energetska razlika pomenutih nivoa funkcija je prirode jezgara, kao i jačine spoljašnjeg magnetnog polja (*Catherine Westbrook, Carolyn Kaut, 1998*).



Slika 1. (A) Precesija nuklearnog spina u spoljašnjem magnetnom polju B_0 . (B) U makroskopskom uzorku nuklearni spinovi zauzimaju jednu od dve moguće orijentacije u odnosu na smer spoljašnjeg magnetnog polja (Jelena Ostojić, 2007).

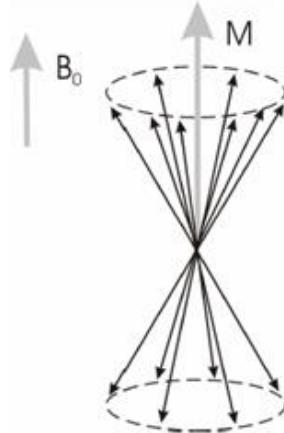
Kvantna mehanika nalaže diskretan broj orijentacija, definisan spiskim kvantnim brojem l . Kako je broj mogućih orijentacija $2l+1$, sledi da je u slučaju nukleona, čiji spiski kvantni broj uzima vrednost $l=1/2$, broj mogućih orijentacija jednak broju dva. Kako se nikada ne postiže savršeno poklapanje, pojedinačni magnetni momenti vrše precesiono kretanje oko vektora spoljašnjeg magnetnog polja. Važnost precesije ogleda se u tome što ona dovodi do povećane osjetljivosti jezgara na energiju radiofrekventnog polja, čija frekvencija odgovara precesionoj frekvenciji (Catherine Westbrook, Carolyn Kaut, 1998).



Slika 2. Energija jezgra sa spinom $I=1/2$, kao funkcija jačine spoljašnjeg magnetnog polja (Jelena Ostojić, 2007).

Kako paralelnu orijentaciju karakteriše niža energija, posledično će ravnotežno stanje karakterisati veći broj jezgara paralelne orijentacije spina, tačnije energetsko stanje koje odgovara paralelnoj orijentaciji sadržaće veći broj jezgara. Iz ovoga sledi da je suma pojedinačnih magnetnih momenata različita od nule i predstavlja vektor u pravcu spoljašnjeg magnetnog polja, čije prisustvo u ovakvim uslovima dovodi do magnetizacije uzorka. Različite vrste tkiva poseduju različite strukturne karakteristike, te u slučaju prisustva spoljašnjeg magnetnog polja, bivaju magnetizovana do različite mere. Upravo na ovome se zasniva sposobnost magnetno rezonantnog sistema za oslikavanje da pravi razliku između različitih tkivnih struktura. Vrednost magnetne indukcije

spoljašnjeg polja utiče na vrednost rezonantne frekvencije tkiva, odnosno na to da tkivo rezonuje na tačno određenoj frekvenciji, koja pripada radiofrekventnom opsegu i odgovara energiji radiofrekventnog fotona (Catherine Westbrook, Carolyn Kaut, 1998).



Slika 3. Sumiranje vektora pojedinačnih magnetnih momenata za rezultat daje vektor ukupne magnetizacije (Davor Eterović, 2002)

Energija magnetnog momenta μ_z (indeks z označava da spoljašnje magnetno polje dejstvuje duž z -ose) u statičkom magnetnom polju B_0 , definiše se kao:

$$E = -\mu_z B_0 \quad (1)$$

Kao što je već napomenuto, jezgra u spoljašnjem magnetnom polju poseduju diskretne energije. Radiofrekventni fotoni kojima bivaju izloženi mogu dovesti do prelaza između spinskih stanja, u slučaju jednakosti energije pobude sa energetskom razlikom između spinskih stanja. Uslov jednakosti energija posledica je kvantne prirode same pojave, koja ne dozvoljava mogućnost apsorpcije nepotpunog kvanta. Kako su moguće svega dve orientacije spinskog magnetnog momenta, čije projekcije uzimaju vrednosti $\mu_z = \pm \mu/2$, sledi da se energetska razlika spinskih stanja između kojih se vrši prelaz može izraziti relacijom:

$$\Delta E = \mu B_0 \quad (2)$$

Radiofrekventni fotoni poseduju energiju:

$$\varepsilon = \hbar \omega \quad (3)$$

gde ω predstavlja ugaonu frekvenciju, dok je \hbar Plankova konstanta.

Rezonantni uslov nalaže sledeću jednakost:

$$\Delta E = \varepsilon \quad (4)$$

Kombinacijom prethodnih jednačina dobijamo izraz za frekvenciju radiofrekventnih fotona koji mogu dovesti do pojave rezonancije:

$$\omega = \frac{\mu}{\hbar} B_0 \quad (5)$$

Ukoliko uzmemo u obzir da je žiromagnetni odnos jezgra jednak odnosu magnetnog momenta i Plankove konstante, dobijamo modifikovan izraz za frekvenciju:

$$\omega = \gamma B_0 \quad (6)$$

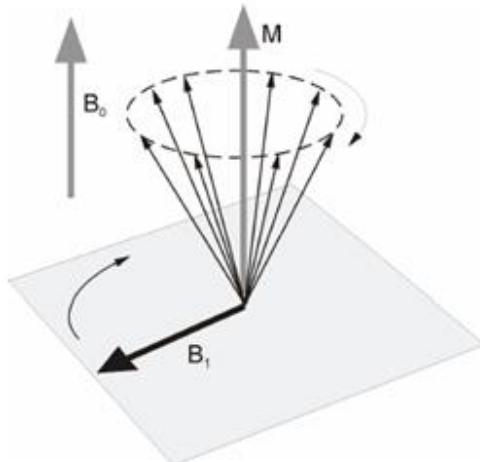
Posmatrana frekvencija naziva se Larmurova frekvencija, i iz jednačine (6) sledi da je proporcionalna jačini primjenjenog magnetnog polja. Kako vrednost žiromagnetnog odnosa predstavlja karakteristiku pojedinačnih izotopa, sledi da će svaki izotop za datu vrednost magnetne indukcije spoljašnjeg polja imati sopstvenu rezonantnu frekvenciju.

2.3 Spinski prelazi

Različita naseljenost energetskih nivoa uzrokuje nastanak magnetno rezonantnog signala, tako da je povoljnije da je ona što veća. Na ovo se da uticati korišćenjem veoma jakih statičkih magneta, s tim da se postizanje primetne razlike u naseljenosti nivoa dosta teško postiže. Za jačine primjenjenog magnetnog polja od 0,5T svega 3 ppm jezgara zauzima paralelnu orientaciju. U slučaju korišćenja magnetnih polja jačina 1,5T i 2T, radi se o 9 ppm i 12 ppm, respektivno. Spinski prelaz pod dejstvom radiofrekventnih talasa odgovarajuće amplitude i vremena trajanja, biva izvršen isključivo ukoliko energetska razlika nivoa između kojih se prelaz vrši odgovara energiji radiofrekventnih fotona. Jednakost pomenutih energija predstavlja rezonantni uslov. Ukoliko dođe do poklapanja energija, tada jezgro poseduje verovatnoću da izvrši prelaz na neko od dozvoljenih energetskih stanja, tj. ispoljava se rezonancija. U ovakovom stanju Bolemanov zakon nalaže da će pri nastupanju rezonancije doći do apsorpcije radiofrekventnih fotona (*Lars G. Hanson, 2009; Davor Eterović, 2002*).

Magnetno rezonantni spektar predstavlja apsorpcioni spektar radiofrekventnih fotona, gde je intenzitet spektralnih linija proporcionalan jačini spoljašnjeg statičkog magnetnog polja, kao i broju jezgara koji su izvršili prelaz kojem odgovara energija posmatrane spektralne linije. Posledično se smanjuje višak jezgara u stanju niže energije, samim tim i iznos vektora makroskopske magnetizacije posmatranog uzorka. Magnetna komponenta promenljivog radiofrekventnog polja, normalna na smer statičkog magnetnog polja, dovodi do toga da pojedinačni magnetni momenti jezgara atoma vodonika počinju sinhronizovano precesirati sa rotacijom vektora radiofrekventnog polja. Posledica precessionog kretanja jeste generisanje transverzalne komponente makroskopske magnetizacije, što se prikazuje kao zakretanje vektora ukupne magnetizacije iz transverzalne ravni u longitudinalnu ravan, uz njegovu istovremenu precesiju oko pravca spoljašnjeg magnetnog polja (Slika 4.). Ovaj process prati slabljenje longitudinalne komponente makroskopske magnetizacije. Nakon određenog vremenskog perioda dolazi do deekscitacije, tj. vraćanja vektora ukupne magnetizacije u stanje ekvilibrijuma. Ovaj proces prati emisiju radiofrekventnih talasa iz tela, čija frekvencija odgovara frekvenciji precesije vektora ukupne magnetizacije. Upravo ovi talasi, tj.

energija koju nose, proizvode magnetno rezonantni signal na zavojnici postavljenoj u transverzalnoj ravni (*Lars G. Hanson, 2009*).



Slika 4. Spoljašnje radiofrekventno polje B_1 dovodi do generisanja transverzalne komponentne magnetizacije (*Davor Eterović, 2002*).

Dolazimo do zaključka da je rezonancija pojedinačnih magnetnih momenata jezgara pobuđena od strane promenljivog radiofrekventnog polja, što za posledicu ima generisanje periodično promenljive transverzalne komponente makroskopske magnetizacije. Pojava rezonancije je od velikog značaja, s obzirom da njeno prisustvo omogućava stvaranje i merenje magnetno rezonantnog signala. Faradejev zakon nalaže da će pod dejstvom promenljive transverzalne komponente makroskopske magnetizacije doći do indukcije napona na zavojnici postavljenoj u transverzalnoj ravni, kao i da indukovani signal predstavlja magnetno rezonantni signal, čija je jačina proporcionalna vrednosti transverzalne magnetizacije.

2.4 Relaksacija

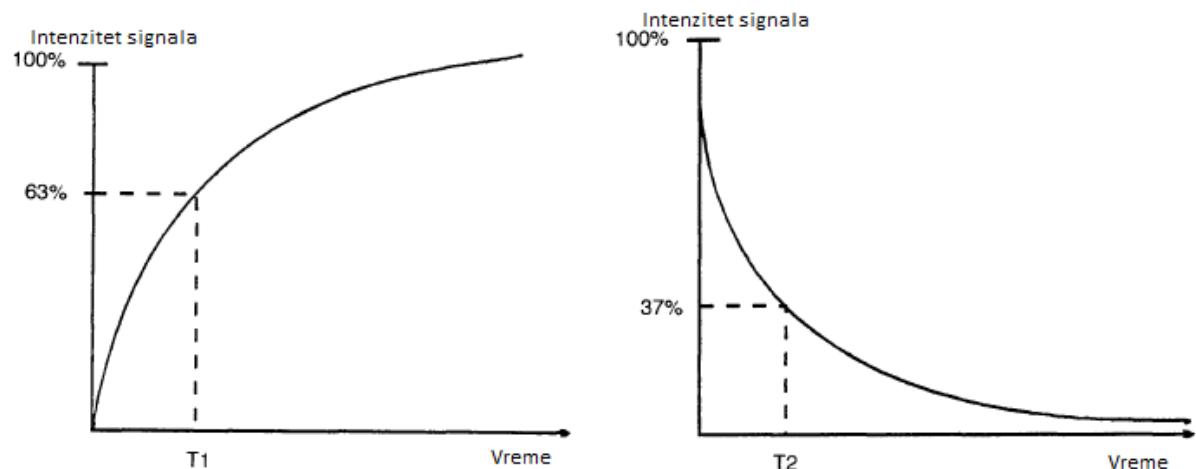
Kao što je već napomenuto, nedugo nakon isključivanja radiofrekventnog polja počinje proces relaksacije. Jezgra se oslobađaju viška energije i vraćaju u početno stanje, tj. vektor ukupne magnetizacije vraća se u ravnotežno stanje. Brzina odvijanja energetskog transfera funkcija je jačine spoljašnjeg magnetnog polja, kao i strukturnih karakteristika posmatranog tkiva. Razlika u gustini i makromolekulsko okruženje ograničavaju kretanje vodenih molekula, što rezultuje pojavom kontrasta na MR slikama. Posmatramo dva tipa relaksacije:

- Relaksacija longitudinalne magnetizacije (M_z) podrazumeva povratak iz zasićenja u ravnotežno stanje, nakon procesa pobuđivanja radiofrekventnim impulsom. Parametar koji opisuje vreme za koje se M_z vraća u stanje ekvilibruma, naziva se vreme spin-rešetkaste relaksacije i označava se sa T_1 (oko 1s za moždano tkivo). T_1 predstavlja vremenski period, potreban da se nakon ekscitacionog RF impulsa, longitudinalna komponenta makroskopske magnetizacije vrati na 63% svoje inicijalne vrednosti. Što je vreme T_1 kraće, to je detektovani signal intenzivniji (*Lars G. Hanson, 2009; Perry Sprawls Jr., 1995*).

- Procesu pobuđivanja i saturacije transverzalne magnetizacije (M_{xy}) sleduje deekscitacija, što podrazumeva eksponencijalno opadanje njene vrednosti. Relaksacija transverzalne magnetizacije okarakterisana je vremenom T_2 , koje se naziva spin-spin relaksaciono vreme i za moždano tkivo iznosi oko 100ms. T_2 je vreme potrebno da se nakon primene RF impulsa, vrednost vektora transverzalne magnetizacije spusti na 37% od svoje maksimalne vrednosti. Duže T_2 vreme prati registrovanje intenzivnijeg magnetno rezonantog signala (Slika 5.) (Lars G. Hanson, 2009; Perry Sprawls Jr., 1995).

2.4.1 Uzroci relaksacije

Proces koji opisuje povratak vektora makroskopske magnetizacije u početni položaj, ne može se opisati vektorom koji vrši precesiono kretanje i vraća se u početni smer, jer bi u tom slučaju vremena T_1 i T_2 bila jednaka. Pošto je sam proces relaksacije eksponencijalne prirode, dosta je teško odrediti tačan trenutak kada će magnetizacije dostići maksimalnu vrednost. Nakon isteka prvog T_1 perioda, magnetizacija povrati 63% prvobitne vrednosti, nakon dva T_1 perioda 87%, dok se nakon trećeg T_1 perioda povrati 95% maksimalne vrednosti, tako da se ova vrednost i uzima kao vrednost pri kojoj je magnetizacija u potpunosti vraćena u početno stanje. Još jedna od mogućnosti jeste naglo iščezavanje transverzalne komponente propraćeno sporom relaksacijom longitudinalne magnetizacije. Uopšteno posmatrano, transverzalna komponenta dosta je brža od longitudinalne, u pogledu dostizanja vrednosti koju je posedovala pre procesa pobuđivanja. Samim tim su za većinu tkivnih struktura, T_1 vrednosti mnogo veće od T_2 vrednosti (Perry Sprawls Jr., 1995).



Slika 5. Levo: Kriva koja opisuje povratak povratak longitudinalne magnetizacije na početnu vrednost. Desno: Kriva koja opisuje eksponencijalno opadanje transverzalne magnetizacije (Lars G. Hanson, 2009).

Razlika između vremena T_1 i T_2 posledica je različitih uzroka relaksacije longitudinalne i transverzalne magnetizacije. Vrednosti relaksacionih vremena, u mnogim slučajevima predstavljaju najvažniji faktor za proizvodnju kontrasta između različitih tkiva.

Relaksaciono vreme T_1 vezano je za porast vrednosti longitudinalne komponente makroskopske magnetizacije, tj. za vraćanje pobuđenih jezgara u prvobitna nepobuđena stanja, i određeno je interakcijom protona sa molekulom vode kao celinom. Količine oslobođene energije odgovaraju energiji radiofrekventnog fotona. Energetski transfer znatno je stimulisan prisustvom lokalnog radiofrekventnog polja. Za jezgro koje prolazi proces relaksacije, to odgovara prisustvu

okolnih molekula koji poseduju dipolni momenat i vrše rotaciju frekvencijom unutar radiofrekventnog domena. Kao što vidimo, longitudinalna relaksacija vezuje se za interakciju protona sa molekulima u neposrednom okruženju. Sama relaksacija dodatno je stimulisana slaganjem rotacione frekvencije okolnih molekula i Larmurove frekvencije protona. Protone eksitovane u čistoj vodi karakteriše dugo vreme T_1 (oko 3 s), što je posledica visokih vrednosti rotacionih frekvencija molekula čiste vode. U biološkom tkivu situacija je nešto drugačija, s obzirom da su molekuli vode najčešće vezani za veće molekulske strukture. Samim tim će usled dosta sporije rotacije makromolekula u poređenju sa manje masivnim molekulima, protoni iz vode brže izvršiti proces deeksitacije, a vreme T_2 uzimati vrednosti od nekoliko ms, pa sve do 2s. Vreme T_1 dovodi se u vezu i sa jačinom primjenjenog spoljašnjeg magnetnog polja. Veća vrednost jačine magnetnog polja, za rezultat ima veću rezonantnu frekvenciju protona, a samim tim i manju povezanost sa rotacionom frekvencijom okolnih molekula (*Davor Eterović, 2002*).

Sa druge strane, vreme T_2 povezano je sa gubitkom transverzalne magnetizacije, koja nastaje interakcijom dva susedna protona, i gubitkom rezonancije jezgra. Inherentna nehomogenost magnetnog polja unutar pojedinačnih voksela dodatno ubrzava transverzalnu relaksaciju, što rezultuje brzim defaziranjem pobuđenih jezgara i nižim vrednostima relaksacionog vremena T_2 , od vrednosti predviđenih karakteristikama tkiva. Nova vrednost vremena T_2 označava se sa T_2^* . Relaksaciono vreme T_1 znatno se produžava u čvrstim supstancama, s obzirom da je za jezgro koje vrši relaksaciju povoljno prisustvo polja što više okolnih molekula. Sa druge strane, što su jezgra fiksiranja u prostoru, tj. što im je ograničenja pokretljivost, to je gubitak rezonancije brži. Iz ovog razloga vreme T_2 uzima dosta niže vrednosti u čvrstим supstancama (*Davor Eterović, 2002*).

2.5 Pozicioniranje voksela

Pravilno pozicioniranje voksela od suštinskog je značaja za dobijanje spektra na osnovu kojeg će biti omogućeno postavljanje dijagnoza visoke tačnosti. Kako bi se izvršila pravilna analiza ispitivane patologije, neophodno je pozicionirati voksel na odgovarajuće mesto, za šta je neophodno posedovati slike pogodnih kontrastnih karakteristika.

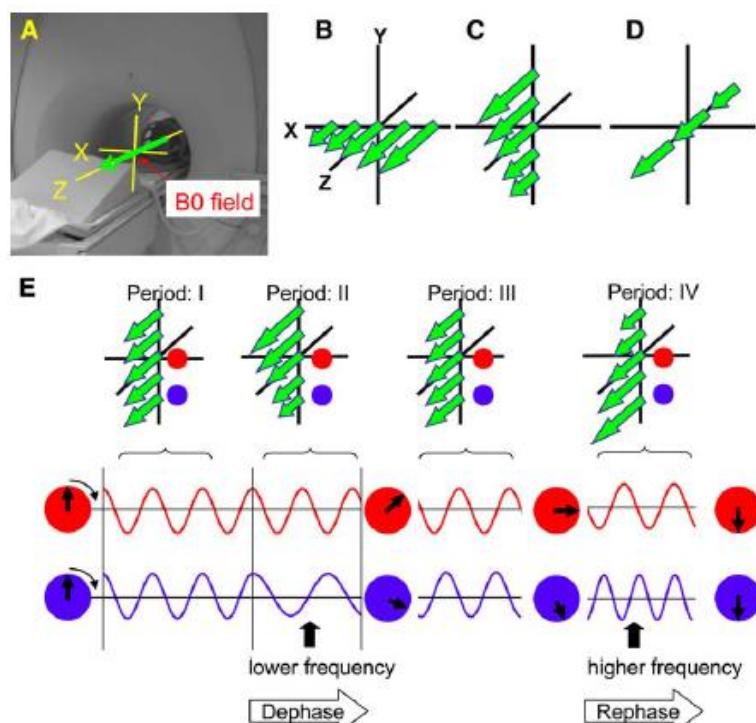
Pozicioniranje predstavlja proces koji uključuje primenu trodimenzionalnih gradijenata magnetnog polja, sa ciljem definisanja volumena od interesa (VOI). Magnetno rezonantni uređaji opremljeni su gradijentnim jedinicama duž X, Y i Z pravaca i njihovim kombinovanjem može se uvesti gradijent duž bilo kojeg proizvoljnog pravca. Različite vrednosti polja na različitim lokacijama duž gradijenta obezbeđuju različite vrednosti Larmurove frekvencije, tj. mogućnost lokalizovanja tačke iz koje je detektovani signal potekao. Primenom gradijenta u pravcu Z-ose vršimo selekciju slojeva u aksijalnoj ravni. Duž Y-ose vrši se fazno kodiranje (gradijent polja generiše faznu razliku) i stvara anteriorno-posteriorna razlika. Konačno, VOI je definisan poslednjim gradijentom, primjenjenim u pravcu X-ose (pravac levo-desno) (*Donald W. McRobbie et al., 2006*).

2.5.1 Gradijent-Eho Impulsna Sekvenca

Osnovna prednost gradijent eho sekvence nad spin eho sekvencom je kraće trajanje akvizicionog procesa. Ono što ograničava ovu tehniku je nemogućnost proizvodnje kvalitetne T_2 otežane slike.

Prisustvo transverzalne magnetizacije uslovljeno je dovoljnom količinom protona u fazi u transverzalnoj ravni. Proces deekscitacije transverzalne magnetizacije posledica je defaziranja protona. Spin echo tehnika koristi radiofrekventne impulse za refaziranje protona koji bivaju defazirani usled efekata susceptibilnosti i nehomogenosti magnetnog polja unutar posmatranih voksela. Prvi korak u gradijentnoj echo tehnici jeste defaziranje protona upotrebom gradijenta magnetnog polja. Ovom procesu sleduje refaziranje protona promenom smera gradijenta.

