UNIWERSYTET
WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE

WYDZIAŁ LEKARSKI

Dziedzina: Nauki medyczne i nauki o zdrowiu

Dyscyplina: Nauki medyczne

mgr inż. Karol Kołodziejski

Rozprawa doktorska

Cykl publikacji powiązanych tematycznie

Markery zmian patologicznych w tkankach na podstawie relaksacji Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w niskim polu.

Markers of pathological changes in tissues revealed by Nuclear Magnetic Resonance relaxometry in low field.

Praca wykonana w Katedrze Fizyki i Biofizyki Wydziału Nauki o Żywności

Promotorzy:

Prof. dr hab. Danuta Teresa Kruk, Katedra Fizyki i Biofizyki, Wydział Nauki o Żywności

Prof. dr hab. n. med. Jerzy Stanisław Gielecki, Katedra Anatomii, Wydział Lekarski

Olsztyn, 2025

Załącznik nr 3 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 16.12.2025
(miejscowość, data)

Mgr inż. Karol Kołodziejski
(imię i nazwisko kandydata)

Nauki Medyczne
(dyscyplina naukowa)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
o samodzielnym napisaniu rozprawy doktorskiej

Świadoma(-y) odpowiedzialności prawnej oświadczam, że rozprawa doktorska pod tytułem ***Markery zmian patologicznych w tkankach na podstawie relaksacji Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w niskim polu*** została napisana przeze mnie samodzielnie i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.

Oświadczam również, że przedstawiona rozprawa nie jest i nie była wcześniej podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora.

Ponadto oświadczam, że treść rozprawy doktorskiej przedstawionej przez mnie do obrony, zawarta na przekazywanym nośniku elektronicznym, jest identyczna z jej wersją drukowaną.

W związku z powyższym oświadczam, że wyrażam zgodę na poddanie rozprawy doktorskiej procedurze antyplagiatowej.

Karol Kołodziejski
(podpis kandydata)

Załącznik nr 2 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 16.12.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. Danuta Kruk
(stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko
promotora/promotora pomocniczego*)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
promotora/~~promotora pomocniczego~~* rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że rozprawa doktorska ***mgr inż. Karola Kołodziejskiego*** pod tytułem ***Markery zmian patologicznych w tkankach na podstawie relaksacji Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w niskim polu*** została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Danuta Kruk
.....
(podpis promotora)

* *niepotrzebne skreślić*

Załącznik nr 2 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 16.12.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Jerzy Gielecki
(stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko
promotora/promotora pomocniczego*)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
promotora/~~promotora pomocniczego~~* rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że rozprawa doktorska ***mgr inż. Karola Kołodziejskiego*** pod tytułem ***Markery zmian patologicznych w tkankach na podstawie relaksacji Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w niskim polu*** została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

J. Gielecki
(podpis promotora)

** niepotrzebne skreślić*

Podziękowania

Serdeczne podziękowania kieruję do Promotorów- ***prof. dr hab. Danuty Kruk*** *oraz* ***prof. dr hab. n. med. Jerzego Gieleckiego****, za merytoryczne wsparcie oraz cenne wskazówki, które umożliwiły realizację tej rozprawy.*

Pragnę złożyć wyrazy najgłębszej wdzięczności moim Rodzicom za nieustanne wsparcie, cierpliwość oraz wiarę w moje możliwości.

Z szacunkiem i pamięcią dedykuję tę pracę mojej śp. Babci Zofii oraz śp. Babci Reginie, której osobiste doświadczenie choroby nowotworowej nadało szczególny, ludzki wymiar prowadzonym przeze mnie badaniom.

Wyrazy uznania i wdzięczności składam także wszystkim członkom zespołu badawczego, z którymi miałem zaszczyt współpracować, ze szczególnym podkreśleniem roli dr Elżbiety, której zaangażowanie, wiedza i wsparcie były nieocenione w procesie kształtowania mojego warsztatu eksperymentalnego.

Informacja o finansowaniu badań

Opłaty publikacyjne oraz badania wykonane w ramach publikacji naukowej **P1** zostały sfinansowane z projektu EU Horizon 2020 ***IDentIFY*** (umowa grantowa nr *668119*), koordynowanego przez Uniwersytet w Aberdeen, w którym Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie uczestniczył jako partner.

Natomiast druga część badań prowadzonych w ramach niniejszej pracy doktorskiej, a także opłaty związane z publikacją artykułów naukowych stanowiących jej rezultaty (**P2** i **P3**), zostały sfinansowane z projektu Narodowego Centrum Nauki – OPUS 22 (kierownik projektu: prof. Danuta Kruk), nr *2021/43/B/NZ5/01602*, pt. „***Markery zmian patologicznych w tkankach na podstawie relaksometrii Magnetycznego Rezonansu Jądrowego***”.