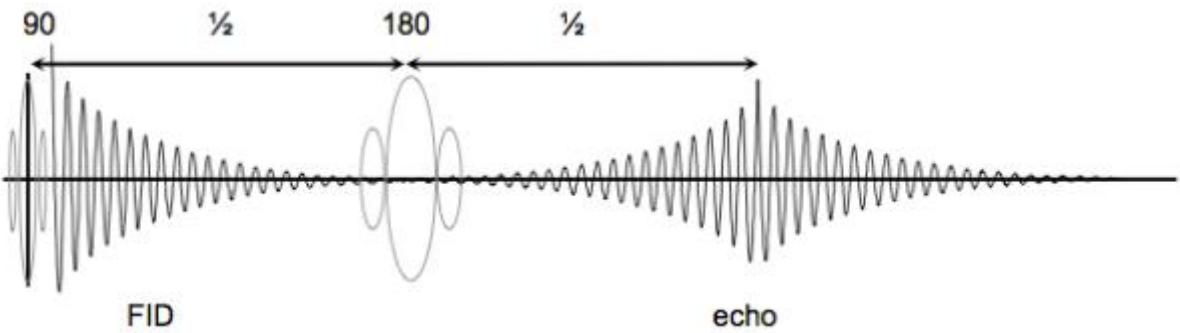
Na slici 6. prikazan je efekat primene gradijentnih impulsa duž Y-ose, kao i merenje signala na dvema različitim lokacijama na osi. Vremenski period I karakteriše homogeno magnetno polje. Kao takvog ga vide i molekuli vode, pa su mereni signali jednakih vrednosti frekvencija. Period II obeležava primenu gradijenta, gde vodeni molekuli na poziciji označenoj plavom bojom počinju da rezonuju nižom frekvencijom. Nakon završetka gradijentnog impulsa (period III) vraćamo se na početno stanje u pogledu vrednosti rotacionih frekvencija molekula, ali bitno je napomenuti da je fazni pomeraj, nastao usled različite vrednosti rezonantnih frekvencija pridruženih molekulima pri primeni gradijenta, i dalje prisutan. Dakle, proces primene gradijentnog impulsa dovodi do promene faza molekula vode, a sve u zavisnosti od njihove pozicije duž ose gradijenta. Samim tim proces relaksacije prati emitovanje signala oslabljenog intenziteta. Pomenuta fazna razlika može biti otklonjena primenom gradijenta suprotnog znaka (period IV), dakle gradijentnog impulsa od 180° . Tokom ovog perioda molekuli na lokaciji označenoj plavom bojom rezonuju većom frekvencijom. Ukoliko su period III i IV vremenski jednaki, očekujemo održavanje koherencije faza molekula i njihovo potpuno vraćanje na početnu poziciju (*Susumu Mori, Jiangyang Zhang, 2006*).



Slika 6. Primena gradijenata magnetnog polja i njihov uticaj na MR signal (*Susumu Mori, Jiangyang Zhang, 2006*).

Nakon primene eksploracionog radiofrekventnog impulsa, dolazi do pojave transverzalne magnetizacije. Nehomogenost magnetnog polja unutar pojedinačnih voksela momentalno dovodi do početka procesa relaksacije, takozvanog FID (free induction decay) procesa (Slika 7.), čija je stopa funkcija relaksacionog vremena T_2^* . Nedugo nakon pobude primenjuje se prvi gradijentni impuls, koji rezultuje brzim defaziranjem protona i redukcijom vrednosti transverzalne magnetizacije. Dakle, nakon primene prvog gradijentnog impulsa formiran je gradijent faza signala duž uzorka.

Sledeći korak jeste invertovanje znaka gradijenta, tako da drugi po redu gradijentni impuls ima zadatak da vrati faze u početnu poziciju i primenjuje se obično 20-50 ms nakon prvog impulsa. Primenom drugog gradijentog impulsa dolazi do porasta jačine signala, s obzirom da raste nivo transverzalne magnetizacije, i posledično do formiranja eha (*Lars G. Hanson, 2009; Susumu Mori, Jiangyang Zhang, 2006*).

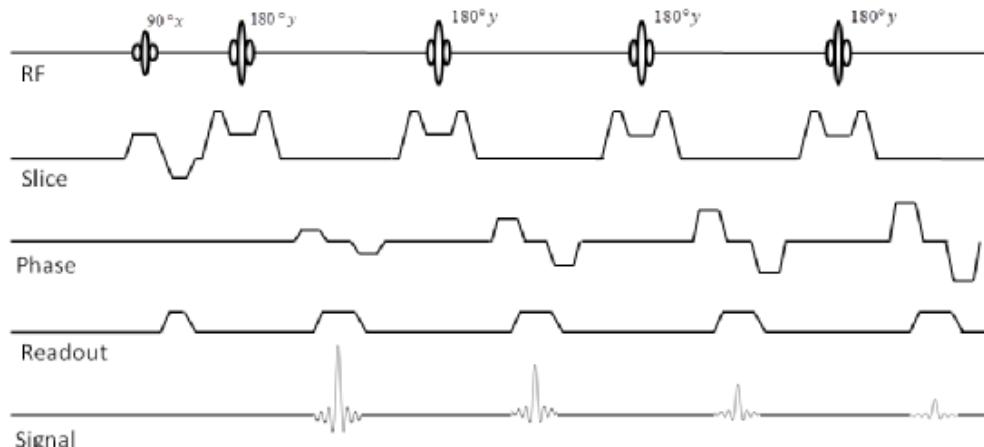


Slika 7. Formiranje FID i eha (*Lars G. Hanson, 2009*).

Prednost dodatnog impulsa je u porastu jačine signala, ali to sa sobom povlači duže vreme snimanja. Savršeno poklapanje faza molekula postiže se ukoliko se vodeni molekuli ne kreću tokom perioda između impulsa. Kako signal koji potiče iz jednog voksela odražava sumu signala svih molekula vode unutar posmatranog voksela, nepotpuno vraćanje faza molekula u početnu poziciju dovodi do gubitka intenziteta signala (*Susumu Mori, Jiangyang Zhang, 2006*).

2.5.2 Turbo Spin Echo

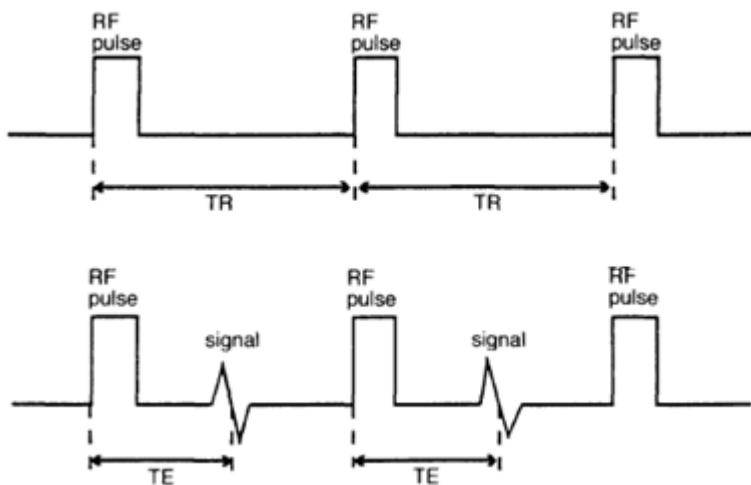
U našem istraživanju korišćena je Turbo Spin Echo tehnika koja podrazumeva višestruku upotrebu RF impulsa od 180° , sa ciljem kontinuiranog refokusiranja opadajuće transverzalne magnetizacije (Slika 8.). Višestruki 180° RF impulsi primenjuju se nakon svakog ekscitacionog impulsa. Svako merenje signala prati primenu gradijenta magnetnog polja, sa ciljem resetovanja faznog kodiranja prethodne sekvence, dok se za svaki naredni echo vrši novo fazno kodiranje ponovnom primenom gradijentnog impulsa. Na ovaj način primenu svakog ekscitacionog impulsa prati registrovanje većeg broj MR signala (*Lars G. Hanson, 2009*).



Slika 8. Turbo Spin Eho Sekvenca (www2.warwick.ac.uk)

Uvešćemo neke od osnovnih koncepata MRI:

- Vreme repeticije (TR) predstavlja vremenski period između dva sucesivna ekscitaciona impulsa od 90° . Posmatrani vremenski period karakteriše odvijanje dva procesa. Prvi proces podrazumeva rotaciju vektora ukupne magnetizacije u transverzalnoj ravni, što pri relaksaciji rezultuje emisijom RF talasa. Drugi proces vezan je za redukovanje longitudinalne magnetizacije. Previše kratko vreme repeticije rezultuje signalom niskog intenziteta. Producetak vremena repeticiji omogućava veće približavanje magnetizacije stanju ravnoteže, što je posmatrani period duži (Lars G. Hanson, 2009; Davor Eterović, 2002).
- Vreme eha (TE) predstavlja vreme proteklo od ekscitacije do trenutka kada se krene sa očitavanjem echo signala (2). Usled T_2 relaksacije dolazi do gubitka transverzalne magnetizacije i pojave MR signala. Samim tim nam vreme eha daje informacije o stepenu uticaja relaksacionog vremena T_2 na dobijenu sliku. Ukoliko je vreme eha dugo u poređenju sa vremenom T_2 , na slici je prisutan značajan T_2 kontrast, ali je intenzitet signala nizak. Najveća osetljivost na varijacije vremena T_2 postiže se ukoliko vreme eha i vreme T_2 uzimaju približno jednake vrednosti (Slika 9.) (Lars G. Hanson, 2009; Davor Eterović, 2002).



Slika 9. Vreme eha (TE) i vreme repeticije (TR) (Lars G. Hanson, 2009).

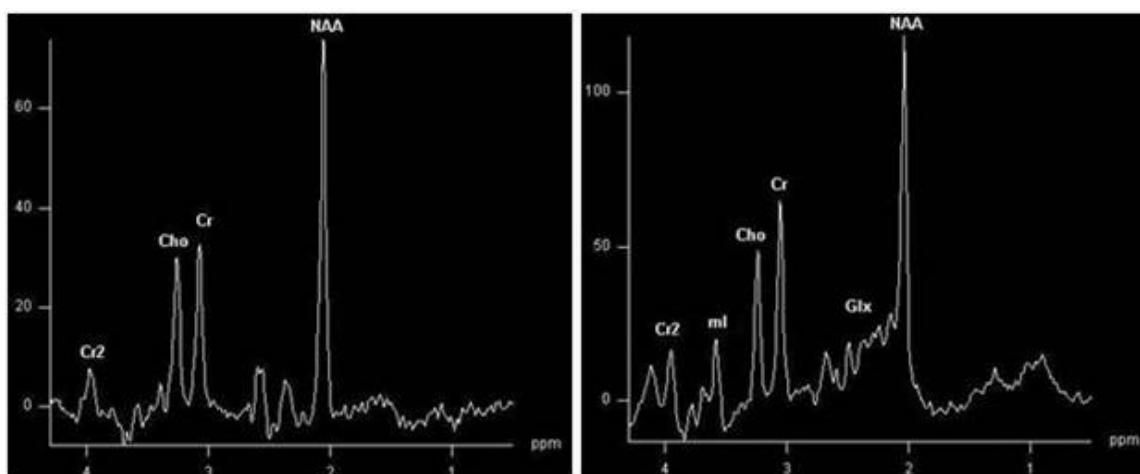
Glava 3

3. Magnetno Rezonantna Spektroskopija

3.1 Fizičke osnove MRS

Nuklearna Magnetna Rezonanca prvo bitno je korišćena od strane fizičara u svrhe određivanja magnetnih momenata jezgara. Sredinom 70-ih godina prošlog veka, NMR postaje tehnika koja se koristi za *in vivo* ispitivanja. To je ostvareno uvođenjem gradijenata magnetnog polja, koji omogućavaju određivanje lokacije sa koje je detektovani signal prvo bitno emitovan i dalju reprodukciju slike na osnovu prikupljenih podataka. Mnoga jezgra se koriste za dobijanje MR spektara. Pored vodonika (^1H), to uključuje primenu ugljenika (^{13}C), fluora (^{19}F), natrijuma (^{23}Na) i fosfora (^{31}P). Međutim, u kliničkim aplikacijama najčešće primenjivana tehnika je protonska MRS, usled najveće koncentracije atoma vodonika u tkivnim strukturama mozga. Velika vrednost koncentracije jezgara atoma vodonika utiče na to da je osetljivost tehnike na signal koji potiče iz ovih jezgara izrazito velika. Protonski MR spektar (^1H -MRS) je u slučaju postojanja određene patologije i neuroloških poremećaja u većini slučajeva neizbežno izmenjen. U kliničkoj praksi, ^1H -MRS najčešće se koristi u svrhe detaljne analize primarnih i sekundarnih moždanih tumorova, kao i za analizu metaboličkih poremećaja (Donald W. McRobbie et al., 2006; Peter B. Barker, 2005).

Ovaj metod je idealan za oslikavanje moždanih struktura, s obzirom da je difuzija vodenih molekula unutar mozga smanjena na minimum, pri poređenju sa ostalim strukturama unutar ljudskog organizma. Upravo to je razlog nemogućnosti primene H-MRS na grudni koš ili abdomen, bez dodatnih naprednih tehnika redukcije pokretljivosti molekula vode. Usled izobilja vodoničnih jezgara u tkivnim strukturama H-MRS dozvoljava upotrebu standardnih radiofrekventnih namotaja, uz odgovarajući softverski paket, dok MRS koja ne koristi vodonik, već izotope drugih elemenata, zahteva dosta naprednija i složenija rešenja, što dodatno komplikuje kliničku aplikaciju. Na slici 10. prikazani su spektri dobijeni upotrebom različitih vrednosti vremena eha.



Slika 10. MR spektri dobijeni upotrebom različitih vrednosti vremena eha. Levo: TE=135 ms, desno: TE= 30 ms (Debora Bertholdo et al., 2013).

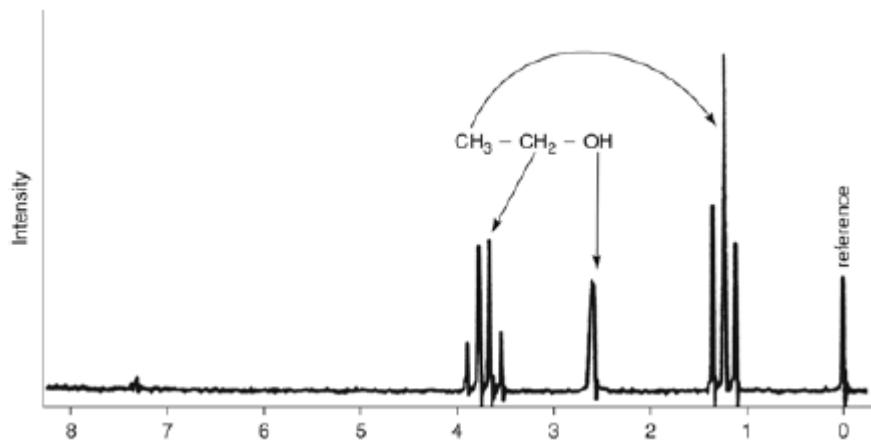
3.2 Hemijski pomeraj

Protonska MRS zasniva se na hemijskom pomeraju atoma. Elektroni atoma smeštenih u magnetno polje, usled kruženja po orbitalama stvaraju sopstveno magnetno polje, suprostavljenog spoljašnjem. Ovo rezultuje redukcijom efektivne vrednosti magnetnog polja u prostoru koji zauzima jezgro, s obzirom da ono biva zaklonjeno elektronskim oblakom susednih atoma. Na osnovu Larmurove jednačine, od ranije je poznato da jačina upotrebljenog spoljašnjeg magnetnog polja određuje vrednost rezonantne frekvencije jezgara koja se unutar njega nalaze. Kako je žiromagnetski odnos konstanta odgovarajućeg jezgra, jačina magnetne indukcije polja, kao i lokalno mikrookruženje jezgra, određuju frekvenciju na kojoj će jezgro rezonovati. Interakcije jezgara sa okolnim molekulima dovode do promena u lokalnom magnetnom polju, što u krajnjoj instanci uzrokuje promenu rezonantne frekvencije jezgra, tj. fenomena poznatog pod nazivom hemijski pomeraj (Tabela 1.) (*Donald W. McRobbie et al., 2006; Peter B. Barker, 2005; Harmen Reyngoudt et al., 2012*).

Vrednost hemijskog pomeraja pruža informacije o molekulskoj grupi unutar koje je atom vodonika sadržan. Izražava se u ppm, jer na taj način isključujemo zavisnost od jačine spoljašnjeg magnetnog polja i samim tim se pozicija rezonantne linije odgovarajućeg metabolita neće menjati pri promeni jačine primjenjenog magnetnog polja. Ukoliko posmatramo spektar videćemo da je, u zavisnosti od vrednosti hemijskog pomeraja, frekvencija metabolita pozicionirana na apcisi, dok su na ordinati prikazane vrednosti amplituda pojedinačnih pikova. Matematičkim putem se hemijski pomeraj predstavlja kao razlika rezonantne frekvencije posmatranog jezgra i rezonantne frekvencije standarda, u odnosu na standard. Referentna frekvencija (0 ppm) pripada jedinjenju koje se najčešće koristi kao standard: tetra-metil silan ($\text{Si}(\text{CH}_3)_4$).

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{ref}}{\nu_{ref}} \cdot 10^6 \quad (7)$$

Određeni metaboliti poseduju dublete, triplete, pa čak i multiplete linija u spektru. Ovakvi pikovi bivaju podeljeni u još kompleksnije pikove i objašnjavaju se pojavom takozvane j-j sprege, tj. spin-spin interakcije. Još jedna od specifičnosti MR spektra je i cepanje rezonantnih linija na veći broj malih linija. Ova pojava posledica je činjenice da jezgra sa magnetnim momentum interaguju međusobno u prostoru (dipol-dipol interakcija) ili putem hemijskih veza (skalarna interakcija). Kako je u tečnostima usled brzog kretanja ukupni efekat dipolnih interakcija jednak nuli, preostaje jedino interakcija putem hemijskih veza. Ovo je takozvana spin-spin interakcija (j-j sprezanje). Fenomen j-j sprezanja karakterističan je za metabolite čija molekulска struktura podrazumeva pripadanje atoma vodonika različitim atomskim grupama (- CH_2 - ili CH_3). Svaka od ovih grupa nalazi se u nešto drugačijem lokalnom magnetnom polju (Slika 11.). Samim tim će jezgra atoma vodonika, u zavisnosti od pozicije atomske grupe u kojoj su sadržani, posedovati različite Larmurove frekvencije, što u krajnjoj instanci dovodi do stvaranja multipleta linija u spektru (*Donald W. McRobbie et al., 2006; Peter B. Barker, 2005; Harmen Reyngoudt et al., 2012*).



Slika 11. Na slici je prikazan fenomen j-j sprezanja (Harmen Reyngoudt et al., 2012).

Tabela 1. Vrednosti hemijskih pomeraja najvažnijih metabolita mozga (Harmen Reyngoudt et al., 2012).

Moždani metabolit	Hemijski pomeraj (ppm)
N-acetylaspartate (NAA ₁)	2.02
N-acetylaspartate (NAA ₂)	2.6
N-acetylaspartate (NAA ₃)	2.5
Creatine (Cr)	3.03
Choline (Cho)	3.22
Myo-inositol (mI ₁ or Ins ₁)	3.56
Myo-inositol (mI ₂ or Ins ₂)	4.06
Glutamine and Glutamate (Glx)	3.65-3.8

3.2.1 Hemijski pomeraj pri ekscitaciji

Značajan problem ekscitacije tkiva sadržanog unutar posmatranog voksela, jeste oština ivica samog voksela. Potrebno je postići jasno definisane ivice voksela, kako bi se voksel od interesa jasno odvojio od okolnog tkiva. Ukoliko posmatramo primer vode i masnog tkiva, frekventno selektivni impuls pobuđuje slojeve vode i masnog tkiva na nešto različitim pozicijama, usled hemijskog pomeraja od 3.66 ppm. Posmatrano u tri dimenzije, ovo bi značilo da će voksel masnog tkiva biti izmešten u odnosu na voksel vode upravo za ovu vrednost hemijskog pomeraja. Sve ovo, uz dodatak nesavršenost selektivnih ekscitacionih impulsa, dovodi do loše definisanih ivica voksela. Ova pojava je poznata pod nazivom “voxel bleed”.

Primena tehnike oslikavanja može pružiti direktni prikaz selektovanog voksela, što se postiže zamenom selektivnih impulsa standardne gradijent-eho sekvence oslikavanja sa tri selektivna impulsa PRESS ili STEAM tehnike. Slika voksela omogućava dobijanje linijskog profila, sa kojeg se zatim vrši ispitivanje oštine ivica (Donald W. McRobbie et al., 2006).

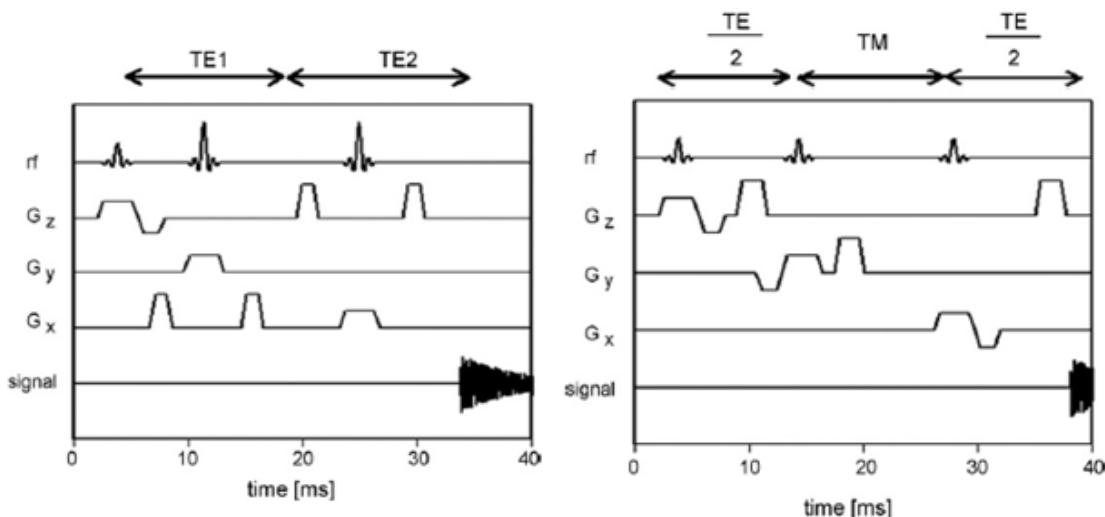
3.3 Tehnike lokalizacije

Protomska MRS akvizicioni proces započinje upotrebom slike na kojoj je prikazana anatomija ispitivanog dela. Na osnovu ove slike definiše se volumen od interesa, tj. region čije fiziološke funkcije ispitujemo analizom dobijenog spektra. Upotrebom gradijenata vrši se selektivna eksitacija malog volumena tkiva, zatim se snima FID (free induction decay), i konačno umesto slike dobija spektar iz voksla od interesa. Kako je biološko tkivo izrazito prostorno nehomogeno, njegova karakterizacija zahteva upotrebu tehnike prostorne lokalizacije, kako bi poreklo detektovanog signala bilo sasvim poznato i oslobođeno kontaminacije od strane signala koji potiče sa drugih prostornih lokacija. Akvizicija spektra postiže se korišćenjem različitih tehnika, koje uključuju single- i multi-voxel lokalizovanu detekciju metabolita, upotrebom dugih i kratkih vremena eha (TE) u kombinaciji sa supresijom vodenog signala. Svaka od navedenih tehnika poseduje svoje prednosti i mane, te je ključno izabrati onu koja je za datu specifičnu namenu odgovarajuća, kako bi se izbegla degradacija kvaliteta prikupljenih podataka i dobijenih rezultata merenja.

3.3.1 Single-voxel Spektroskopija

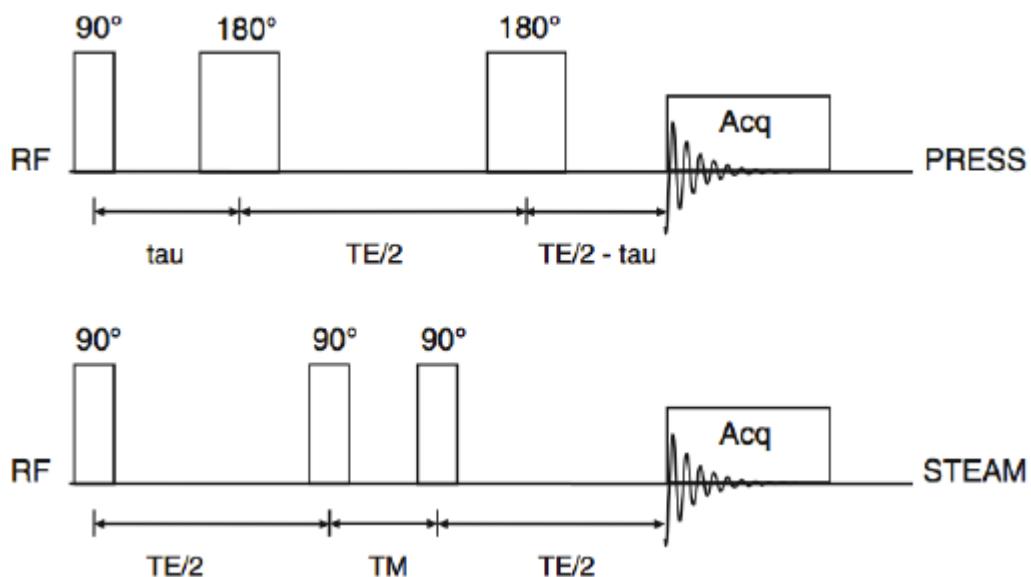
Single-voxel Spektroskopija (SVS) podrazumeva detekciju signala iz unapred selektovanog elementa zapreme. Odabir želenog voksla postiže se kombinacijom trodimenzionalnih slojevitih eksitacija, što se postiže simultanom primenom radiofrekventnog impulsa i gradijenta polja. Rezultat predstavljaju tri ortogonalne ravni, unutar kojih su željeni slojevi pobuđeni i čiji presek odgovara zapremini od interesa.

Ova tehnika lokalizacije obezbeđuje kompletну trodimenzionalnu lokalizaciju. Uključuje metode koje zahtevaju više akvizicija da bi se postigla potpuna lokalizacija, ali i metode koje proces lokalizacije izvrše jednom akvizicijom. Single-voxel Spektroskopija pri procesu akvizicije koristi dve osnovne tehnike: point-resolved spektroskopija (PRESS) i stimulated echo acquisition mode (STEAM). Obe koriste sekvencu sadržanu iz tri impulsa, pri čemu je svaki impuls kombinovan sa gradijentima koji vrše lokalizaciju i primenjuju se u X-, Y- i Z-pravcu. Najčešće korišćena SVS akviziciona tehnika jeste PRESS, čija sekvenca podrazumeva dobijanje spektra upotrebom jednog 90° impulsa, praćenog sa dva 180° impulsa. Sva tri impulsa primenjuju se simultano sa različitim gradijentima magnetnog polja, te signal emitovan iz posmatrane zapreme predstavlja stimulisani spin echo signal. Prvi 180° puls primenjuje se TE/2 nakon primene početnog 90° impulsa, dok se drugi po redu 180° impuls uvodi nakon isteka perioda od TE/2+TE. Signal se pojavljuje nakon vremenskog perioda jednakog dvostrukom vremenu eha (2TE) (Slike 12. i 13.). Kako bi se postigla detekcija signala koji potiče isključivo iz volumena od interesa, koriste se spoiler gradijenti, čija se uloga sastoji u defaziranju jezgara koja se nalaze van VOI, što rezultuje redukcijom singala koje ona odašilju (*Debora Berthold et al., 2013; Peter B. Barker, 2005; Harmen Reyngoudt, 2012*).



Slika 12. PRESS i STEAM sekvenca (*Debora Bertholdo et al., 2013*).

Drugi najkorišćeniji akvizicioni метод predstavlja STEAM метод. Ova sekvenca podrazumeva primenu tri selektivna impulsa od 90° , uz dodatak različitih gradijenata magnetnog polja. Po isteku $TE/2$ od primene prvog impulsa, sledi drugi po redu impuls, dok se vremenski period koji razdvaja drugi i treći impuls od 90° naziva „mixing time“ (MT) i kraći je od vremena eha. Signal se javlja po isteku perioda jednakog zbiru vremena eha i vremena mešanja ($TE+MT$) (Slike 12. i 13.). Ovakav set impulsa proizvodi 4 echo signala (5 ukoliko su prva dva RF impulsa bliža od drugog i trećeg), od kojih je jedan stimulisani echo signal, tj. signal od interesa u MRS. Dolazimo do zaključka da akvizicioni proces koji koristi STEAM tehniku traje kraće od procesa koji podrazumeva upotrebu PRESS metoda. Kao i u prethodnom slučaju neophodni su spoileri gradijenti, kako bi se redukovala amplituda signala koji potiču iz regona van zapremine od interesa (*Debora Bertholdo et al., 2013; Peter B. Barker, 2005; Harmen Reyngoudt, 2012*).



Slika 13. PRESS i STEAM sekvenca (*Harmen Reyngoudt, 2012*)

Kako STEAM sekvenca koristi isključivo selektivne impulse od 90° , poseduje dvostruko niži signal-šum odnos od PRESS metoda. PRESS koristi dva impulsa od 180° , što rezultuje lošije definisanim volumenom od interesa, tj. lošijom lokalizacijom, ali većim SNR. Kako impuls od 180° traje duže od impulsa od 90° , PRESS podrazumeva korišćenje kratkog vremena eha. Sledi da će u slučaju potrebe za što preciznijom definicijom volumena od interesa i kratkim vremenom eha, izbor pasti na STEAM metod. Ono što PRESS i dalje čini najkorišćenijim metodom, jeste činjenica da dvostruko veći SNR u odnosu na STEAM obezbeđuje bolji kvalitet dobijenog spektra.

3.3.2 Stimulisani echo signali

Da bismo objasnili pojavu stimulisanog eha, razmatrajmo seriju od tri 90° impulsa na različitim međusobnim rastojanjima. Primenu prvog ekscitacionog impulsa prati generisanje razlike u fazama između jezgara. Drugi impuls vraća većinu jezgara u longitudinalnu ravan, dok se neznatan broj njih zadržava u transverzalnoj ravni, gde pri njihovom refaziranju dolazi do formiranja prvog spin echo signala. U isto vreme, jezgra vraćena u longitudinalnu ravan vrše T_1 relaksaciju, sve do trenutka primene trećeg impulsa, koji ih ponovo vraća u transverzalnu ravan, gde konačno refaziranje prati emisiju stimulisanog echo signala. Na stimulisani echo utiče i T_2 relaksacija tokom perioda između prvog i drugog primjenjenog impulsa, dok se zavisnost od T_1 relaksacije ispoljava u vremenskog periodu između drugog i trećeg impulsa (TM) (*Donald W. McRobbie et al., 2006*).

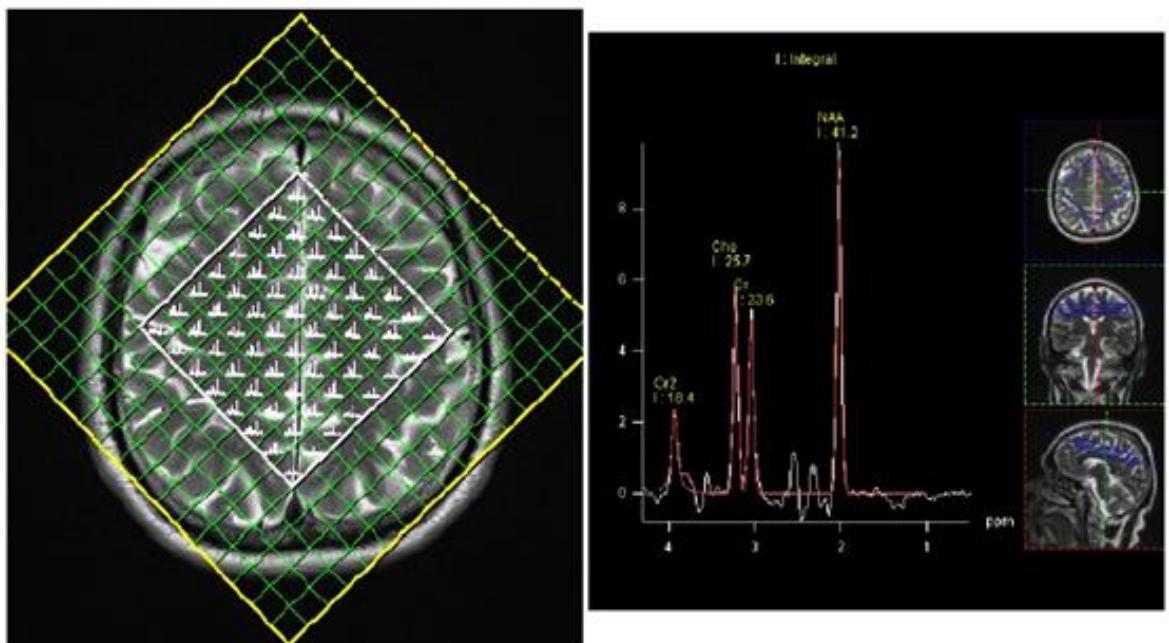
3.3.3 Magnetno Rezonantni Spektroskopski Imidžing

Magnentno Rezonantni Spektroskopski Imidžing (MRSI) ili „Chemical Shift Imaging“ predstavlja multi-voxel tehniku. Glavni cilj ovog metoda jeste postizanje simultanog snimanja signala iz većeg broja voksela, te dobijanje prostorne distribucije metabolita primenom jedne sekvence. CSI koristi tehnike faznog kodiranja za dobijanje spektra iz matrice voksela (Slika 14.). Gradjeni za selekciju sloja zamenjeni su gradijentima za fazno kodiranje, koji funkcionišu na identičan način kao i selektivni gradjeni u trodimenzionalnoj imidžing sekvenci. Nakon primene radiofrekventnog impulsa i gradijenta za selekciju sloja, kodiranje prostorne informacije postiže se upotrebom gradijenata koji vrše fazno kodiranje. Za razliku od konvencionalnog Magnetno Rezonantnog Imidžinga, MRSI ne uključuje korišćenje gradijenata za frekventno kodiranje. Samim tim anatomska informacija sadržana u standardnom MRI signalu u ovom slučaju izostaje. Dobijamo spektar metabolita čiji hemijski pomeraj zavisi od svojstava pojedinačnih metabolita. Akvizicioni proces podrazumeva korišćenje istih tehnika (PRESS i STEAM) kao i u slučaju SVS.

Osnovna razlika između SVS i MRSI leži u tome što se pri Magnetno Rezonantno Spektroskopskom Imidžingu nakon primene radiofrekventnog impulsa, pomoću gradijenata vrši fazno kodiranje u jednoj, dve ili tri dimenzije (primena gradijenata u tri međusobno ortogonalna pravca), pri čime se omogućava uzorkovanje k-prostora.

Dvodimenzionalna MRSI za rezultat daje matricu koja se naziva spektroskopska mreža i čija veličina odgovara unapred određenoj veličini posmatranog polja (FOV). Trodimenzionalna sekvenca spodrazumeva veći broj spektroskopskih mreža unutar jednog polja (FOV). Uobičajeno je da se za mapiranje distribucije metabolita u lokalizovanom sloju moždanog tkiva koristi 2D jednoslojni CSI, uz upotrebu STEAM ili PRESS tehnike. Broj particija mreže, tj. voksela unutar posmatranog polja, proporcionalan je broju koraka faznog kodiranja.

Kako se signal meri isključivo iz voksela definisanog STEAM ili PRESS tehnikom, bilo koja kombinacija FOV i broja koraka faznog kodiranja može biti korišćena za dobijanje željene rezolucije voksela, s tim da je bitno održati FOV većim od dimenzija posmatranog voksela. Poboljšanje prostorne rezolucije postiže se upotrebom što većeg broja voksela unutar posmatranog FOV. Veći broj voksela zahteva veći broj koraka faznog kodiranja, što rezultuje dužim akvizpcionim vremenom, pa se mora napraviti kompromis pri određivanju parametara snimanja, kako kvalitet spektra ne bi bio degradiran. Pored broja voksela unutar FOV, prostorna rezolucija predstavlja funkciju veličine samog FOV (manji FOV daje bolju rezoluciju) i takozvane PSF funkcije (point of spread function), kojom se opisuje raspodela signala emitovanog od strane tačkastog izvora. Ova funkcija povezana je sa kontaminacijom pojedinačnih voksela signalima koji potiču iz okolnih voksela. Oblak PSF funkcije određen je metodom korišćenim za uzorkovanje k-prostora, kao i brojem koraka faznog kodiranja. Može se izbeći primenom broja koraka faznog kodiranja većeg od 64, što povlači za sobom dugo vreme akvizicije i gubitak mogućnosti kliničke primene. Filterovanje i redukcija samog k-prostora povlači za sobom redukovanje PSF funkcije, što se postiže merenjem isključivo unutar kružnih (2D) i sferičnih (3D) regiona (*Debora Bertholdo et al., 2013; Stefan Posse et al., 2012*).



Slika 14. Levo: Spektralna mapa, desno: pridruženi spektar (*D. Strožik-Kotlorz, 2012*).

Pri izvođenju MRSI neophodno je izvršiti suzbijanje nepoželjnih signala koji potiču van mozga, gde prednjači gušenje signala poteklih iz potkožnog tkiva, s obzirom da lipidi koji ga sačinjavaju emituju znatno viših amplituda od moždanih metabolita. Kako FOV uvek poseduje pravougaoni oblik, a sam mozek je ovalnog oblika, potrebno je primeniti odgovarajuće tehnike za optimalizaciju FOV. Najčešće korišćen metod naziva se metod spoljašnjeg suzbijanja volumena tkiva (OVS).

Cena koja se plaća primenom tehnika za optimalizaciju MRSI, povećanje prostorne rezolucije, suzbijanje signala koji potiču van posmatranog voksela i povećanje broja koraka faznog kodiranja, jeste duže vreme akvizicije. Bitno je napomenuti da veličina samog FOV veoma utiče na dužinu trajanja akvizicionog perioda. Veći FOV zahteva duže vreme snimanja. Ovaj problem rešava se redukcijom dimenzija FOV, gde je optimalna veličina ona koja odgovara dimenzijama objekta

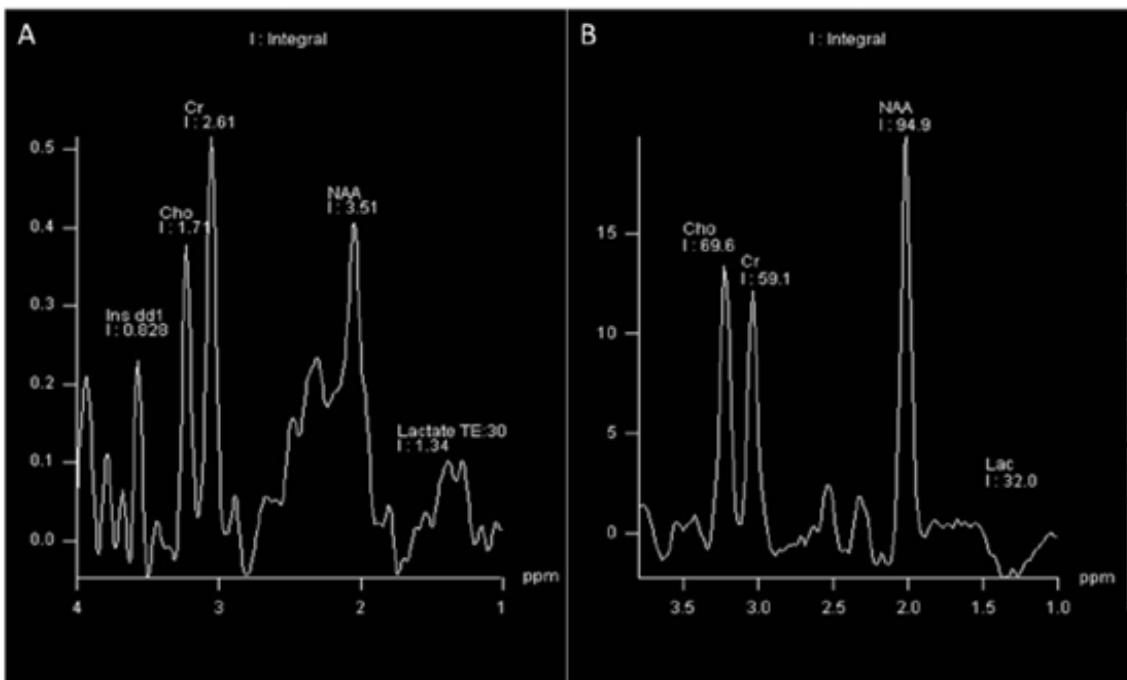
koji se analizira. Akvizicioni period smanjuje se i modifikovanjem oblika FOV, tj. uzorkovanjem unutar kružnih ili sferičnih regiona.

3.3.4 Poređenje SVS i MRSI

Zavisno u koje se svrhe koriste, obe tehnike pokazuju određene prednosti i mane. Single-voxel Spektroskopija rezultuje spektrom visokog kvaliteta, obezbeđuje dobru homogenost polja, kratko vreme skeniranja, kao i kratko vreme eha, s obzirom da duže vreme eha dovodi do slabljenja signala usled T_2 relaksacije. SVS tehnika koristi se dakle za visokokvalitetno kvantifikovanje moždanih metabolita. Bolja prostorna rezolucija predstavlja glavnu prednost MRSI u odnosu na SVS tehniku, koja rezultuje spektrom iz ograničenog moždanog regiona. Mreža dobijena upotrebom MRSI omogućava repozicioniranje voksela tokom postprocesinga, s tim da usled registrovanja signala koji potiču iz okolnih voksela, kvantifikacija metabolita ne dostiže nivo preciznosti prisutan u slučaju SVS tehnike. Samim tim, MRSI se može koristiti za određivanje prostorne nehomogenosti (*Peter B. Barker, 2005; Stefan Posse et al., 2012*).

3.4 Poređenje dugog i kratkog vremena eha

Magnetno Rezonanatna Spektroskopija može se izvoditi korišćenjem različitih vrednosti vremena eha, što rezultuje spektrima različitih svojstava. Kratko evreme eha podrazumeva period u trajanju od 20 ms do 40 ms, poseduje veći odnos signal-šum (SNR), ali i manji gubitak signala usled T_1 i T_2 otežanja, pri poređenju sa upotrebom dugog vremena eha. Spektre dobijene upotrebom kratkog vremena eha (Slika 15.) karakteriše veći broj vidljivih metaboličkih rezonantnih linija, koji u slučaju dugog TE neće biti prikazani na spektru. Kako spektar prikazuje veći broj pikova, očekuje se i više slučajeva preklapanja istih, pa se pri kvantifikaciji pojedinačnih metabolita mora obratiti posebna pažnja (*Debora Bertholdo et al., 2013*).



Slika 15. Spektri dobijeni upotrebom TE od 30 ms (levo) i 135 ms (desno) (*Debora Bertholdo et al., 2013*)

Ukoliko se MRS metod izvodi uz dugo TE, radi se o vremenskom periodu između 135 ms i 288 ms. Iako je SNR primetno niži, usled gušenja određenog broja signala, dobijeni spektar je znatno jednostavniji za analizu i interpretaciju. Ovakav spektar sadrži pik laktata, invertovan ispod osnovne linije, što olakšava njegovo razlučivanje i razdvajanje od rezonantnih linija koji odgovaraju lipidima, a koji se u slučaju primene kratkog TE preklapaju sa rezonantnom linijom laktata. U slučaju da TE uzima vrednosti između 270-288 ms, invertovanje laktatnog pika ponovo izostaje (*Debora Bertholdo et al., 2013*).

3.5 Supresija vodenog signala

Moždani metaboliti vidljivi Magnetno Rezonantnoj Spektroskopiji su u niskim koncentracijama prisutni u moždanom tkivu. Kako je koncentracija vodenih molekula u moždanim tkivnim strukturama najveća, od njih potekli signali posedovaće daleko više (i do 10^5 puta) amplitudu od rezonantnih linija koje pripadaju ostalim metabolitima, što za posledicu ima distorziju bazne linije. Sledi da je neophodno primeniti tehnike suzbijanja vodenog signala, kako bi se izbegla situacija u kojoj se rezonantne linije koje pripadaju ostalim metabolitima ne izdižu iznad nivoa šuma i ne bivaju vidljive na spektru.

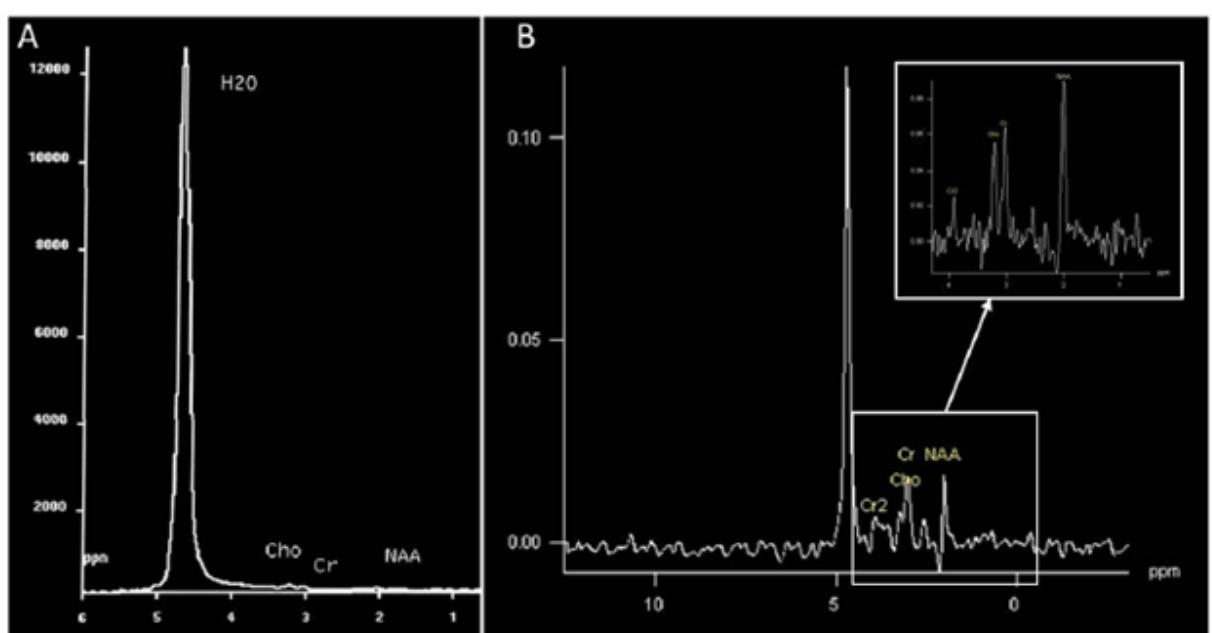
Kako bi se rezonancija vode uspešno suzbila neophodno je postojanje MR vidljivih razlika u karakteristikama molekula od interesa i vode, kao što su razlike u hemijskom pomeraju, T_1 ili T_2 relaksaciji, sprezanju ili stepenu difuzije. Univerzalna tehnika još uvek ne postoji, ali su definisani kriterijumi za procenu kvaliteta i efikasnosti postojećeg metoda za supresiju vodenog signala:

- stepen gašenja
- neosetljivost na RF nehomogenosti
- jednostavnost faznog korigovanja spektra
- neosetljivost na efekte relaksacije

- e) perturbacija drugih rezonancija
- f) mogućnost detektovanja rezonancija bliskih frekvenciji vode (*De Graaf, 1998*).