SPIS TREŚCI

1. Publikacje stanowiące rozprawę doktorską

2. Streszczenie

3. Summary

4. Wstęp

5. Cel i zakres badań

6. Materiał i metody

7. Wyniki

- **7.1.** *Markers of low field NMR relaxation features of tissues*
- **7.2.** *Revealing and modelling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.*
- **7.3.** *^{1}H NMR relaxation processes in lung tissues at low magnetic fields.*
- **7.4.** Dyskusja uzyskanych wyników.

8. Podsumowanie i wnioski

9. Spis literatury

10. Kopie opublikowanych prac wchodzących w skład cyklu

11. Ankieta pracy zawodowej i naukowej

12. Oświadczenia współautorów publikacji

13. Kopia poświadczenia dorobku naukowego

1. PUBLIKACJE STANOWIĄCE ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

Niniejsza rozprawa doktorska pt. „Markery zmian patologicznych w tkankach na podstawie relaksacji Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w niskim polu" stanowi cykl trzech połączonych tematycznie artykułów naukowych, opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych, indeksowanych w bazach PubMed, Scopus oraz Web Of Science, jak i znajdujących się na liście Journal Citation Reports (Thomson Reuters). Łączna wartość współczynnika Impact Factor dla cyklu niżej wymienionych prac wynosi **10.3 oraz 320 punktów** według listy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (lista „A").

Publikacje stanowiące rozprawę doktorską:

P1. Kolodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A., Zampetoulas, V., Samuel, L., Murray, G., Lurie, D.J., Broche, L.M., Kruk D. *Markers of low field NMR relaxation features of tissues.* Sci. Rep. 2024, 14:24901, doi: https://doi.org/10.1038/s41598-024-74055-7 (**IF**: 3.8 **MNiSW**: 140pkt)

P2. Kolodziejski, K., Ullah, F., Jablonski, K., Mieloch, K., Zukowski, M., Gielecki, J., Kruk D. *Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.* Magn. Reson. Chem. 2025, doi: https://doi.org/10.1002/mrc.70047 (**IF**: 1.9 **MNiSW**: 40pkt)

P3. Kolodziejski, K., Ullah, F., Klepacki, Ł., Gielecki, J., Kruk D. *^{1}H NMR relaxation processes in lung tissues at low magnetic fields.* Molecules. 2025, 30(19):4002, doi: https://doi.org/10.3390/molecules30194002 (**IF**: 4.6 **MNiSW:** 140pkt)

2. STRESZCZENIE

Celem badań przedstawionych w niniejszej rozprawie doktorskiej (opartej na cyklu załączonych publikacji) jest analiza procesów relaksacji Magnetycznego Rezonansu Jądrowego (MRJ) w niskich polach magnetycznych (obejmujących przedział od mTesli do 0.25T) dla wybranych tkanek ludzkich, z zamiarem wyjaśnienia do jakiego stopnia różnice pomiędzy własnościami relaksacyjnymi tkanek patologicznych i referencyjnych mogą potencjalnie być przydatne w diagnostyce medycznej. W ramach prowadzonych badań zgromadzono obszerny materiał eksperymentalny, obejmujący wartości szybkości relaksacji protonowej (^{1}H) spin – sieć w przedziale częstości rezonansowych od około 10kHz do około 10MHz (opowiadającym podanemu zakresowi pól magnetycznych) oraz szybkości relaksacji spin-spin dla częstości rezonansowej 18.7MHz. Eksperymenty te zostały przeprowadzone dla tkanek endometrium (P2) i płuc (P3). W celu porównania własności relaksacyjnych tkanek nowotworowych i referencyjnych została opracowana dedykowana strategia analizy danych, polegająca na wyznaczeniu specyficznych parametrów określonych jako markery własności relaksacyjnych. Strategia ta została przedstawiona w P1 i zilustrowana w oparciu o materiał eksperymentalny (szybkość relaksacji spin-sieć w przedziale częstości od 1kHz do 10MHz) dla tkanek jelita grubego zgromadzony przez zespół badawczy Uniwersytetu w Aberdeen i udostępniony mi w ramach współpracy naukowej. Zaproponowany zestaw parametrów obejmuje wielkości takie jak: szybkości relaksacji protonowej spin-sieć i spin – spin (w przypadku często obserwowanych dwu-eksponencjalnych procesów relaksacji analizowano szybkości relaksacji związane z obiema komponentami, stosunek amplitud obu komponent oraz stosunek poszczególnych szybkości relaksacji), nachylenie krzywej przedstawiającej szybkość relaksacji w funkcji częstości rezonansowej (przyjmując liniowe przybliżenie w obszarze niskich pól magnetycznych), czy tez względny spadek szybkości relaksacji przy zwiększeniu pola magnetycznego (częstości rezonansowej) o jedną dekadę. Po analizie danych w pracy P2 potwierdzono, że relaksacja spin-spin dla tkanek endometrium wykazuje charakter dwu-eksponencjalny, a relaksację spin-sieć wykazuje charakter jedno-eksponencjalny, zaś nachylenie krzywej przedstawiającej szybkość relaksacji w funkcji częstości rezonansowej jest średnio o połowę większe w niskich zakresach częstości. W pracy P3 wykazano, że stosunek szybkości relaksacji dla tkanek zmienionych patologicznie/referencyjnych wyniósł 1.15. Uzyskane wyniki potwierdzają, że analiza procesów relaksacji MRJ w obszarze niskich pól magnetycznym jest wartościowym narzędziem do badania dynamiki molekularnej w tkankach.