3.5.1 Gašenje signala vode metodom frekventno-selektivne ekscitacije

Frekventno rastojanje rezonantnih linija u spektru zavisi od jačine i homogenosti magnetnog polja. Niske vrednosti magnetne indukcije upotrebljenog polja otežavaju interpretaciju i kvantifikaciju rezonantnih linija. Smatra se da je jačina polja od 1.5 T minimalna upotrebljiva vrednost u MRS, dok već pri jačinama polja nešto iznad 3T, pacijentova susceptibilnost postaje dominantan izvor nehomogenosti, što dalje rezultuje degradacijom spektralne rezolucije (*Donald W. McRobbie et al., 2006*).



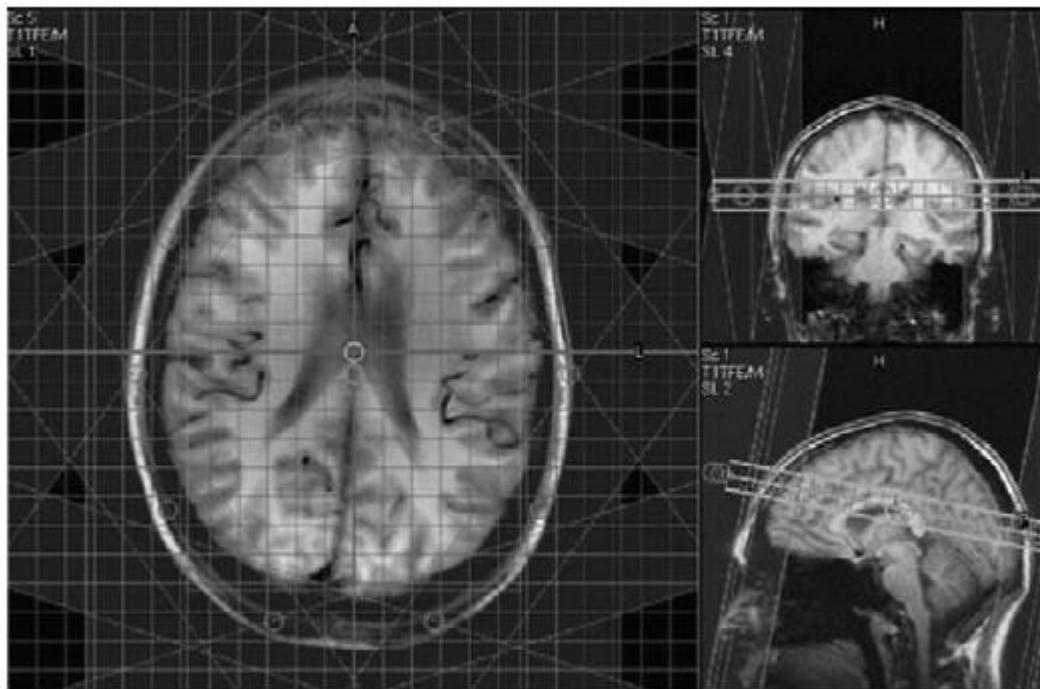
Slika 16. Izgled spektra pre i nakon primene CHESS tehnike (*Debora Bertholdo et al., 2013*)

Najčešće primenjivana tehnika *in vivo* suzbijanja vodenog signala, takozvana CHESS (CHEmical Shift Selective) tehnika, dovodi do saturacije vodenog signala pomoću frekventno selektivnih RF impulsa od 90° , čija primena prethodi impulsnoj sekvenci koja za ulogu ima lokalizovanje regije od interesa. Selektivni RF impuls, čija frekvencija odgovara Larmurovoj frekvenciji vode, pobuđuje vodu u transverzalnoj ravni, gde se zatim koherencija defazira primenom gradijenta magnetnog polja. Dužina trajanja impulsa, kao i vremenski period između primene CHESS-a i pobuđivanja metabolita treba da budu što kraći, kako bi se izbegla T_1 relaksacija. Najčešće se koriste RF impulsi Gausovog oblika, zbog njihovog dobro definisanog frekventnog profila. Efikasnost supresije CHESS sekvence zavisi od mogućnosti RF impulsa da generiše transverzalnu komponentu magnetizacije za sva vodena jezgra unutar regije od interesa. Iz ovog razloga su homogenost magnetnih polja B_0 i B_1 ključne za postizanje visokog nivoa supresije vode. Za optimalnu homogenost B_0 i B_1 dovoljna je jedna primena CHESS sekvence, mada se u praktičnom radu CHESS element primenjuje dva ili tri puta, sa ciljem postizanja što višeg stepena supresije vode. Istraživanja su pokazala da primena tri CHESS sekvence pre STEAM ili PRESS lokalizacione tehnike, rezultuje suzbijanjem vodenog signala za faktor ≈ 600 , dok se primenom

jedne CHESS sekvence signal vode suzbije za faktor ≈ 20 (*Klose, 2003; De Graaf, 1998*). Na slici 16. prikazan je izgled spektra pre i nakon primene CHESS tehnike.

3.6 Metod spoljašnjeg suzbijanja volumena tkiva (OVS)

Prostorna supresija perifernih regiona (OVS) koristi se u MRS kako bi se redukovala kontaminacija jakim vodenim i lipidnim signalima (Slika 17.). Ručno postavljanje velikog broja spoljašnjih saturacionih blokova predstavlja veoma zahtevan zadatak, oduzima dosta vremena i postaje sve teže izvodljivo sa porastom broja blokova. Zbog toga su uvedene metode za automatsku segmentaciju MR slike visoke rezolucije, sa ciljem identifikovanja perifernih regiona koji sadrže lipide. Ovaj metod omogućava preračunavanje optimalne lokalizacije blokova za supresiju u sve tri dimenzije, tako da je ostvareno maksimalno pokrivanje regiona sadržanih iz lipida, dok je supresija regiona van glave i kortikalnih moždanih regiona svedena na minimum (*Manuel Martinez-Ramon et al., 2010*).



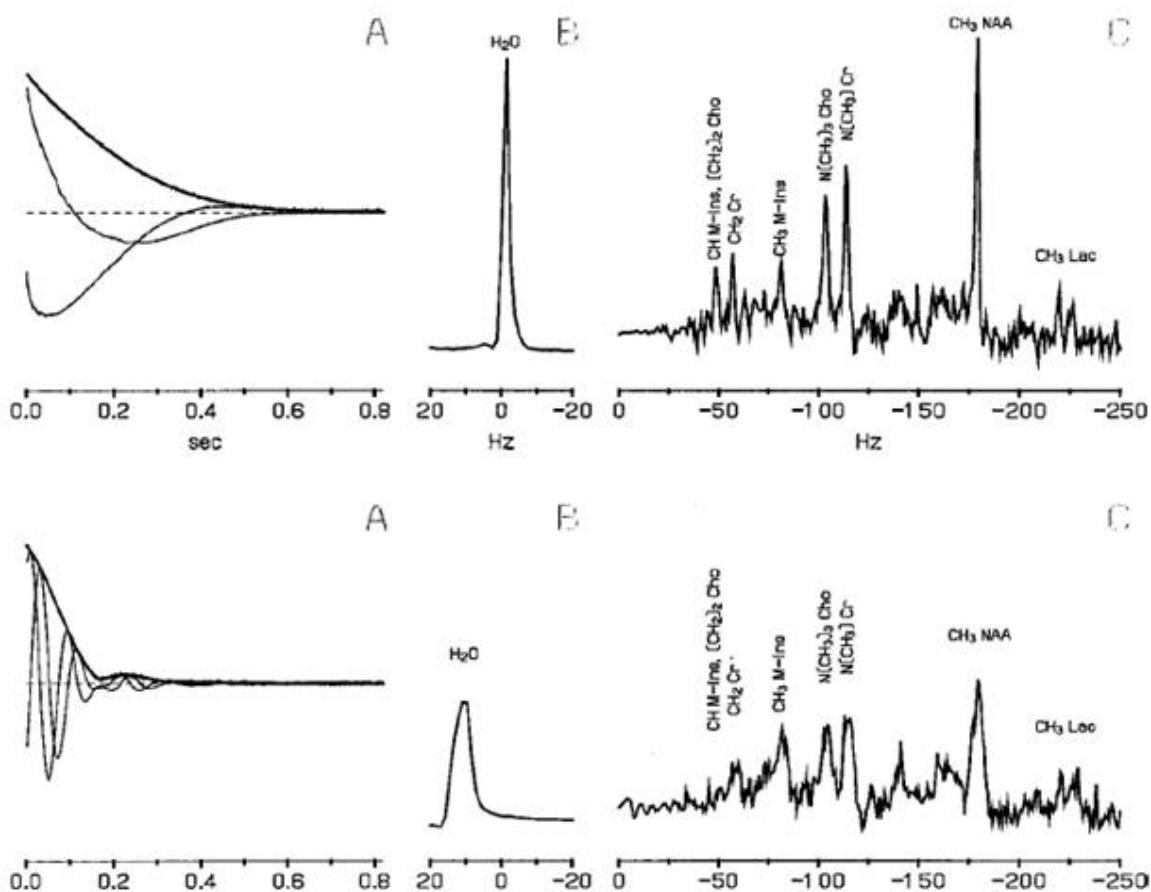
Slika 17. Minimiziranje nepoželjnih signala van VOI upotrebom OVS (*Debora Bertholdo et al., 2013*).

Uместо ekscitovanja jezgara unutar posmatranog volumena od interesa, moguće je primeniti šeme za selekciju slojeva i supresiju, koje funkcionišu na principu prebacivanja magnetizacije u transverzalnu ravan i defaziranja protona putem spoiler gradijenata, kako bi se eliminisala magnetizacija van VOI. Posledica ovoga je odsustvo magnetizacije u regionima van volumena od interesa. Lokalizacija u jednoj dimenziji podrazumeva postavljanje po dva sloja za suzbijanje sa obe strane ispitivanog dela. Samim tim zaključujemo da se volumen od interesa može definisati upotrebom tri para OVS impulsa. Nakon pravilnog pozicioniranja šest impulsa za suzbijanje signala i njihove primene, moguće je upotrebom neselektivnog ekscitacionog RF impulsa dobiti lokalizovan protonski MR spektar. Primenu celokupne postavke moguće je ponoviti nekoliko puta, ukoliko želimo obezbediti snažnu supresiju okolne magnetizacije. Ovim procesom moguće je ostvariti lokalizaciju VOI jednim snimanjem, kao i akviziciju podataka neposredno nakon primene

neselektivnog RF impulsa, što omogućava prikaz rezonančnih linija metabolita koji poseduju kratko relaksaciono vreme T_2 . Sasvim je jasno da je supresija veoma važan element koji osigurava lokalizaciju i samim tim kao metod mora biti veoma efikasan u eliminisanju nepoželjnih signala (Charlotte Stagg, Douglas L. Rothman, 2013).

3.7 Shimming

Termin „Shimming“ odnosi se na proces podešavanja gradijentata polja, sa ciljem optimalizacije homogenosti magnetnog polja unutar posmatranog voksela. Homogenost voksela izražava se širinom rezonantne linije (širina na polovini visine) vode u ppm. Svaka pojava koja rezultuje redukovanjem homogenosti unutar voksela, dovodi do širenja rezonantne linije vode. Kao što je već napomenuto, pacijent usled varijacija vrednosti magnetne susceptibilnosti unutar glave, dovodi do pojave primetnih nehomogenosti. Slika 18. prikazuje izgled spektra usled primene dobrog i lošeg shimminga.



Slika 18. Primer lošem (gornja slika) i dobrog (donja slika) shimminga. (A) prikazuje jačinu vodenog signala u vremenskom domenu, kao i signale iz dva prijemna kanala. (B) sadrži apsorpcioni spektar vode sa širinom rezonantne linije na polovini visine od 1.9 Hz. (C) prikazuje apsorpcioni spektar nakon supresije vodenog signala (Dick J. Drost et al., 2002).

Sam proces shimminga podrazumeva primenu konstantnih struja putem gradijentnih zavojnica, uz upotrebu odgovarajućih shimming algoritama koji vrše optimalizaciju homogenosti u posmatranom elementu zapremine tkiva (*Donald W. McRobbie et al., 2006*).

3.8 Obrada signala

Obrada signala, ili takozvani postprocesing, koji podrazumeva metode analize i kvantifikacije prikupljenih podataka, jednako je važan kao i tehnike primenjene za njihovu akviziciju i dobijanje spektra. Postoje mnoge tehnike postoprocesinga koje se koriste pre i posle Furijeove transformacije (FT). Upotrebom odgovarajućih filtera može se manipulisti karakteristikama spektra, pre vršenja Furijeove transformacije. Neki od koraka obrade signala koje je moguće vršiti tokom vremenskog domena su: „zero-filling“, „eddy-current“ korekcija i upotreba „band-reject“ filtera. Upotreba „Zero-filling“-a dovodi do poboljšanja rezolucije spektra, dok „eddy-current“ korekcija eliminiše „eddy-current“ artefakt upotrebom referentnog signala (npr. nesuzbijeni vodeni signal) i primenom vremenski zavisne fazne korekcije. Uloga „Band-reject“ filtera ogleda se u uklanjanju vodenog signala zaostalog nakon primene metode suzbijanja tokom procesa akvizicije signala. Furijeovoj transformaciji sleduje frekventni domen, kao i korekcija osnovne i fazne linije. Sve navedene metode postoprocesinga, mogu biti korišćene kako pri SVS, tako i pri MRSI. Međutim, s obzirom da MRSI koristi gradijente za fazno kodiranje, pre Furijeove transformacije moraju se primeniti takozvani „Fermi“ (proizvodi prostorno izotropnu PSF, uz minimalno pogoršanje rezolucije) i „Hamming“ filteri (definišu prozor za filterovanje FT) (*Dick J. Drost et al., 2002; Stefan Posse et al., 2012*).

3.8.1 Obrada signala u vremenskom domenu

Spektralna analiza uključuje nekoliko postupaka postoprocesinga u vremenskom domenu. Prvo se digitalni spektralni podaci vremenskog domena koriguju, kako bi se uklonile fazne varijacije nastale usled prisustva zaostalih gradijentom indukovanih eddy struja (*Klose, 1990*). Sledeći korak uključuje primenu digitalnog filtera kako bi se otklonio zaostali vodeni signal (*Alain Coron et al., 2001*). Rezultujuće vrednosti množe se sa opadajućom funkcijom (na primer opadajuća eksponencijalna ili Gausova funkcija), sa ciljem atenuacije signala koji su u spektru pozicionirani desno od FID-a. Ovaj korak se naziva „apodization“. Njegova uloga je redukcija nivoa šuma u spektru, s tim da je cena poboljšanog SNR širenje rezonantnih linija. Poslednji korak, takozvani „zero-filling“, podrazumeva dodeljivanje nultih vrednosti signalima sa desne strane FID, što dovodi do poboljšanja rezolucije spektra, s obzirom da se supresuju signali koje karakteriše veći nivo šuma, ali takođe i rezultuje neznatnim širenjem rezonantnih linija u frekventnom domenu (*Stefan Posse et al., 2012*).

3.8.2 Furijeova transformacija

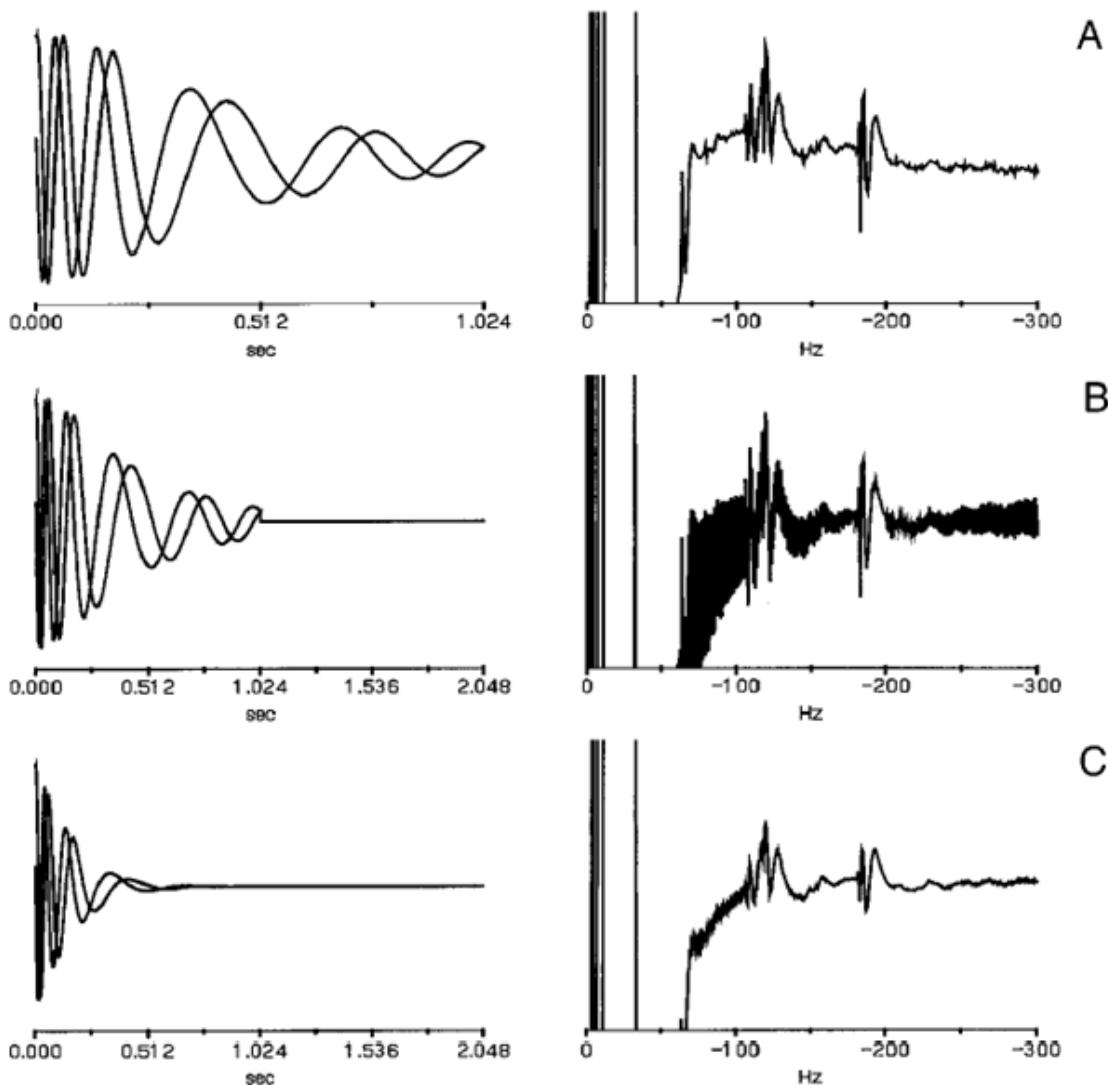
Podaci korigovani u vremenskom domenu se zatim podvrgavaju Furijeovoj transformaciji, što za posledicu ima dobijanje spektra. Preostali procesi obrade spektra obavljavaju se u frekventnom domenu. Dobijeni spektar poseduje rezonantne linije iskrivljenog oblika ili invertovane ispod bazne linije, što se rešava primenom algoritama za faznu korekciju.

3.8.3 Obrada signala u frekventom domenu. Korekcija osnovne linije

Sledeći korak postprocesinga jeste ručna ili automatska korekcija osnovne linije, koja nakon procesa fazne korekcije obično ostaje poremećena i ne zauzima horizontalan položaj. Nakon korekcije spektar se odlikuje dobro definisanom, horizontalnom baznom linijom. Ručna obrada podrazumeva definisanje nekoliko tačaka u spektru, obično između rezonantnih linija važnih metabolita, te se linija koja ih povezuje smatra baznom linijom. Sa druge strane, automatsko korigovanje se sastoji iz procesa fitovanja spektra uniformno varijajućom polinomskom funkcijom, do nivoa spektra u kojem je sadržan isključivo šum, i oduzimanjem rezultujuće funkcije. Rezultat predstavlja spektar sa ravnom baznom linijom i dobro definisanim pikovima, spremnim za dalju kvantifikaciju.

Poslednji korak obrade spektra predstavlja određivanje površine rezonantnih linija metabolita. Jačina signala pojedinačnih metabolita proporcionalna je visini signala u vremenskom domenu. U frekventnom domenu to odgovara vrednosti površine ispod pika. Bitno je napomenuti da visina pika nije mera koncentracije metabolita. Proses kvantifikacije podrazumeva preračunavanje površine rezonantne linije u koncentraciju metabolita. Kvantifikacija se bazira na činjenici da je jačina signala metabolita, emitovanog iz volumena od interesa, proporcionalna broju jezgara sadržanih u posmatranom VOI, što je direktno proporcionalno broju jezgara koji doprinose rezonanciji i koncentraciji metabolita (*Peter B. Barker, 2005; Dick J. Drost et al., 2002*).

Slika 19. pokazuje kako se menja spektar pri postprocesingu FID dobijenog upotrebom PRESS tehnike (TE 5135 ms, TR 53000 ms) iz fantoma sadržanog iz čiste vode i 45 mM metil protona NAA, Cr i Cho. Slike na levoj strani odgovaraju signalu u vremenskom domenu, dok desna strana prikazuje apsorpcioni spektar istog signala. Frekvencija vode podešena je na nultu vrednosti. (A) Frekvencijski spektar sadrži „eddy current“ distorzije, kao i takozvani „sinc ringing“ artefakt, kao posledice toga da signal u vremenskom domenu još uvek nije dostigao nultu vrednost u trenutku završetka očitavanja. (B) Prikazan je isti signal, ali nakon procesa „zero fillinga“ prvobitnih 1024 tačaka, na konačnih 2048 tačaka. (C) Isti podaci prikazani su, ali nakon primene apodization filtera. Posledica ovoga je otklanjanje „sinc ringing“ artefakta, ali i pogoršanje spektralne rezolucije. „Eddy current“ artefakt je i dalje prisutan (*Dick J. Drost et al., 2002*).



Slika 19. Primer post-processinga FID dobijenog upotrebom PRESS tehnike (TE 5135 ms, TR 53000 ms) iz fantoma sadržanog iz čiste vode i 45 mM metil protona NAA, Cr i Cho (Dick J. Drost et al., 2002).

3.9 Artefakti

Magnetno Rezonantna Spektroskopija kao tehnika sklonja je prisustvu artefakata. Neki od faktora koji utiču na pojavu artefakata u spektru su: kretanje vodenih molekula, nedovoljno dobro suzbijanje lipidnih i vodenih signalova, „eddy currents“, hemijski pomeraj, kao i nehomogenost polja, koja ujedno predstavlja jedan od najvažnijih faktora koji utiču na kvalitet snimljenog spektra. Nedovoljna homogenost spoljašnjeg magnetnog polja rezultuje lošim SNR, kao i povećanjem širine linijskih struktura u spektru.

Pri MRS mozga, treba voditi računa o pozicioniranju volumena od interesa, s obzirom da su neke regije susceptibilnije za ovaj artefakt od drugih, kao npr. tkivne strukture koje se nalaze u blizini kostiju ili granične površine između tkiva i vazduha. Ovo je jedan od razloga izbegavanja pozicioniranja VOI u regionima bliskim frontalnom ili anteriorno temporalnom režnju. „Eddy-currents“ su posledica alteracije gradijenta polja. Kratkotrajne struje izazivaju distorzije oblika

pikova, što dalje otežava kvantifikaciju spektra. Artefakt hemijskog pomeraja analogan je artefaktu koji se javlja pri konvencionalnom Magnetno Rezonantom Imidžingu. Određivanje lokacije voksela iz kojeg potiče detektovani signal zasniva se na rezonantnoj frekvenciji jezgara, koja za različite metabolite poprima različite vrednosti. Tačna pozicija svakog pojedinačnog metabolita nešto je drugačija. Prisustvo ovog artefakta primetnije je pri većim jačinama spoljašnjeg magnetnog polja, pa se moraju koristiti jaki gradijenti polja pri selekciji slojeva (*Debora Bertholdo et al., 2013*).

Glava 4

4. Spektar

4.1 Odlike spektra

Protomska Magnetno Rezonantna Spektroskopija omogućava detekciju rezonantnih linija metabolita mozga. Promene u izgledu spektra ukazuju na prisustvo strukturnih abnormalnosti. Kako bi se pomenute abnormalnosti detektovale, neophodno je poznavanje izgleda normalnog spektra mozga, kao i njegovih varijacija u zavisnosti od vrste upotrebljene tehnike, regiona koji se snima i pacijentove starosti. Horizontalna (X-) osa spektra prikazuje hemijski pomeraj metabolita izražen u ppm. Vertikalna, Y-osa prikazuje amplitudu signala metabolita, gde visina pika izražava relativnu koncentraciju, dok površina ispod pika koncentraciju metabolita. Sekvence snimljene uz upotrebu dugog vremena eha rezultuju boljim SNR, pri poređenju sa sekvcencama koje koriste kratko vreme eha. Dugo vreme eha (135-288ms) omogućava dobijanje spektra na kojem su prikazani sledeći metaboliti: NAA, Cr, Cho, Lac, uz otvorenu mogućnost prikaza i Ala. Kratko vreme eha (20-40ms) omogućava prikaz svih navedenih metabolita, uz dodatak: Lip, Myo, Glx, glukoze i određenih makromolekula proteina (*Donald W. McRobbie et al., 2006*).

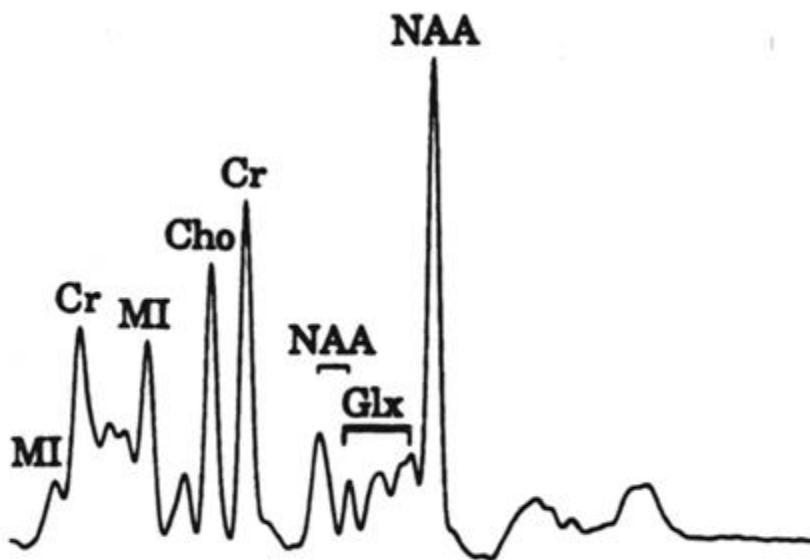
Visina rezonantnih linija zavisi od korišćene MRS sekvence, kao i podešenih vrednosti parametara merenja, kao što su TR i TE. Svaki metabolit poseduje sopstvene vrednosti T₁ i T₂ relaksacionih vremena. Spektroskopija ima za zadatak postizanje maksimalnog mogućeg SNR spektralnih linija, te je neophodno izbeći gubitak signala usled T₁ i T₂ relaksacije. Korišćene vrednosti TR parametra ne bi trebalo da idu ispod 2000 ms, dok vreme eha uzima različite vrednosti, a sve u zavisnosti od toga šta želimo da prikažemo na spektru (*Donald W. McRobbie et al., 2006*).

4.2 Metaboliti mozga

4.2.1 N-acetilaspartat (NAA)

Amplituda signala poteklog od metil grupe N-acetilaspartata uzima najveću vrednost u spektru zdravog ljudskog mozga. Vrednost hemijskog pomeraja dodeljena N-acetilaspartatu iznosi 2.02 ppm. U in vivo MRS mozga, singlet NAA na 2.02 ppm se preklapa sa rezonantom glutamata na 2.04 ppm i GABA na 1.91 ppm, što komplikuje kvantifikaciju (*Danielsen et al., 1999; Cozzzone, 2003*). Poseduje dugo T₂ relaksaciono vreme, te se posledično ne menja u funkciji od vrednosti vremena eha. Sintetiše se u mitohondrijama neurona, te biva transportovan u neuronsku citoplazmu i raspoređen duž aksona. Detektuje se isključivo u nervnom sistemu (perifernom i centralnom), kao i u sivoj i beloj moždanoj masi. Predstavlja neuronski i aksonski marker, tačnije marker njihove gustine i aktivnosti. NAA takođe predstavlja i cerebralni osmolit. Koncentracija ovog metabolita varira u različitim delovima mozga i menja se tokom životnih dobi. Odsustvo ili smanjena koncentracija NAA jasan je znak gubitka ili degradacije neurona. Neuronsko uništenje od strane tumora (*Hollingworth et al., 2006; Hou B. L., Hu J., 2009*), trauma (*Marino et al., 2011*), epilepsije,

multiple skleroze (*Gonzales-Toledo et al., 2006; de Stefano and Filippi, 2007*), Alchajmerove bolesti (*Kantarci, 2007; Loos et al., 2010*), šizofrenije ili ishemije, dovode do smanjene koncentracije NAA ili odnosa NAA/Cr (*Moffett et al 2007; Ross and Sanchdev 2004*). Određene vrste moždanih oboljenja, kao što je na primer Canavanova bolest, imaju suprotan efekat i dovode do porasta koncentracije NAA u odnosu na zdravo moždano tkivo. NAA se ne manifestuje u meningoziama, kao ni u metastazama. Kolika je važnost NAA kao moždanog metabolita najbolje se vidi na primeru Kanavanove bolesti, autosomatske recessivne neurodegenerativne mutacije koja izaziva nedostatak enzima aspartacilaze i dovodi do akumulacije N-acetilaspartične kiseline u mozgu, što izaziva oštećenja bele moždane mase i stvaranje sunđerastog tkiva. Kanavanova bolest dovodi do ozbiljnih kognitivnih deficitova i skraćenog životnog veka obolelog deteta (*Matalon et al 1988; B. Repić Lampret et al., 2008*).



Slika 20. Uobičajen ^1H MR spektar dobijen pri korišćenju kratkog vremena eha (*Jelena Ostojić, 2007*)

4.2.2 Kreatin (Cr)

U protonskom spektru normalnog tkiva, singlet rezonance kreatina nalazi se na 3.03ppm i 3.93ppm. Ovi singleti potiču od kreatina i fosfokreatina. Kreatin je marker intracelularnog energetskog metabolizma. Koncentracija mu je relativno konstantna i smatra se najstabilnijim cerebralnim metabolitom, te se iz tog razloga pri računanju odnosa metabolitskih koncentracija, koristi kao referentna vrednost. Naravno, moguće su individualne i regionalne varijacije u koncentraciji kreatina. Kreatin je u mozgu prisutan u neuronima kao i u glijalnim ćelijama (*Edelman et al, 1996*). Smatra se da služi kao energetski depo održavajući konstantnim nivo ATP-a kroz reakciju kreatin kinaze i kao transporter energije difundujući od mesta na kojima se proizvodi energija (npr. mitohondrije) do mesta na kojima se energija iskorištava. Moždane tumore karakteriše redukcija kreatinskog signala. Oštećenja centralnog nervnog sistema, dovodi do pojave glioze, koja može uzrokovati minimalni porast koncentracije Cr, usled povećane gustine glijalnih ćelija. Kreatin i fosfokreatin metabolizovani su do kreatinina, koji zatim biva izlučen iz organizma putem bubrega. Bolesti bubrega, kao i neke druge sistemske bolesti, mogu indirektno uticati na nivo kreatina u mozgu (*Debora Bertholdo et al., 2013; Lars G. Hanson, 2009*).

4.2.3 Holin (Cho)

Rezonantna linija holina, koja predstavlja kombinaciju holina i fosfoholina, smeštena je na 3.22 ppm. Pored singleta na 3.22 ppm, holin ima rezonance na 3.54 ppm i 4.05 ppm. Brojni metaboliti koji sadrže holin doprinose liniji na 3.22 ppm, te iz tog razloga koristimo termin komponente koje sadrže holin. U normalnim tkivima koncentracija Cho je ispod nivoa detekcije (<1 mM). Predstavlja marker metabolizma ćelijske membrane, tj. fosfolipidne sinteze i degradacije. U mozgu najveći doprinos piku holina daju fosforilholin i glicerofosforilholin. Nivo holina u tumorima odraz je stepena maligniteta, tj. stepena celularnosti. Nespecifičan porast nivoa holina prati infarkt (usled glioze ili oštećenja mijelina), kao i zapaljenske procese (kao posledica glijalne proliferacije) (*Debora Bertholdo et al., 2013; Lars G. Hanson, 2009*).

4.2.4 Laktat (Lac)

Pik laktata dosta je teško uočljiv u spektru zdravog mozga, gde u pojedinim slučajevima čak i u potpunosti izostaje. Predstavlja dublet linija na 1.33 ppm, koji je u slučaju da echo vreme uzima vrednost između 135-144 ms, potpuno van faze sa ostatkom spektra, te se projektuje ispod osnovne linije. Ukoliko su obe rezonantne linije dubleta vidljive, to predstavlja dobar indikator da se zaista radi o laktatu, a ne o kontaminaciji od strane lipida. Slabu rezonantnu liniju laktata moguće je uočiti u određenim fiziološkim stanjima, kao na primer u mozgu novorođenčeta, tokom prvih sati života. Pik laktata nije vidljiv na spektru normalnog mozga, te njegovo prisustvo ukazuje na patologiju. Njegova koncentracija značajno raste u aerobnim tkivima kao što su mišići i mozak, ukoliko su izložena uslovima nedostatka kiseonika. Nivo laktata raste i pri epileptični napadima, ishemiji, metaboličkim poremećajima, cerebralnoj hipoksiji, kao i u područjima u kojima je prisutna akutna inflamacija ili nekrotični i cistični tumor (*Debora Bertholdo et al., 2013; Lars G. Hanson, 2009*).

4.2.5 Lipidi (Lip)

Lipidi predstavljaju komponente ćelijske membrane neuočljive pri upotrebi dugog echo vremena, s obzirom da poseduju veoma kratko vreme relaksacije. Postoje dva lipidna pika: metil na 0.9 ppm i metilen na 1.3 ppm. Ovi pikovi su odsutni u spektru zdravog moždanog tkiva, ali se mogu pojaviti usled neprikladne selekcije voksela, pri čemu dolazi do kontaminacije voksela od strane okolnog masnog tkiva. Radi eliminisanja neželjenih rezonanci lipida (potkožno masno tkivo), neophodna je precizna prostorna lokalizacija. Preko 20% suve mase mozga čine lipidi, u formi mijelina, fosfolipida, sfingo-mijelina i lecitina. Nisu MRS uočljivi sve dok se usled prisustva određene patologije ne oslobođe triglyceridi i dugački lanci masnih kiselina iz njihovog sastava. Rezonantne linije lipida javljaju se pri oštećenju ćelijske membrane ili usled prisustva nekroze, kao posledice primarnog malignog tumora ili metastaze (*Debora Bertholdo et al., 2013; Lars G. Hanson, 2009*).

4.2.6 Mioinozitol (Myo)

Mioinozitol je jednostavni šećer, čije se rezonantne linije mioinozitola (*Myo-inositol*) nalaze na sledećim pozicijama: 3.28, 3.54, 3.60 i 4.05 ppm. Najizraženija rezonanca mI (na kratkom TE) je

na 3.56 ppm. Predstavlja glialni marker, jer se primarno sintetizuje u glijalnim ćelijama, gotovo isključivo u astrocitima. Mioinozitol je najvažniji osmolit (regulator ćelijskog volumena) u astrocitima. Mijelinska degradacija može za posledicu imati generisanje mioinozitola. Porast signala ovog metabolita javlja se usled proliferacije glijalnih ćelija, porasta dimenzija glijalnih ćelija usled zapaljenskih procesa, Alchajmerove bolesti, astrocitoze i glioze (*Debora Bertholdo et al., 2013; Lars G. Hanson, 2009*).

4.2.7 Alanin (Ala)

Alanin predstavlja amino kiselinu koja poseduje dublet linija centriran na 1.48 ppm. Analogno slučaju laktata, i ovaj dublet se invertuje ispod bazne linije, pri akviziciji koja koristi vrednosti TE između 135-144 ms. Nekada je veoma teško povući jasnu granicu između dubleta koji pripadaju alaninu i laktatu. Funksija alanina još uvek nije baš sasvim jasna, ali je poznato da igra ulogu u ciklusu limunske kiseline. Povišena koncentracija alanina moguća je usled poremećaja oksidativnog metabolizma, kao i usled prisustva meningioma (*Debora Bertholdo et al., 2013; Lars G. Hanson, 2009*).

4.2.8 Glutamat-Glutamin (Glx)

Glx predstavlja kompleksnu rezonantnu liniju sadržanu od glutamata (Glu), glutamina (Gln) i gama-aminobuterne kiseline (GABA), na frekventnoj osi pozicioniranu između 2.05-2.50 ppm. Glutamat je u mozgu prisutan u koncentraciji bliskoj koncentraciji NAA, ili čak i većoj (~8 mM), dok je koncentracija glutamina značajno niža (~2 mM). Pored zavisnosti od TE, spektar glutamata i glutamina veoma zavisi i od intenziteta spoljašnjeg magnetnog polja, jer se pri jačim poljima značajno smanjuju efekti kuplovanja.

Glutamat je jedan od najvažnijih ekscitatornih neurotransmitera i igra bitnu ulogu u ciklusu redukcije. Koncentracija mu je najveća u neuronima, ali je pristuan i u svim ostalim tipovima moždanih ćelija. (*Edelman et al., 1996, Danielsen et al., 1999, Cozzone, 2003*). Povišena koncentracija glutamina karakteristična je za određena oboljenja, kao što je na primer hepatička encefalopatija (*Debora Bertholdo et al., 2013; Lars G. Hanson, 2009*).

4.3 Regionalne varijacije u spektru

Različite regije mozga mogu karakterisati nešto različiti izgledi spektra, tačnije nešto različit izgled rezonantnih linija odgovarajućih metabolita. Ispitivanja su pokazala da postoje razlike između spektara sive i bele mase. Sa druge strane, nisu pronađene značajne asimetrije pri poređenju spektara leve i desne moždane hemisfere, kao ni između spektara različitih polova. Upotrebom odgovarajućih kvantitativnih tehnika pokazano je da je koncentracija NAA u sivoj masi viša od koncentracije NAA u beloj masi. Studije su pokazale da Cr takođe poseduje veće koncentracije u sivoj masi, dok je nivo Cho viši u beloj masi. Ostali metaboliti nisu analizirani sa tolikom pažnjom kao NAA, Cho i Cr, ali su malobrojna istraživanja pokazala da su nivoi Glx i Myo viši u sivoj masi (*Debora Bertholdo et al., 2013*).

4.4 Spektri kod ljudi starijeg doba

MRS ljudi starijeg doba pokazao je redukciju u koncentraciji NAA sa godinama, što ukazuje na opadanje neuronske mase. Studije pokazuju da je starenje povezano sa redukovanjem volumena neuronskih ćelija, više nego sa smanjenjem njihovog broja. Druga istraživanja su pokazala relativno stabilne koncentracije NAA u starijim grupama, ali porast nivoa Cr i/ili Cho. Različiti rezultati mogu biti posledica različitih tehnika korišćenih pri istraživanju, kao i razlika usled nepoklapanja moždanih regiona nad kojima je vršena analiza, korekcije na atrofiju, i slično (*Debora Bertholdo et al., 2013*).

4.5 Uticaj jačine magnetnog polja na kvalitet spektra u ^1H MRS

Magnetno polje jačine 3T koristi se rutinski u kliničkim ispitivanjima i rezultuje boljim SNR, kao i bržom akvizicijom u poređenju sa magnetima manje jačine. Ovo je veoma važno u slučaju rada sa bolesnim pacijentima, koji ne mogu dugo zadržati stanje mirovanja. Dakle, H-MRS koja koristi magnet jačine 3T poseduje veći odnos signal-šum, kao i redukovani period akvizicije u poređenju sa magnetom jačine 1.5T. Ranije se protpostavljalo da SNR raste linearno sa jačinom polja, ali to ipak nije slučaj, s obzirom da i drugi faktori, kao što su relaksaciono vreme metabolita i homogenost magnetnog polja, utiču na vrednost SNR. Prostorna rezolucija se takođe poboljšava sa porastom jačine polja, što za posledicu ima povećano rastojanje između pojedinih pikova, pa je samim tim njihovo razlikovanje olakšano. Ovo je posebno važno u slučaju analiziranja dubleta spektralnih linija, kada je teško izvršiti razdvajanje dva pika. Porast jačine upotrebljenog spoljašnjeg magnetnog polja takođe dovodi do širenja spektralnih linija, usled povećanja vrednosti T_2 relaksacionog vremena, tako da se pri radu sa magnetima jačine 3T koristi kratko vreme eha. Ova jačina magneta čini H-MRS tehniku osetljivijom na nehomogenosti polja, kao i na pojavu određenih artefakata. Poslednju deceniju karakteriše ne samo primetno unapređenje uređaja koji koriste velike jačine polja, već i znatno poboljšanje u prijemnim zavojnicama. Upotreba višestrukih radiofrekvenčnih prijemnih zavojnica obezbeđuje veću lokalnu osetljivost, veći odnos signal-šum, kao i temeljnije i bolje pokrivanje većih regiona mozga (*Debora Bertholdo et al., 2013*).

Glava 5

5. Eksperimentalni deo

5.1 Uvod u problematiku

Ljudi trećeg doba u poslednjoj deceniji sve češće obolevaju od Alchajmerove bolesti i drugih oblika demencije. Procjenjuje se naglo povećanje broja obolelih u narednih deset godina, toliko da će bolest poprimiti razmere epidemije. Demencija ne predstavlja samo hronični gubitak kognitivnih funkcija i probleme sa pamćenjem pojedinca, ona postepeno dovodi do potpunog oduzimanja mogućnosti za normalnim vođenjem života. Uključuje poteškoće u vršenju svakodnevnih zadataka, komunikaciji, razmišljanju, rasuđivanju, nagle promene raspoloženja, kao i promene čoveka kao ličnosti.

Bolje razumevanje koncepta kognitivne rezerve moglo bi da dovede do razvoja strategija koje bi usporile kognitivno starenje i smanjile rizik za pojavu i razvoj demencija. Sve više istraživanja ukazuje na vezu između višeg stepena obrazovanja i smanjenog rizika od pojave kognitivnih oštećenja. Istraživanja su pokazala da je viši nivo kognitivne rezerve u direktnoj vezi sa poboljšanim kognitivnim učinkom zdravih individualaca starijeg doba (*Stern, Y. 2002, 2005; Oswald, W. D. et al., 1996*). Sama povezanost visokog stepena obrazovanja sa smanjenim rizikom od pojave kognitivnih oštećenja (*Stern et al. 1994; Stern 2002; Yaffe et al. 2009; Barnes and Yaffe 2011; Sharp and Gatz 2011*), smatra se dokazom hipoteze o postojanju kognitivne rezerve. Ova hipoteza se zasniva na prepostavci da kognitivna stimulacija (uključujući i visok nivo obrazovanja), pomaže u održavanju dobrog kognitivnog funkcionisanja, čak i u slučaju bolesti uslovljenih starenjem. Termin kognitivna rezerva povezuje se sa povećanom mogućnošću mozga za izvođenjem kognitivnih zadataka, uprkos prisustvu određene patologije i oštećenja mozga (*Stern, 2002*).

Dakle, hipoteza o postojanju kognitivne rezerve zasniva se na prepostavci da kognitivna stimulacija i trening omogućavaju održavanje visokog nivoa kognitivne funkcije, čak i kod pojedinaca starije dobi koja povlači za sobom pojavu određenih promena na mozgu (*Stern 2009, 2012*).

Koncept kognitivne rezerve pruža objašnjenje različitih odgovora pojedinaca na promene na mozgu nastale usled starenja ili usled prisustva određene patologije, kao što je na primer Alchajmerova bolest, gde određeni pojedinci poseduju viši prag tolerancije na novonastale promene na mozgu i mogu duže održavati moždane funkcije. Važi mišljenje da je u korelaciji sa mogućnošću veoma efikasnog korišćenja postojećih neuronskih mreža ili povećanom mogućnošću preusmeravanja na alternativne moždane puteve (*Stern, 2006*). Epidemiološka istraživanja ukazuju na to da viši stepen obrazovanja, mentalno stimulativna i zahtevna zanimanja, kao i sam stil života pojedinca predstavljaju uzročnike porasta kognitivne rezerve (*Valenzuela, M.J. & Sachdev, P. 2006*). Smatra se da povišen nivo kognitivne rezerve povlači za sobom smanjen rizik od pojave demencije i Alchajmerove bolesti. Rizik od razvoja Alchajmerove bolesti je manji kod osoba sa višim dostignućima na polju obrazovanja.

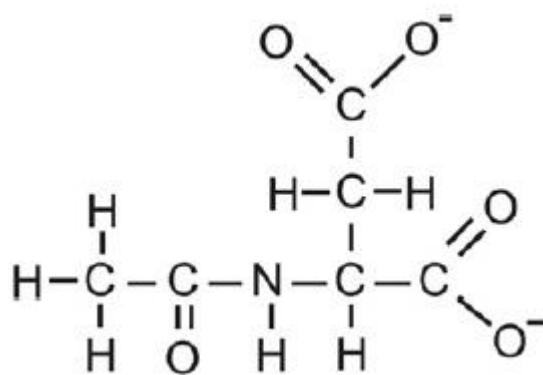
Meta-analize kao rezultat pružaju čvrste dokaze da posebno osmišljeni programi kognitivnog treninga mogu dovesti do smanjenog rizika za redukciju kognitivnih sposobnosti kod zdravih starijih osoba, te se smatra da pozitivan ishod kognitivnog treninga rezultuje povećanom moždanom rezervom pojedinca (*Valenzuela, M. & Sanchdev, P. 2009*). Meta-analize sprovedene nad približno

30000 ispitanika pokazale su da pojedinci sa visokim nivoom kognitivne rezerve pokazuju redukciju rizika za razvoj demencije od 46%, pri poređenju sa pojedincima čiji nivo kognitivne rezerve uzima niske vrednosti (Valenzuela, M. J. & Sanchdev, P. 2006). Od svih faktora koji u većoj ili manjoj meri doprinose kognitivnoj rezervi, aktivnosti koje podstiču mentalnu stimulaciju pokazuju najveći efekat u redukciji rizika od pojave demencije.

Smatra se da moždana rezerva takođe utiče na rizik od smanjenja kognitivnih funkcija pojedinca. Moždana rezerva predstavlja kvantitativnu meru neuronskog integriteta i mase, i dovodi se u vezu sa veličinom i brojem neuronskih ćelija, tj. sa razlikama u moždanoj strukturi koje mogu dovesti do povećane tolerancije na prisustvo patologije (Stern, 2009). Utice na količinu mogućeg oštećenja mozga, koje ne dovodi do razvoja kliničkih simptoma (Stern, 2006). Veća moždana rezerva može rezultovati fleksibilnijim moždanim mrežama i boljim kompenzovanjem ostalih gubitaka, što u krajnjoj instanci otvara mogućnost većeg kapaciteta kognitivne rezerve. Mere strukturnog integriteta kvantificuju moždanu rezervu, ali je njihova interpretacija otežana usled nedostatka saznanja o tome kako se one reflektuju na ćelijskom nivou. Zbog toga je izuzetno važna primena magnetno rezonantne spektroskopije, kao metode koja vrši direktno merenje integriteta neurona, a samim tim i moždane rezerve.

5.2 Istraživanja N-acetilaspartata

N-acetilaspartat predstavlja molekul koji je u izuzetno visokim koncentracijama prisutan u mozgu (Tallan et al., 1956; Tallan, 1957). Nivo ovog metabolita u određenim regionima mozga može dostići i do 10 mM (Bluml, 1999; Pan and Takahashi, 2005), što ga čini jednim od najkoncentrovanih molekula u centralnom nervnom sistemu. Nalazi se u neuronima i igra važnu ulogu u ćelijskom metabolizmu i mijelinizaciji (Nadler, Cooper 1972; Moffett et al. 2007). Predstavlja meru vijabilnosti neurona i *in vivo* marker neuronskog metabolizma. Visok stepen obrazovanja povezan je sa *in vitro* markerima moždane rezerve (Arenaza-Urquijo et al 2013). Ukoliko se uzme u obzir povezanost NAA sa integritetom neurona, dolazimo do zaključka da postoji mogućnost da NAA predstavlja *in vivo* marker moždane rezerve.



Slika 21. Hemiska struktura N-acetilaspartata

Koncentracija NAA u beloj masi reflektuje metaboličku funkciju aksona, kao i stepen efikasnosti aksonske mijelinizacije (Bjartmar et al., 2002). Ovaj metabolit može pojačati mitohondrijsku proizvodnju energije iz glutamata (Moffett et al., 2007), ali i vršiti funkciju

molekularne vodene pumpe (*Baslow, 2002; Moffett et al., 2007*) i samim time povećati brzinu i efikasnost proizvodnje neuronskih signala. Smatra se da uzima mnogobrojne uloge u formaciji neuronskih i glijalnih ćelija, kao i u održavanju njihove funkcionalnosti (*Baslow, 2003*).

Prvobitna otkrića koja su privukla pažnju naučnika iz oblasti neuronauka i dovela do opsežnog istraživanja neurohemije i neurobiologije ovog jedinstvenog molekula, vezana su za izrazito jak spektroskopski signal NAA, što ga čini jednim od najpouzdanijih markera u spektroskopskim ispitivanjima mozga (*Barany et al., 1987; Fan et al., 1986; Luyten and den Hollander, 1986*). Studije su pokazale da je nivo NAA u različitim moždanim regionima u direktnoj vezi sa neuronskim zdravljem i integritetom. Samim tim snižen intenzitet rezonantne linije NAA možemo smatrati indikatorom neuronskog gubitka ili narušenog neuronskog metabolizma. Drugi uzrok povećanom interesu naučne zajednice za NAA, odnosi se na nasledni genetski poremećaj poznat pod nazivom Kanavanova bolest (*Bartalini et al., 1992; Divry and Mathieu, 1989*).

Najopsežnija istraživanja NAA uključuju primenu MRI i MRS tehnika za ispitivanje ponašanja NAA u slučaju prisustva neuropatoloških stanja. Nedostatak znanja iz oblasti osnovne biohemije, funkcije i metabolizma NAA, otežavaju interpretaciju rezultata spektroskopskih ispitivanja raznih bolesti. Važno je napomenuti da su upravo spektroskopska istraživanja dovela do izrazito važnih informacija vezanih za N-acetil aspartat.

MR spektroskopska ispitivanja pokazala su da razna neurološka stanja i poremećaji dovode do promene nivoa NAA. Većina ovakvih istraživanja pokazala su opadanje koncentracije NAA u bolešću zahvaćenom regionu mozga, sa izuzetkom Kanavanove bolesti koja uključuje akumulaciju NAA u mozgu (*Wittsack et al., 1996*). U ranijim studijama opadanje nivoa NAA pri različitim neuropatološkim stanjima, interpretirano je kao posledica irreverzibilnog gubitka neurona. Kasnijim istraživanjima otvorena je mogućnost da lokalno snižavanje nivoa NAA može predstavljati reverzibilnu neuronsku ili mitohondrijsku disfunkciju (*Bates et al., 1996; Clark, 1998; de Stefano et al., 1995; Demougeot et al., 2004; Gasparovic et al., 2001; Kalra et al., 1998; Narayanan et al., 2001*).

Studije su pokazale da pacijente ili grupe pacijenata kojima je dijagnostikovana demencija prati regionalna redukcija u koncentraciji NAA i snižavanje vrednosti odnosa NAA/Cr. Kod obolelih od Alchajmerove bolesti pokazana je redukcija u vrednosti odnosa NAA/Cr između 15-20 % u sivoj masi posteriornog cingulate gyrusa (*Kantarci and Jack, 2003; Waldman et al., 2002*). Upotrebo magnetno rezonantne spektroskopije došlo se do saznanja da je pad prometa glutamata, usled prisustva Alchajmerove bolesti, u direktnoj proporcionalnosti sa gubitkom koncentracije NAA (*Lin et al., 2003*). NAA se povezuje sa sintezom mijelina i održavanjem stepena mijelinizacije (G. Chakraborty et al., 2001), što je podržano izrazito niskim stepenom mijelinizacije u slučaju prisustva Kanavanove bolesti- naslednog poremećaja metabolizma NAA. Veza između NAA i kognitivne funkcije primećuje se pri mnogim poremećajima koji uključuju kognitivnu disfunkciju, ali i kod zdravih pojedinaca (*A.J.Ross, P.S. Sachdev, 2004*).

Istraživanja su pokazala vezu između višeg stepena obrazovanja, većeg volumena mozga i višeg nivoa NAA, što se smatra posledicom većeg integrata neurona kod osoba sa višim stepenom obrazovanja (*Glodzik L et al. 2012, Erickson KI et al., 2015*). Smatra se da NAA može predstavljati biološki supstrat kognitivne rezerve, čiji nivo se uvećava obrazovanjem.

Magnetno Rezonantna Spektroskopija ljudi starijeg doba pokazala je redukciju u koncentraciji NAA sa godinama (*Gruber S et al. 2008*), što ukazuje na opadanje neuronske mase. Studije pokazuju da je starenje povezano sa redukovanjem volumena neuronskih ćelija, više nego sa smanjenjem njihovog broja. Nekoliko studija je pokazalo da opadanje koncentracije NAA pri normalnom starenju ne prelazi značajan nivo, kao i da na opadanje vrednosti odnosa NAA/Cr značajnije utiče porast koncentracije Cr (*Wu et al 2012*). Nivo NAA se smanjuje i u slučaju

prisustva Alchajmerove bolesti i drugih demencija (*Falini et al., 2005*). Povišen nivo kognitivne rezerve mogao bi da dovede do odlaganja pojave demencije, usled pozitivnog efekta koji ima visoko obrazovanje (*Glodzik L et al. 2012*).

5.3 Cilj istraživanja

Cilj istraživanja predstavljalo je utvrđivanje korelacije između koncentracije N-acetilaspartata (NAA) u mozgu i stepena obrazovanja. Želeli smo da utvrdimo da li postoji vidljiv efekat obrazovanja na nivo NAA, kao i da ispitamo način na koji stepen obrazovanje utiče na promene koncentracije NAA pri procesu starenja. Istraživanje je sprovedeno na zdravim osobama oba pola, različitih životnih dobi i nivoa obrazovanja. Uporedili smo uticaj nivoa obrazovanja na koncentracije NAA u odnosu na uticaj pola i životne dobi.

Želeli smo da pokažemo da su pojedinci sa visokim stepenom obrazovanja, ljudi zaposleni u okruženjima koja zahtevaju stalni razvoj i unapređenje znanja, okruženjima u kojima su konstantno stimulisani i potaknuti da se razvijaju kao individue i profesionalci, zaista izloženi manjem riziku od razvoja demencija po dolasku u starije životno doba. Ranija istraživanja iz oblasti neuroimidižinga često dovode u vezu visok nivo obrazovanja sa poboljšanim zdravljem mozga i dugotrajnim održavanjem moždane funkcije (*Bartres-Faz and Arenaza-Urquijo 2011*). U ovom radu želeli smo da istražimo pomenute zavisnosti i bazirali smo ga na direktnom merenju neuronske vijabilnosti putem merenja koncentracije NAA.

Hipoteza koju smo postavili i kojom smo se vodili pri tumačenju rezultata merenja odnosila se na uticaj stepena obrazovanja na ponašanje NAA i dovodila je u vezu visok nivo obrazovanja sa povišenim nivoom NAA. Takođe smo postavili hipotezu da će visok stepen obrazovanja doveden u vezu sa starosnom dobi ispitanika, rezultovati povišenim vrednostima koncentracije NAA kod zdravih ispitanika starije dobi koji poseduju visok nivo obrazovanja. Vrišeno je simultano uzorkovanje u više različitih moždanih regiona. Merenja na više različitih lokacija u mozgu omogućila su definisanje moždanih struktura koje se izdvajaju i najviše doprinose razlikama između grupa po obrazovanju.

Merenja koncentracije NAA izvršena su na grupi od najmanje 61 zdrave osobe, na uređajima za magnetnu rezonancu u Centru za radiologiju Kliničkog Centra Vojvodine i Centru za imidižing dijagnostiku, Institut za onkologiju Vojvodine. Kod svih ispitanika primenjivan je standardni protokol za endokranijum upotpunjena sa 2D Multivoxel SE 135 spektroskopijom. Izvršena je kvantitativna analiza pika NAA na 12 lokacija u mozgu. Ispitanici su podeljeni u grupe prema nivou obrazovanja. Statističkom analizom su obuhvaćeni ispitanici sa normalnim MRI nalazom, bez neuroloških i neuropsihijatrijskih poremećaja.

5.4 Materijali i metode

5.4.1 Učesnici

Ispitivanje je izvršeno nad 61 zdravim pojedincem godina između 20 i 75 (32 žene, 29 muškaraca). Ispitanici su podeljeni po godinama u tri grupe: mladi (20-35, n=18), srednjovečni (36-

55 godina, n=23) i stari (56-75, n=20). Svaka grupa je sadržala približno jednak broj žena i muškaraca.

Svi pojedinci su, nakon upoznavanja sa ciljem istraživanja, kao i metodama koje će nad njima biti sprovedene pri procesu merenja, podneli pismeno odobrenje za učešće u proceduri. Takođe su svi detaljno ispitani kako bi se ispitala njihova medicinska istorija i isključile bolesti kao što su moždani udar, bolest koronarne arterije, dijabetes, bolesti bubrega i jetre, psihijatrijske bolesti i alkoholizam. Nad njima je sproveden i Mini-Mental Test. Nijedan od dobrovoljaca nije isključen usled prisustva demencije, kao ni istorije neuroloških i psihijatrijskih bolesti. Nijedan od ispitanika nije primao terapeutski tretman, kako u prošlosti, tako ni u sadašnjem dobu. Nad svakim pojedincem izvršen je standardni MRI pregled mozga, kako bi se odbacila mogućnost prisustva strukturnih alteracija anatomske jedinica u mozgu, kao i protonski MRS pregled.

Ispitanici su podeljeni u četiri grupe prema nivou obrazovanja: Grupa 1- Diploma Srednje Škole (grupa obuhvata pojedince dobi između 20-75 godina; srednja dob grupe 45,8; n=24), Grupa 2- Status studenta, Diploma Više Škole (21-71 godina; srednja dob 44; n=17), Grupa 3- Diploma Fakulteta (21-75 god.; srednja dob 50,3; n=16), Grupa 4- Doktorat (35-62 god.; srednja dob 48,25; n=4).

5.4.2 MRI i MRS Protokol

Magnetno Rezonantni Imidžing i Magnetno Rezonantna Spektroskopija izvršeni su upotrebom uređajem koji koristi jačinu magneta od 1.5T (Siemens Avanto Tim, Erlangen, Nemačka). T₁ otežana spin-echo sekvenca u sagitalnoj ravni sa TR/TE od 511/8.7 ms, aksijalna T₂ otežana turbo spin-echo sekvenca sa TR/TE vrednostima od 8590/98 ms, koronalna T₂ otežana turbo spin-echo sekvenca, TR/TE: 5170/102 ms, debljine slojeva od 3 mm, dobijene su u ortogonalnoj orijentaciji, te korišćene za lokalizaciju sloja nad kojim vršimo spektroskopska ispitivanja. Aksijalni FLAIR sa TR/TE od 8840/109 ms, i debljinom sloja od 5 mm, korišćen je za eliminaciju prisustva bilo kakvog patološkog procesa.

Protonska 2D MR spektroskopija izvršena je upotrebom PRESS tehnike, uz vrednosti TR/TE od 1500/135 ms. CSI veličina sloja: Field Of View (FOV)- 160×160×160 mm; VOI- 80×80×80 mm; debljina sloja 10 mm. Pozicioniran je neposredno iznad corpus callosum, duž anteriono-posteriorne komisure, kako bi obuhvatio semiovallnu belu masu i kortikalnu sivu masu. Veliki broj koraka faznog kodiranja (rezolucija procesa skeniranja) je 16, u svim pravcima (L-D, A-P, G-D). Interpolaciona rezolucija je 16 u svim pravcima, unutar VOI- 10×10×10 mm. Broj akvizicija je 4, vreme skeniranja: 7 min 12 s.

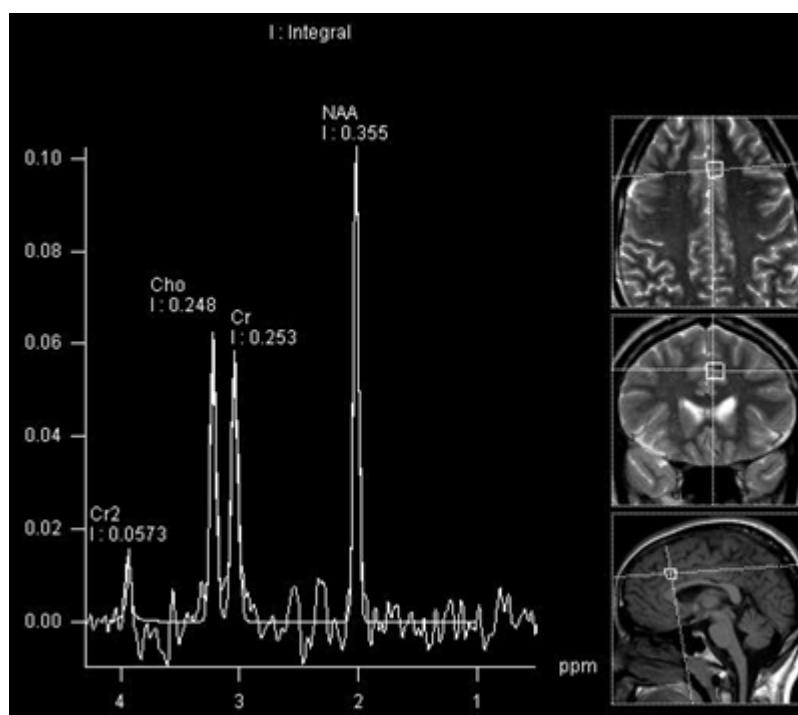
Primenjena je otežana šema faznog kodiranja. Smetnje od strane signala koji potiču van voksela od interesa uklonjene su putem 6 saturacionih regiona, ručno postavljenih duž granica VOI. Homogenost magnetnog polja unutar VOI optimizovana je primenom automatskog „volume selective shimming“ metoda. Posebna pažnja posvećena je pozicioniranju regiona od interesa na identičnu poziciju kod svakog ispitanika, sa ciljem postizanja visokog nivoa reproducibilnosti, pri tome uzimajući u obzir anatomske varijacije kod različitih pojedinaca.

5.4.3 Obrada podataka

Snimljeni podaci analizirani su automatski upotrebom komercijalno dostupnog softverskog paketa za spektralnu analizu: Syngo Multi Modality Workplace, verzija VE23A. Protokol post-

procesinga uključuje: procesuiranje referentnog vodenog signala usrednjavanjem 20 susednih tačaka, otklanjanje zastalog vodenog signala iz spektra, njegovim oduzimanjem od signala u vremenskom domenu, te korekcijom frekventnog pomeraja vodenog signala. Pomenuti procesi ostvaruju se upotrebom: Hanning filtera širine 512 ms, Zero-fillinga od 512. do 1024. tačke u spektru, te vršenjem Furijeove transformacije.

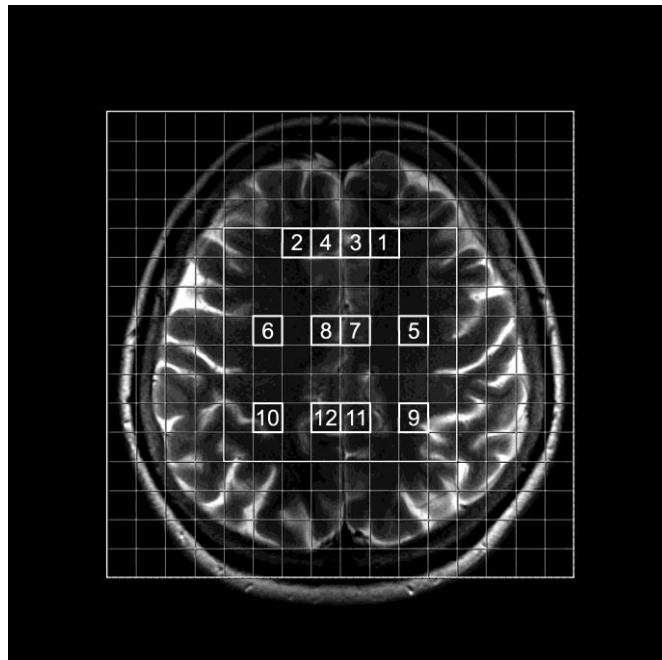
Sledeći koraci post-procesinga uključuju korekciju bazne linije fitovanjem polinomske funkcije i faznu korekciju. Signali N-Acetil aspartata (NAA) na 2.02 ppm i kreatina plus fosfokreatina (tCr) na 3.04 ppm, kvantifikovani su fitovanjem Gausove krive, kao procesa koji omogućava merenje površine ispod rezonante linije metabolita.



Slika 22. Izgled spektra dobijenog snimanjem na lokaciji broj 3.

Odnos NAA/tCr izračunat je na osnovu vrednosti površina ispod pikova odgovarajućih metabolita. Kvantifikacija metabolita upotrebom relativne koncentracije (odnosa NAA/tCr) eliminiše uticaj nepovoljnih eksperimentalnih faktora, kao što su nehomogenost statičkog magnetnog polja i promenljivog radiofrekventnog polja.

Snimljen je spektar za 12 pojedinačnih voksela: 6 regionalo locirani su u bilateralno parasagitalno anteriornom, srednjem i posteriornom kortikusu, primarno okarakterisanom frontalnom, paracentralnom i parietalnom mezijalnom sivom masom, dok drugih 6 obuhvata lateralno anterioane, srednje i posteriore regije, sadržane predominantno iz frontalne, precentralne i parietalne bele moždane mase. Slika 22. prikazuje izgled spektra dobijenog na lokaciji broj 3. Ovo ispitivanje obuhvata analizu ukupno 732 spektra.



Slika 23. Aksijalni MR prikaz mozga zdravog muškarca (32 godine) prikazuje šemu spektroskopskih VOI, kao i standardnu poziciju 12 posmatranih voksela u centru semiovale. Šest voksela nalazi se u bilateralno anteriornom, medijalnom i posteriornom regionu, predominantno sadržanom od bele mase (vokseli broj 1, 2, 5, 6, 9, 10), dok je drugih šest voksela locirano u bilateralno mezijalnom korteksu, sadržanom iz sive mase anteriornih, medijalnih i posteriornih regiona (vokseli broj 3, 4, 7, 8, 11, 12).

Deskriptivna statistička analiza uključuje: testove normalnosti distribucije (merenje asimetrije funkcije verovatnoće i njenog koeficijenta, Kurtosis i Kolmogorov-Smirnov test), Srednja, Standardna devijacija (SD), Minimum i Maksimum, Koeficijent Varijacije (CV) i Interval Poverenja. Testiranje sveobuhvatne razlike između 4 nivoa obrazovanja obavljeno je putem Diskriminativne Analize (DA), kao i Multivarijantne Analize Varianse (MANOVA). Ukoliko je MANOVA značajna, primenjuje se Analiza Varianse (ANOVA), kako bi se procenile razlike između 4 grupe obrazovanja, na 12 lokacija u mozgu.

Diskriminativna Analiza ima ulogu u određivanju lokacije koja pokazuje najveće razlike između nivoa obrazovanja. Na osnovu vrednosti DA koeficijenata izračunava se relativni doprinos (%) diskriminaciji svake od 12 lokacija.

Izračunali smo i procentualnu zastupljenost različitih doba (mladi, srednje doba i stari) unutar obrazovnih grupa. Statistička analiza takođe uključuje računanje i upoređivanje Mahalanobisovih rastojanja između obrazovnih, starosnih i polnih grupa.

5.4.4 Deskriptivna statistika

Na osnovu deskriptivnih i disperzionih parametara došlo se do zaključka da je distribucija uzorkovanja aproksimativno normalna za sve odnose metabolita na svim posmatranim lokacijama.

Sveukupne razlike u odnosu NAA/tCr između obrazovnih grupa su značajne:

1. MANOVA: $p < 0,001$
2. DA: $p < 0,05$

pa se primenjuje Analiza Varianse sa ciljem konačne procene razlika između 4 obrazovne grupe.

U tabelama 1-4 predstavljeni su parametri uzorka sadržanog iz 61 ispitanika dobijenih na 12 različitih lokacija u mozgu.

Tabela 1. Rezultati Analize Varijanse (ANOVA). Poređenje odnosa NAA/tCr u 4 obrazovne grupe na 12 različitih lokacija u mozgu.

Lokacija	F	p	DC
1	2.791	.051	.174
2	4.578	.007	.191
3	17.981	.000	.516
4	1.932	.137	.097
5	.173	.914	.017
6	1.750	.170	.072
7	.677	.570	.037
8	2.492	.036	.229
9	.695	.559	.127
10	1.873	.147	.246
11	1.218	.314	.095
12	1.418	.249	.361

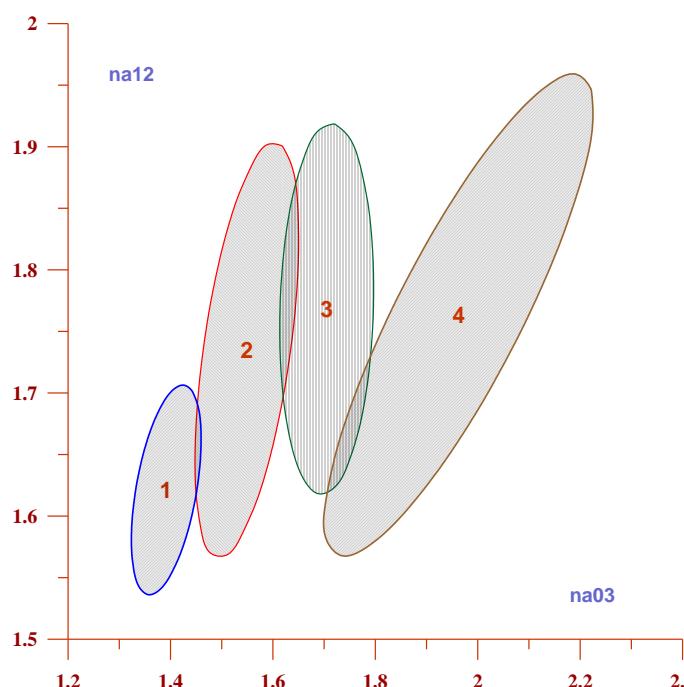
Primenom Analize Varijanse na podatke prikupljene iz 12 voksela od interesa, pronađene su značajne razlike u rezultatima za različite nivo obrazovanja na lokacijama 2, 3 i 8 ($p<0,05$).

Diskriminativna analiza pokazuje da lokacija broj 3 (levi frontalni korteks) najviše doprinosi diskriminaciji različitih nivoa obrazovanja, tj. da su na toj lokaciji najprimetnije različite vrednosti odnosa NAA/tCr za različite obrazovne grupe.

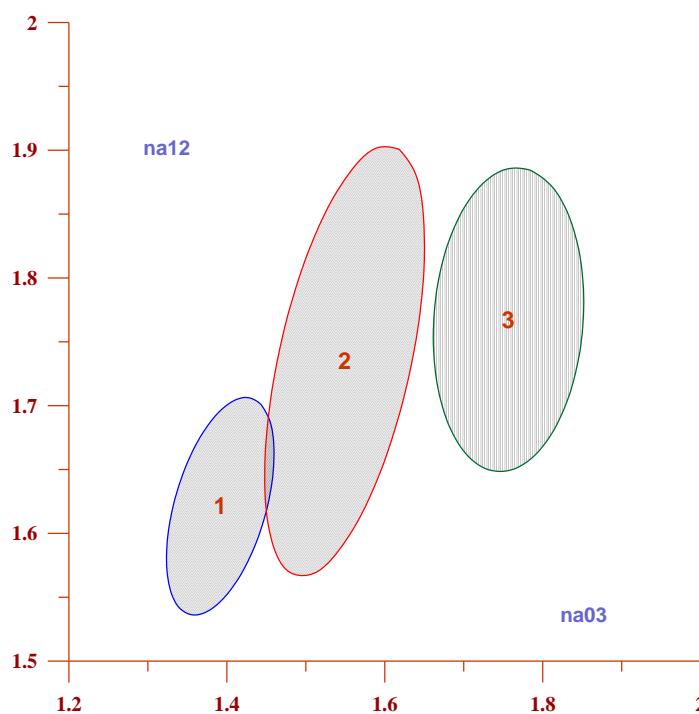
Tabela 2. Karakteristike odnosa NAA/tCr 4 unutar obrazovnih grupa.

Lokacija	Grupa-1	Grupa-2	Grupa-3	Grupa-4	Doprinos (%)
3	Nizak	Srednji	Visok	Najviši	23,867
12	Nizak	Srednji	Najviši	Visok	16,698
8	Nizak	Srednji	Visok	Najviši	11,378
1	Nizak	Srednji	Visok	Najviši	10,592
2	Nizak	Srednji	Visok	Najviši	8,834
10	Nizak	Visok	Srednji	Najviši	8,048
9	Srednji	Nizak	Visok	Najviši	5,874
4	Nizak	Srednji	Visok	Najviši	4,487
11	Najmanji	Srednji	Najviši	Visok	4,394
6	Najmanji	Visok	Srednji	Najviši	3,330
7	Nizak	Srednji	Visok	Najviši	1,711
5	Srednji	Nizak	Visok	Najviši	.786
n/m	22/24	14/16	15/17	4/4	
%	91,67	87,5	88,24	100,00	

Upoređivanjem intervala poverenja utvrđeno je da su vrednosti odnosa NAA/tCr najniže u grupi broj 1, srednjih vrednosti u grupi broj 2, visokih vrednosti u grupi broj 3, dok grupa broj 4, grupa koja sadrži doktore nauka, pokazuje najviše vrednosti odnosa NAA/tCr. Vrednosti odnosa NAA/tCr na lokacijama koje najviše doprinose diskriminaciji obrazovnih grupa grafički su prikazane na slikama 23. i 24.



Slika 24. Intervali od poverenja za odnos NAA/tCr na lokacijama koje najviše doprinose diskriminaciji 4 obrazovne grupe.



Slika 24. Intervali od poverenja za odnos NAA/tCr na lokacijama koje najviše doprinose diskriminaciji 4 obrazovne grupe. Razlike su znatno izražajnije ukoliko se spoje treća i četvrta grupa.

Tabela 3. Mahalanobisova rastojanja između obrazovnih grupa.

	Grupa-1	Grupa-2	Grupa-3	Grupa-4
Grupa-1	.00	1,89	3,51	6,38
Grupa-2	1,89	.00	2,39	5,20
Grupa-3	3,51	2,39	.00	3,53
Grupa-4	6,38	5,20	3,53	.00

Poređenjem Mahalanobisovih rastojanja dolazimo do zaključka da su Grupa 1 i Grupa 2 najbliže, sa rastojanjem od 1,89; dok je udaljenost Grupe 1 i Grupe 4 znatno veća, i uzima vrednost 6,38 (Tabela 3).

Mahalanobisova rastojanja starosnih grupa 1 i 2, kao i grupa 1 i 3, uzimaju male vrednosti: 0,13 i 0,57, respektivno. Izračunate vrednosti predstavljaju indikator da rezultati merenja nisu pod uticajem različite starosne distribucije unutar obrazovnih grupa. Mahalanobisovo rastojanje za odnos NAA/tCr između ženskog i muškog pola iznosi 1,41.

Tabela 4. Procentualna zastupljenost svih doba unutar obrazovnih grupa.

Grupa	Mladi		Srednja dob		Stari	
	n	%	n	%	n	%
1	6	25,0	11	45,8	7	29,2
2	8	47,1	6	35,3	3	17,7
3	3	18,7	5	31,3	8	50,0
4	1	25,0	1	25,0	2	50,0

Tabela 4. prikazuje zastupljenost (%) starosnih grupa (mladi, ispitanici srednjeg doba i stari) unutar pojedinačnih obrazovnih grupa. Pojedinci u srednjem životnom dobu, kao i stari, čine 75% ukupne visoko obrazovane populacije (Grupe 3 i 4).

5.5 Diskusija i zaključak

Postavili smo hipoteze da visok stepen obrazovanja rezultuje povišenim koncentracijama NAA, samim tim i poboljšanim kognitivnim učinkom pojedinca, kao i da godine formalnog obrazovanja mogu uticati na promene NAA uzrokovane procesom starenja.

Promene u koncentraciji metabolita mozga izazvane bolestima podstakle su nova istraživanja na polju kognitivne spektroskopije, ovoga puta na populacijama zdravih ispitanika. Ovo je otvorilo mogućnost identifikacije potencijalnih markera varijabilnosti kognitivne funkcije zdravih osoba. Nekoliko studija je pokazalo statistički značajne korelacije između nivoa NAA i opštih kognitivnih sposobnosti ispitanika.

Starenje je povezano sa opadanjem kognitivnih sposobnosti pojedinca. Mnoge studije ovaj pad kognitivnih funkcija povezuju sa smanjenjem brzine odgovora i redukovanim mogućnošću obrade informacija (*K.W.Schaie et al., 1998*). Kako ovakve promene nisu vidljive na standardnom MRI, primenjuje se magnetno rezonantna spektroskopija, sa ciljem dokazivanja povezanosti biohemičkih promena i kognitivnog učinka ispitanika.

Jedno od ranijih istraživanja dovodi u vezu nivo NAA u okcipito-parietalnoj beloj masi sa koeficijentom inteligencije (*R.E. Jung et al., 1999*), kao i sa neurofiziološkim ispitivanjima kognicije (*R.E. Jung et al., 1999*). Mnoga istraživanja ukazuju na jasnu vezu vrednosti odnosa NAA/H₂O u levoj frontalnoj beloj masi sa kognitivnim učinkom (*Amy J. Ross et al., 2005*). Ovo ukazuje na to da su promene u koncentraciji NAA frontalne bele mase povezane sa odgovarajućim kognitivnim promenama izazvanim procesom starenja. Diskriminativna analiza naših rezultata merenja pokazuje da lokacija broj 3 (levi frontalni korteks) najviše doprinosi diskriminaciji različitih nivoa obrazovanja, tj. da su na toj lokaciji najprimetnije različite vrednosti odnosa NAA/tCr za različite obrazovne grupe. Veliki broj studija povezuje moždanu disfunkciju sa čelijskim metabolizmom putem ispitavanja NAA (*Ross and Sanchdev, 2004*), dok je broj studija koji se bave ispitivanjima veze između NAA i kognicije znatno skromniji. Iz pomenutih razloga, jasna slika odnosa NAA i kognicije još uvek nije utvrđena.

Pokazalo se da su opšti kognitivni kapaciteti blisko povezani sa godinama formalnog obrazovanja (*Gottfredsin, 1997; Yeo et al., 2011*). Obrazovanje je povezano sa kompleksnijim sistemom dendrita i većom gustinom intraneuronskih veza (*Jacobs et al., 1993*). Kako tkivne promene mogu reflektovati promene nivoa NAA (*Moffett et al., 2007*), moguće je postojanje veze između visokog nivoa obrazovanja i visoke koncentracije NAA, što je u skladu sa hipotezom koju smo postavili na početku istraživanja. Ostaje nejasno do kojeg stepena obrazovanje reflektuje opšte intelektualne kapacitete ispitanika (*Yeo et al., 2011*).

Rezultati studije koja se bavila ispitivanjem postojanja veze između koncentracije NAA na nivou celog mozga i godina formalnog obrazovanja, sprovedene nad 97 pojedinaca srednjeg i starijeg doba (51-70 god.), ukazuju na jasnu povezanost visokog stepena obrazovanja sa povišenim koncentracijama NAA na nivou celog mozga (*Glodzik et al 2012*). Na osnovu ovakvog rezultata možemo zaključiti da će pojedinci sa višim stepenom obrazovanja posedovati veći neuronski integritet. Visok stepen obrazovanja povezuje se i sa većim intrakranijalnim volumenom. Povezanost između NAA i stepena obrazovanja izostala je kod ispitanika starijih od 70 godina, što uključuje mogućnost uticaja nekih drugih faktora na nivo NAA nakon ulaska u osmu deceniju života. Smatra se da profesionalna dostignuća, različiti hobiji i fizičke aktivnosti u srednjoj i starijoj životnoj dobi pomažu povećanje rezerve i nivou NAA (*Scarmeas and Stern, 2003*). Potrebno je uzeti u obzir i veći stepen atrofije mozga kod starijih ispitanika, što takođe može uticati na odnos NAA i stepena obrazovanja putem mehanizama koji nisu vezani za koncentraciju NAA (selektivna atrofija moždanih regiona i traktova).

Na osnovu rezultata našeg istraživanja utvrđili smo da su vrednosti odnosa NAA/tCr najviše za grupu koja sadrži doktore nauka, s tim da je razlika u vrednosti odnosa NAA/tCr pri poređenju grupa 1 i 4 znatna, što potvrđuje hipotezu da visok stepen obrazovanja zaista utiče na ponašanje NAA, odnosno na način na koji će se menjati koncentracija NAA. Takođe zaključujemo da povišen nivo NAA možemo dovesti u vezu sa visokim stepenom obrazovanja. Ukoliko posmatramo zastupljenost starosnih grupa unutar pojedinačnih obrazovnih grupa, primećujemo da ispitanici koji pripadaju srednjem životnom dobu i starima, čine 75% ukupne visoko obrazovane populacije. Ovo ukazuje na to da važi hipoteza postavljena na početku istraživanja, hipoteza kojom smo predvideli da će godine formalnog obrazovanja uticati na ponašanje nivoa NAA pri procesu normalnog starenja. Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatima još jednog istraživanja koje se bavilo ispitivanjem korelacije između NAA i stepena obrazovanja u frontalnom korteksu (*Kirk I. Erikson et al., 2014*).

Sve veći broj istraživanja uspeva da utvrdi vezu između opštih kognitivnih sposobnosti i NAA u zdravoj populaciji ispitanika (*Ross ans Sachdev, 2004*). Utvrđeno je da nivo NAA u okcipito-parietalnoj (*Jung et al., 1999; Jung et al., 2000*) i frontalno korikalnoj beloj masi (*Pfleiderer et al., 2004*) pokazuje pozitivnu vezu sa koeficijentom inteligencije (IQ). Takođe postoje izveštaji o povezanosti nivoa NAA u medijalno temporalnom režnju i memorije (*Gimenez et al., 2004*), kao i koncentracije NAA u centru semiovale sa izvršnim funkcijama (*Charlton et al., 2007*). Sva pomenuta otkrića ne iznenađuju ukoliko uzmemu u obzir povezanost NAA sa količinom i gustinom neurona, kao i sa mitohondrijskom proizvodnjom energije.

Još jedno ispitivanje na polju kognitivne spektroskopije (*Rex E. Jung et al., 1999*) utvrdilo je pozitivnu vezu između koncentracije metabolita NAA i intelektualnog funkcionisanja zdravog mozga. Otkriće o povezanosti neurometabolita i kognitivnih sposobnosti ukazuje na neuronski doprinos inteligenciji zdravih ispitanika. Novije studije ukazuju na to da visok IQ ne mora uvek biti u vezi sa visokom koncentracijom NAA (*Jung et al., 2009*). Jung je utvrdio da niži nivo NAA u desnoj anteriornoj sivoj masi predviđa bolju verbalnu inteligenciju, dok visok nivo NAA u desnoj posteriornoj sivoj masi predviđa bolju vizuelno-prostornu inteligenciju, što ukazuje na to da povećan broj neurona ili veća energetska produkcija u nekim slučajevima nije dovoljna za objašnjenje visokih kognitivnih performansi.

Veza između NAA i koeficijenta inteligencije varira u zavisnosti od ispitivanog kortikalnog regiona, kao i vrste tkiva sadržanog unutar posmatranog voksla (*Tulpesh Patel et al., 2014*). Zavisnost od ispitivanog regiona mozga nije iznenađujuća, ukoliko uzmemu u obzir da su različiti kortikalni regioni specijalizovani za obavljenje različitih funkcija. U ovoj studiji se pokazalo da starosna distribucija ispitanika, kao ni distribucija polova, ne utiče na korelaciju između inteligencije i odnosa NAA/ Cr, što je u skladu sa ranijim istraživanjima (*Charles et al., 1994; Pouwels and Frahm, 1998; Komorski et al., 1999; Gimenez et al., 2004; Safriel et al., 2005*).

Rezultati našeg istraživanja ukazuju na to da su razlike između obrazovnih grupa značajne, kao i da je prisutna zavisnost od ispitivanog regiona mozga. Pri tome su se od ispitanih dvanaest, tri lokacije posebno istakle u pogledu različitih vrednosti odnosa NAA/tCr za različite obrazovne grupe. Prva od tri pomenute lokacije pozicionirana je u bilateralno anteriornom regionu bele mase (2), dok su preostala dva voksla pozicionirana u anteriornom (3) i medijalnom (8) regionu sive mase, tačnije u bilateralno mezijalnom korteksu.

Sa druge strane, pokazali smo da merenja nisu pod uticajem različite starosne distribucije unutar obrazovnih grupa. Isto važi i za slučaj različite distribucije polova unutar obrazovnih grupa. Međutim, na osnovu rezultata ranijih istraživanja postoje indikacije da je veza NAA-kognicija jače izražena kod žena (*Pfleiderer et al., 2004; Jung et al., 2005*).

Skorašnja studija je pokazala porast nivoa NAA u hipokampusu nakon 4 meseca treninga prostorne navigacije. Pomenuti porast nivoa NAA nestao je 4 meseca po okončavanju treninga, što ukazuje na to da su potrebne permanentnije promene kako bi se održale visoke koncentracije NAA (*Lovden et al., 2011*). Veliki broj godina obrazovanja, kao i nastavak učenja tokom čitavog života mogu dovesti do takvih permanentnih promena. Već uvrđene jake veze između IQ i obrazovanja (*Gottfredson, 1997*), kao i IQ i NAA (*Pfleiderer et al., 2004*), ukazuju na to da je visok stepen obrazovanja povezan sa visokim kognitivnim kapacitetima.

Dakle, dobijeni rezultati podržavaju našu hipotezu da visok stepen obrazovanja može imati zaštitni efekat i dovesti do smanjenog gubitka neuronskog integriteta, kao i do smanjene verovatnoće za razvoj demencije u kasnjem stadijumu života pojedinca. Možemo reći da rezultati do kojih smo došli odgovaraju rezultatima ranijih istraživanja. Pri tumačenju rezultata merenja moraju se uzeti u obzir i razlike u tehnikama akvizicije i karakteristikama ispitivanih uzoraka, tako da se do utvrđivanja neke standardne procedure dobijeni rezultati moraju uzimati sa rezervom.

Literatura

- (1) Debora Bertholdo, Arvemas Watcharakorn, Mauricio Castillo, 2013; University of North Carolina at Chapel Hill; *Brain Proton Magnetic Resonance Spectroscopy*,
- (2) Catherine Westbrook, Carolyn Kaut, 1998; Blackwell Science Ltd; *MRI in Practice* (Second edition)
- (3) Donald W. McRobbie, Elisabeth A. Moore, Martin J. Graves, Martin R. Prince, 2006; Cambridge University Press; *MRI from Picture to Proton (Second edition)*
- (4) Peter B. Barker, 2005; Cambridge University Press; Fundamentals of MR spectroscopy
- (5) Lars G. Hanson, 2009; Danish Research Centre for Magnetic Resonance, Copenhagen University Hospital Hvidovre; *Introduction to Magnetic Resonance Imaging Techniques*
- (6) Davor Eterović, 2002; Medicinska naklada, Zagreb; *Fizikalne Osnove Slikovne Dijagnostike*
- (7) Perry Sprawls Jr., 1995; Medical Physics Pub. Corp.; *Physical Principles of Medical Imaging (Second Edition)*
- (8) Manuel Martinez-Ramon, Ascension Gallardo-Antolin, Jesus Cid-Sueiro, Gregory L. Heileman, Kaung-Ti Yung, Weili Zheng, Chenguang Zhao, Stefan Posse, 2010; Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com); *Automatic Placement of Outer Volume Suppression Slices in MRSI of the Human Brain*
- (9) Charlotte Stagg, Douglas L. Rothman, 2013; Academic Press; *Magnetic Resonance Spectroscopy: Tools for Neuroscience Research and Emerging Clinical Applications*
- (10) Susumu Mori, Jiangyang Zhang, 2006; Neuron, Volume 51, Issue 5, Pages 527-539; *Principles of Diffusion Tensor Imaging and its Applications to Basic Neuroscience Research*
- (11) D. Strozik-Kotlorz, 2012; Session 9, Medical and Technological Applications of Spin Physics, Physics of Particles and Nuclei, Volume 45, Issue 1, Pages 347-348; *Magnetic Resonance Spectroscopy of the Human Brain*
- (12) Dick J. Drost, William R. Riddle, Geoffrey D. Clarke, 2002; American Association of Physicists in Medicine; *Proton Magnetic Resonance Spectroscopy in the Brain, Report of AAPM MR Task Group #9*
- (13) Stefan Posse, Ricardo Otazo, Stephen R. Dager, Jeffry Alger, 2012; Journal of Magnetic Resonance Imaging 37:1301-1325; *MR Spectroscopic Imaging: Principles and Recent Advances*
- (14) Harmen Reyngoudt, Tom Claeys, Leslie Vlerick, Stijn Verleden, Marjan Acou, Karel Deblaere, Yves De Deene, Kurt Audenaert, Ingeborg Goethals, Eric Achtem, 2012; European Journal of Radiology, Volume 81, Issue 3, Pages e223-e231; *Age-related differences in metabolites in the posterior cingulate cortex and hippocampus of the normal ageing brain: A ¹H-MRS study*
- (15) B. Repić Lampret, K. Trebusak, J. Frelih, P. Kotanik, T. Battelino, 2008; Pediatrična klinika, Ljubljana, Slo; *Uporaba GCMS pri odkrivanju Kanavanove bolezni*
- (16) de Graaf RA, Nicolay K., 1998; Magn Reson Med 40, 690-696; *Adiabatic water suppression using frequency selective excitation*
- (17) Klose U, 2003; Clinical Proton MR Spectroscopy Course Syllabus, European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology ESMRMB; *The Technical Basis of Magnetic Resonance Proton Spectroscopy and measurement sequences for single voxel MR spectroscopy*

- (18) Alain Coron, Leentje Vanhamme, Jean-Pierre Antoine, Paul Van Hecke, Sabine Van Huffel, 2001; Journal of Magnetic Resonance; *The Filtering Approach to Solvent Peak Suppression in MRS: A Critical Review*
- (19) Klose U., 1990; Magnetic Resonance in Medicine 14(1): 26-30; *In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents*
- (20) Cozzone P., 2003; Clinical Proton MR Spectroscopy Course Syllabus, European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology ESMRMB; *Metabolites in Human Proton Spectroscopy: Biochemistry and In Vitro measurements*
- (20) Danielsen Rubæk E., Ross B., 1999; Marcel Dekker, Inc; *Magnetic Resonance Spectroscopy Diagnosis of Neurological Diseases*
- (21) Hollingworth, W., Medina, L. S., Lenkinski, R. E., Shibata, D. K., Bernal, B., Zurakowski, D. et al., 2006; AJNR Am. J. Neuroradial. 27, 1404-1411; *A systematic literature review of magnetic resonance spectroscopy for characterization of brain tumors*
- (22) Hou, B.L., Hu, J., 2009; Methods Mol. Biology 520, 297-314; *MRI and MRS of human brain tumors*
- (23) Marino, S., Ciurleo, R., Bramanti, P., Federico, A. and De Stefano, N., 2011; Neurocrit. Care 14, 127-133; *¹H MR spectroscopy in traumatic brain injury*
- (24) de Stefano, N., Filippi, M., 2007; J. Neuroimag. 17, 31S-35S; *MR spectroscopy in multiple sclerosis*
- (25) Gonsales-Toledo, E., Kelley, R. E., Minagar, A., 2006; Neurol. Res. 28, 280-283; *Role of magnetic resonance spectroscopy in diagnosis and management of multiple sclerosis*
- (26) Loos, C., Achten, E., Santens, P., 2010; Acta Neurol. Belg. 110, 291-298; *Proton magnetic resonance spectroscopy in Alzheimer's disease, a review*
- (27) Kantarci, K., 2007; Br. J. Radiol. 80, S146-S152; *¹H MR spectroscopy in dementia*
- (28) Moffett, J.R., Ross, B., Arun, P., Madhavarao, C.N., Namboodiri, A.M., 2007; Prog. Neurobiol. 81, 89-131; *N-Acetylaspartate in CNS: from neurodiagnostics to neurobiology*
- (29) Ross, A.J., Sanchdev, P.S., 2004; Brain Res. Rev. 44, 83-102; *Magnetic resonance spectroscopy in cognitive research*
- (30) Matalon, R., Michals, K., Sebesta, D., Deanching, M., Gashkoff, P., Casanova, J., 1988; Am. J. Med. Genet. 29, 463-471; *Aspartoacylase deficiency and N-acetylaspartate aciduria in patients with Canavan disease*
- (31) Edelman, R.R., Zlatkin M.B., Hesselink, J.R., 1996; W.B. Saunders Company; *Clinical Magnetic Resonance Imaging, Second Edition, Volume One*
- (32) Oswald, W. D., Rupprecht, R., Gunzelmann, T. and Tritt, K., 1996; Behavioural Brain Research, 78:67-72; *The SIMA-project: Effects of one year cognitive and psychomotor training on cognitive abilities of the elderly.*
- (33) Stern Y., 2002; Journal of the International Neuropsychological Society, 8, 448-460; *What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept.*
- (34) Stern Y., Habeck, C., Moeller, J., Scarneas, N., Anderson, K. E., Hilton, H. J. et al., 2005; Cerebral Cortex, 15, 394-402; *Brain networks associated with cognitive reserve in healthy young and old adults.*

- (35) Stern Y., Gurland, B., Tatemichi, T. K., Tang, M. X., Wilder, D., Mayeux, R., 1994; Journal of the American Medical Association, 271, 1004-1010; *Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease.*
- (36) Stern Y., 2009; Neuropsychologia: An International Journal in Behavioural and Cognitive Neuroscience, 47, 2015-2028; *Cognitive reserve.*
- (37) Stern Y. PhD, 2006; Alzheimer Dis. Assoc. Discor., Volume 20, Number 2; *Cognitive Reserve and Alzheimer Disease.*
- (38) Stern Y., 2012; Lancet Neurol., 11(11): 1006-1012; *Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease.*
- (39) Barnes D.E., Yaffe K., 2011; Lancet. Neurol., 10(9): 819-28; *The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence.*
- (40) Yaffe K., Fiocco A.J., Lindquist K., Vittinghoff E., Simonsick E.M., Newman A.B. et al., 2009; Neurology, 72: 2029-2035; *Predictors of maintaining cognitive function in older adults: the Health ABC study.*
- (41) Sharp E.S., Gatz M., 2011; Alzheimer Dis. Assoc. Disord., 25: 289-304; *Relationship between education and dementia: an updated systematic review.*
- (42) Valenzuela, M.J., Sachdev, P., 2009; Indian Journal of Psychiatry, 51: S16-S21; *Harnessing brain and cognitive reserve for prevention of dementia.*
- (43) Tallan, H.H., 1957; Journal Biol. Chem., 224: 41-45; *Studies on the distribution of N-acetylaspartic acid in brain.*
- (44) Tallan, H.H., Moore, S., Stein, W.H., 1956; Journal Biol. Chem., 219: 257-264; *N-acetylaspartic acid in brain.*
- (45) Pan, J.W., Takahashi, K., 2005; Ann. Neurol., 57: 92-97; *Interdependence of NAA and highenergy phosphates in healthy human brain.*
- (46) Bluml, S., 1999; Journal Magn. Reson., 136: 1200-1209; *In vivo quantitaion of cerebral metabolite concentrations using natural abundance.*
- (47) Arenaza-Urquijo, E.M., Landau, B., La Joie, R., Mevel, K., Mezenge, F., Perrotin, A. et al., 2013; NeuroImage, 83: 450-457; *Relationships between years of education and gray matter volume, metabolism and functional connectivity in healthy elders.*
- (48) Nadler, J.V., Cooper, J.R., 1972; Journal Neurochem. 19: 313-319; *N-acetylaspartic acid content of human neural tumours and bovine peripheral nervous tissues.*
- (49) Baslow, M.H., 2002; Neurochem. Int. 40: 295-300; *Evidence supporting a role for NAA as a molecular water pump in myelinated neurons in the CNS. An analytical review.*
- (50) Baslow, M.H., 2003; Neurochem. Res. 28: 941-953; *NAA in the vertebrate brain: metabolism and function.*
- (51) Bjartmar, C., Battistuta, J., Terada, N., Dupree, E., Trapp, B.D., 2002; Ann. Neurol. 51: 51-58; *NAA is an axon-specific marker of mature white matter in vivo: a biochemical and immunohistochemical study on the rat optic nerve.*
- (52) Bates, T.E., Strangward, M., Keelan, J., Davey, G.P., Munro, P.M., Clark, J.B., 1996; Neuroreport 7, 1397–1400; *Inhibition of N-acetylaspartate production: implications for 1H MRS studies in vivo.*
- (53) Clark, J.B., 1998; Dev. Neurosci. 20, 271–276; *N-Acetyl aspartate: a marker for neuronal loss or mitochondrial dysfunction.*

- (55) De Stefano, N., Matthews, P.M., Arnold, D.L., 1995; Magn. Reson. Med. 34, 721–727; *Reversible decreases in Nacetylaspartate after acute brain injury.*
- (56) Demougeot, C., Marie, C., Giroud, M., Beley, A., 2004; J. Neurochem. 90, 776–783; *N-Acetylaspartate: a literature review of animal research on brain ischaemia.*
- (57) Gasparovic, C., Arfai, N., Smid, N., Feeney, D.M., 2001; J. Neurotrauma 18, 241–246; *Decrease and recovery of N-acetylaspartate/creatinine in rat brain remote from focal injury.*
- (58) Kalra, S., Cashman, N.R., Genge, A., Arnold, D.L., 1998; Neuroreport 9, 1757–1761; *Recovery of Nacetylaspartate in corticomotor neurons of patients with ALS after riluzole therapy.*
- (59) Narayanan, S., De Stefano, N., Francis, G.S., Arnaoutelis, R., Caramanos, Z., Collins, D.L., Pelletier, D., Arnason, B.G.W., Antel, J.P., Arnold, D.L., 2001; J. Neurol. 248, 979–986; *Axonal metabolic recovery in multiple sclerosis patients treated with interferon beta-1b.*
- (60) Wittsack, H.J., Kugel, H., Roth, B., Heindel, W., 1996; J. Magn. Reson. Imaging 6, 889–893; *Quantitative measurements with localized ¹H MR spectroscopy in children with Canavan's disease.*
- (61) Barany, M., Spigos, D.G., Mok, E., Venkatasubramanian, P.N., Wilbur, A.C., Langer, B.G., 1987; Magn. Reson. Imaging 5, 393–398; *High resolution proton magnetic resonance spectroscopy of human brain and liver.*
- (62) Bartalini, G., Margollicci, M., Balestri, P., Farnetani, M.A., Cioni, M., Fois, A., 1992; Childs Nerv. Syst. 8, 468–470; *Biochemical diagnosis of Canavan disease.*
- (63) Divry, P., Mathieu, M., 1989; Am. J. Med. Genet. 32, 550–551; *Aspartoacylase deficiency and N-acetylaspartic aciduria in patients with Canavan disease [letter].*
- (64) Fan, T.W., Higashi, R.M., Lane, A.N., Jardetzky, O., 1986; Biochim. Biophys. Acta 882, 154–167; *Combined use of ¹H-NMR and GC-MS for metabolite monitoring and in vivo ¹H-NMR assignments.*
- (65) Luyten, P.R., den Hollander, J.A., 1986; Radiology 161, 795–798; *Observation of metabolites in the human brain by MR spectroscopy.*
- (66) Kantarci, K., Jack Jr., C.R., 2003; Neuroimaging Clin. N. Am. 13, 197–209; *Neuroimaging in Alzheimer disease: an evidence-based review.*
- (67) Moats, R.A., Ernst, T., Shonk, T.K., Ross, B.D., 1994; Magn. Reson. Med. 32, 110–115; *Abnormal cerebral metabolite concentrations in patients with probable Alzheimer disease.*
- (68) Lin, A.P., Shic, F., Enriquez, C., Ross, B.D., 2003; MAGMA 16, 29–42; Reduced glutamate neurotransmission in patients with Alzheimer's disease—an in vivo ¹³C magnetic resonance spectroscopy study.
- (69) Waldman, A.D., Rai, G.S., McConnell, J.R., Chaudry, M., Grant, D., 2002; Arch. Gerontol. Geriatr. 35, 137–142; *Clinical brain proton magnetic resonance spectroscopy for management of Alzheimer's and sub-cortical ischemic vascular dementia in older people.*
- (70) Lidia Glodzik, William, E., Wub, James, S., Babb et al., 2012; Psychiatry Research: Neuroimaging, 204: 49–54; *The whole-brain Nacetylaspartate correlates with education in normal adults.*
- (71) Kirk I. Erickson, Regina L. Leckie, Andrea M. Weinstein, et al., 2014; Brain and Behavior; *Education mitigates age-related decline in N-Acetylaspartate levels.*

- (72) Gruber, S., Pinker, K., Riederer, F., et al., 2008; Eur. J. Radio. 68(2): 320-327; *Metabolic changes in the normal ageing brain: Consistent findings from short and long echo time proton spectroscopy.*
- (73) Falini, A., Bozzali, M., Magnani, G., et al, 2005; Neuroimage 26: 1159–1163; *A whole brain MR spectroscopy study from patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.*
- (74) Bartes-Faz, D., Arenaza-Urquijo, E.M., 2011; Brain Topogr. 24(3-4): 340-357; *Structural and functional imaging correlates of cognitive and brain reserve hypothesis in healthy and pathological aging.*
- (75) Wu, W.E., Gass, A., Glodzik, L., Babb, J.S., Hirsch, J., Sollberger, M., Achtnichts, L., Amann, M., Monsch, A.U., Gonen, O., 2012; Neurobiol. Aging, 33(10): 2440-2447; *Whole brain N-acetylaspartate concentration is conserved throughout normal aging.*
- (76) R.E. Jung, W.M. Brooks, R.A. Yeo, S.J. Chiulli, D.C. Weers, W.L.J. Sibbitt, 1999; The Royal Society, Proceedings: Biological Sciences 266: 1375–1399; *Biochemical markers of intelligence: a proton MR spectroscopy study of normal human brain.*
- (77) R.E. Jung, R.A. Yeo, S.J. Chiulli, W.L.J. Sibbitt, D.C. Weers, B.L. Hart, W.M. Brooks, 1999; Neuroreport 10: 3327–3331; *Biochemical markers of cognition: a proton MR spectroscopy study of normal human brain*
- (78) Amy J. Ross, Perminder S. Sachdev, Wei Wen, Michael J. Valenzuela, Henry Brodaty, 2005; Brain Research Bulletin, 66: 9-16; *Cognitive correlates of ¹H MRS measures in the healthy elderly brain.*
- (79) K.W. Schaie, S.B. Maitland, S.L. Willis, R.C. Intrieri, 1998; Psychol. Aging 13: 8–20; *Longitudinal invariance of adult psychometric ability factor structures across 7 years.*
- (80) Gottfredson, L.S., 1997; Intelligence 24: 79–132; *Why g matters: the complexity of everyday life.*
- (81) Yeo, R.A., Arden, R., Jung, R.E., 2011; Current Alzheimer's Research 8: 345–353; *Alzheimer's disease and intelligence.*
- (82) Jung, R.E., Yeo, R.A., Chiulli, S.J., Sibbitt, W.L., Brooks, W.M., 2000; The Clinical Neuropsychologist 14: 535–545; *Myths of neuropsychology: intelligence, neurometabolism, and cognitive ability.*
- (83) Jacobs, B., Schall, M., Scheibel, A.B., 1993; Journal of Comparative Neurology 327: 97–111; *A quantitative dendritic analysis of Wernicke's area in humans. II. Gender, hemispheric and environmental factors.*
- (84) Charlton, R.A., McIntyre, D.J., Howe, F.A., Morris, R.G., Markus, H.S., 2007; Brain Research 1164: 108–116; *The relationship between white matter brain metabolites and cognition in normal aging: the genie study.*
- (85) Gimenez, M., Junque, C., Narberhaus, A., Caldu, X., Segarra, D., Vendrell, P., Bargallo, N., Mercader, J.M., 2004; NeuroReport 15: 703–707; *Medial temporal MR spectroscopy is related to memory performance in normal adolescent subjects.*
- (86) Pfleiderer, B., Ohrmann, P., Suslow, T., Wolgast, M., Gerlach, A.L., Heindel, W., Michael, N., 2004; Neuroscience 123: 1053–1058; *N-Acetylaspartate levels of left frontal cortex are associated with verbal intelligence in women but not men: a proton magnetic resonance spectroscopy study.*

- (87) Tulpesh Patel, Jacqueline C. Blyth, Gareth Griffiths, Deirdre Kelly, Joel B. Talcott, 2014; *Front Hum. Neurosci.* 8: 39; *Moderate Relationship between NAA and cognitive ability in healthy adults: implications for cognitive spectroscopy*.
- (88) Jung, R.E., Gasparovic, C., Chavez, R.S., Caprihan, A., Barrow, .R, Yeo, R.A., 2009; *Intelligence* 37(2):192-198; *Imaging intelligence with proton magnetic resonance spectroscopy*.
- (89) Jung, R.E., Haier, R.J., Yeo, R.A., Rowland, L.M., Petropoulos, H., Levine, A.S., Sibbitt, W.L., Brooks, W.M., 2005; *Neuroimage* 26(3): 965-972; *Sex differences in N-acetylaspartate correlates of general intelligence: an 1H-MRS study of normal human brain*.
- (90) Jelena Ostojić, 2007; Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Beograd; *Ispitivanje regionalnih i starosnih razlika u biohemijском profilu moždanog parenhima protonskom magnetno rezonantnom spektroskopijom*.
- (91) Charles, H.C., Lazeyras, F., Krishnan, K.R., Boyko, O.B., Patterson, L.J., Doraiswamy, P.M., McDonald, W.M., 1994; *Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry* 18(6):995-1004; *Proton spectroscopy of human brain: effects of age and sex*.
- (92) Pouwels, P.J., Frahm, J., 1998; *Magn. Reson. Med.* 39(1):53-60; *Regional metabolite concentrations in human brain as determined by quantitative localized proton MRS*.
- (93) Komoroski, R.A., Heimberg, C., Cardwell, D., Karson, C.N., 1999; *Magn. Reson. Imaging* 17(3):427-33; *Effects of gender and region on proton MRS of normal human brain*.
- (94) Giménez, M., Junque, C., Narberhaus, A., Caldu, X., Segarra, D., Vendrell, P., Bargallo, N., Mercader, J.M., 2004; *Neuroreport* 15(4):703-7; *Medial temporal MR spectroscopy is related to memory performance in normal adolescent subjects*.
- (95) Safriel, Y., Pol-Rodriguez, M., Novotny, E.J., Rothman, D.L., Fulbright, R.K., 2005; *AJNR American Journal Neuroradiology* 26(6):1439-45; *Reference values for long echo time MR spectroscopy in healthy adults*.
- (96)
www2.warwick.ac.uk/fac/dci/physics/research/condensedmatt/imr_cdt/students/peter_james_ross/radipimaging/rare/
- (97) Lovden, M., Schaefer, S., Noack, H., Kanowski, M., Kaufmann, J., Tempelmann, C., Bodammer, N.C., Kuhn, S., Heinze, H.J., Lindenberger, U., Duzel, E., Backman, L., 2011; *Cereb Cortex* 21(6):1435-42; *Performance-related increases in hippocampal N-acetylaspartate (NAA) induced by spatial navigation training are restricted to BDNF Val homozygotes*.

Biografija

Lazović Anja rođena je 27. jula 1991. godine u Brčkom, BIH. Osnovnu školu pohađala je u Brčkom. Gimnaziju opšteg smera završila je u Brčkom. Po završetku gimnazije, 2010. godine, upisala je studije fizike na Departmanu za fiziku, Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Diplomske studije završila je 2014. godine i iste godine upisala master studije.

UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:

RBR

Identifikacioni broj:

IBR

Tip dokumentacije:

Monografska dokumentacija

TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal

TZ

Vrsta rada: Master rad

VR

Autor: Lazović Anja

AU

Mentor: Doc. dr Jelena Ostojić

MN

Naslov rada: Obrazovanje kao prevencija gubitka N-acetilaspartata tokom starenja

NR

Jezik publikacije: srpski (latinica)

JP

Jezik izvoda: srpski/engleski

JI

Zemlja publikovanja: Srbija

ZP

Uže geografsko područje: Vojvodina

UGP

Godina: 2015

GO

<i>Izdavač:</i>	Autorski reprint
IZ	
<i>Mesto i adresa:</i>	Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 4, Novi Sad
MA	
<i>Fizički opis rada:</i>	
FO	
<i>Naučna oblast:</i>	Nuklearna Magnetna Rezonanca
NO	
<i>Naučna disciplina:</i>	Nuklearna fizika
ND	
<i>Predmetna odrednica/ ključne reči:</i>	Magnetno Rezonantna Spektroskopija, nivo N-acetilaspartata, Starenje, Obrazovanje
PO	
UDK	
<i>Čuva se:</i>	Biblioteka departmana za fiziku, PMF-a u Novom Sadu
ČU	
<i>Važna napomena:</i>	nema
VN	
<i>Izvod:</i>	Uvod: Cilj istraživanja bio je ispitivanje veze između nivoa N-acetil aspratata i godina formalnog obrazovanja. Želeli smo da utvrdimo da li postoji vidljiv efekat obrazovanja na nivo NAA, kao i da ispitamo način na koji stepen obrazovanja utiče na promene koncentracije NAA pri procesu starenja. Metode: Uporedivan je uticaj obrazovanja na koncentracije NAA u odnosu na uticaj pola i životne dobi, na 12 lokacija u mozgu. Ispitanici su podeljeni u grupe po godinama i po stepenu obrazovanja. Primenjen je standardni protokol za endokranijum upotpunjena sa 2D Multivoxel SE 135 spektroskopijom. Rezultati: Rezultati ukazuju na to da su razlike između obrazovnih grupa značajne, kao i da je prisutna zavisnost od ispitivanog regiona mozga. Levi frontalni korteks najviše doprinosi diskriminaciji različitih nivoa obrazovanja. Vrednosti odnosa NAA/tCr najviše su doktore nauka, s tim da je razlika u vrednosti odnosa grupa 1(srednja škola) i 4 (doktorat) znatna, što potvrđuje hipotezu da visok stepen obrazovanja utiče na način na koji će se menjati nivo NAA. Povišen nivo NAA dovodimo u vezu sa visokim stepenom obrazovanja. 75% ukupne visoko obrazovane populacije čine srednjovečni i stari ispitanici. Ovo ukazuje na to da važi hipoteza kojom smo predvideli da će godine formalnog obrazovanja uticati na ponašanje NAA pri procesu normalnog starenja. Zaključak: Dobijeni rezultati podržavaju hipotezu da visok stepen obrazovanja može imati zaštitni efekat i dovesti do smanjenog gubitka neuronskog integriteta, kao i do smanjene verovatnoće za razvoj demencije u kasnijem stadijumu života pojedinca.

Datum prihvatanja teme od NN veća:

DP

Datum odbrane:

28.09.2015.

DO

Članovi komisije:

Doc. dr Jelena Ostojić, Prof dr. Olivera Klisurić, Prof. dr Nataša Todorović

KO

Predsednik:

Prof. dr Olivera Klisurić

član:

Doc. dr Jelena Ostojić

član:

Prof. dr Nataša Todorović

UNIVERSITY OF NOVI SAD

FACULTY OF SCIENCE AND MATHEMATICS

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type: Monograph publication

DT

Type of record: Textual printed material

TR

Content code: Final paper

CC

Author: Lazović Anja

AU

Mentor/comentor: Doc. dr Jelena Ostojić

MN

Title: Education mitigates age-related decline in N-acetylaspartate

TI

Language of text: Serbian (Latin)

LT

Language of abstract: English

LA

Country of publication: Serbia

CP

Locality of publication: Vojvodina

LP

Publication year: 2015

PY

Publisher: Author's reprint

PU

Publication place: Faculty of Science and Mathematics, Trg Dositeja Obradovića 4, Novi Sad

PP

Physical description: 5/182/32/0/71/0/3

PD

Scientific field: Nuclear Magnetic Resonance

SF

Scientific discipline: Nuclear Physics

SD

Subject/ Key words: Magnetic Resonance Spectroscopy, N-acetylaspartate levels, Aging, Education

SKW**UC**

Holding data: Library of Department of Physics, Trg Dositeja Obradovića 4

HD

Note: none

N

Abstract:

AB

Background: The purpose of this research was to examine the connection between N-acetylaspartate levels and years of formal education. We wanted to see if there are any visible effects of education on NAA levels and to examine the way it affects age-related changes in NAA levels. **Methods:** We compared the effects of education in NAA levels relative to age and sex of the participants, on 12 different locations in the brain. Participants were divided into groups according to age and years of formal education. They were subjected to the standard protocol for the endocranum complemented by 2D Multivoxel SE 135 spectroscopy. **Results:** The results indicate that the overall differences between education groups are significant and they showed dependence on the brain region being examined. Left frontal cortex contributes the most to discrimination among levels of education for NAA/tCr. Values of the NAA/tCr were found to be the highest in group 4 (PhD), and also the differences in NAA/tCr values between groups 1 (high school) and 4 were significant. This confirms the hypothesis that high level of education does indeed affect the way NAA levels change. We found high levels of education to be linked to high levels of NAA. 75% of the entire highly educated population is middle-aged or old. This indicates that the hypothesis, which predicts that education mitigates age-related decline in NAA levels, is valid. **Conclusion:** The results support our hypothesis that high levels of education can produce a protective effect which leads to decrease in neuronal integrity loss, and also results in decreased probability of dementia development in later stages of life.

Accepted by the Scientific Board:

ASB

Defended on:

28.09.2015.

DE

Thesis defend board:

Doc. dr Jelena Ostojić, Prof dr. Olivera Klisurić, Prof. dr Nataša Todorović

DB

President:

Prof dr. Olivera Klisurić

Member:

Doc. dr Jelena Ostojić

Member:

Prof. dr Nataša Todorović