3. SUMMARY

The aim of the research presented in this doctoral dissertation (based on a series of attached publications) is to analyse Nuclear Magnetic Resonance (NMR) relaxation processes in low magnetic fields (ranging from milli Tesla to 0.25 T) for selected human tissues, with the goal of determining to what extent differences in the relaxation properties of pathological and reference tissues may potentially be useful in medical diagnostics. As part of this research, an extensive set of experimental data was collected, including the proton (^{1}H) spin–lattice relaxation rates over a resonance frequency range from approximately 10 kHz to 10 MHz (corresponding to the given magnetic field range), as well as spin–spin relaxation rates measured at the resonance frequency of 18.7 MHz. These experiments were conducted for endometrial (P2) and lung (P3) tissues. To compare the relaxation properties of cancerous and reference tissues, a dedicated data analysis strategy was developed. This approach involves determining specific parameters defined as markers of relaxation properties. The strategy was presented in publication P1 and illustrated using experimental material (spin–lattice relaxation rates in the frequency range 1 kHz–10 MHz) for colon tissues collected by the research team at the University of Aberdeen and shared with me as part of a scientific collaboration. The proposed set of parameters includes quantities such as proton spin–lattice and spin–spin relaxation rates (in the case of frequently observed bi-exponential relaxation processes, the relaxation rates corresponding to both components were analysed, along with the amplitude ratio of the two components and the ratio of the individual relaxation rates), the slope of the relaxation rate versus resonance frequency curve (assuming a linear approximation in the low-field region), and the relative decrease in relaxation rate with an increase in magnetic field (resonance frequency) by one decade. After analysing the data in study P2, it was confirmed that spin–spin relaxation in endometrial tissues exhibits a bi-exponential character, while spin–lattice relaxation follows a mono-exponential pattern. Moreover, the slope of the relaxation rate versus resonance frequency curve was found to be, on average, twice as large in the low-frequency range. In study P3, the analysis of lung tissue data showed that the ratio of relaxation rates for pathological-to-reference tissue pairs was 1.15. The obtained results confirm that analysis NMR relaxation processes at low magnetic fields is a valuable tool for characterizing molecular dynamics in tissues

4. WSTĘP

Nowotwory stanowią jedno z najpoważniejszych wyzwań zdrowotnych współczesnego świata. Według szacunków Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) w ramach projektu GLOBOCAN 2022, opublikowanych w lutym 2024 r., w 2022 roku odnotowano około 20 milionów nowych zachorowań na raka i 9,7 miliona zgonów. Prognozy wskazują, że do 2050 roku liczba nowych przypadków może przekroczyć 35 milionów, co oznacza wzrost o blisko 77% w stosunku do 2022 roku (Bray i in., 2024). W samej Unii Europejskiej w 2022 roku zdiagnozowano niemal 3 miliony nowych przypadków raka i ponad 1,3 miliona zgonów (Bray i in., 2024). Polska należy do krajów o wysokim obciążeniu onkologicznym – szacunki dla 2022 roku mówią o około 209 tysięcy nowych zachorowań i 120 tysięcy zgonów (Bray i in., 2024). Dane te jednoznacznie wskazują na ogromne wyzwanie dla systemów ochrony zdrowia, a także na konieczność poszukiwania nowych metod diagnostycznych, które będą wspierały wczesne wykrywanie zmian patologicznych.

Obrazowanie Magnetycznego Rezonansu Jądrowego (MRI), od czasu powstania pierwszych prac autorstwa Lauterbura i Mansfielda (Lauterbur, 1973; Mansfield, 1977), stał się jedną z podstawowych metod obrazowania stosowanych w diagnostyce nowotworów. Jego zaletą jest zdolność do obrazowania tkanek miękkich, uzyskując obrazy o wysokiej rozdzielczości przestrzennej i wysokim kontraście, przy jednoczesnym braku ekspozycji na promieniowanie jonizujące (Hoult & Lauterbur, 1979; Brown & Semelka, 2011). Standardowe skanery MRI pracują najczęściej w polach 1,5–3 T, które zapewniają wysoki stosunek sygnału do szumu (SNR) i jakość obrazowania, ale ich stosowanie wiąże się z wysokimi kosztami, koniecznością stosowania cieczy chłodzących oraz ograniczoną dostępnością w mniejszych ośrodkach (Edelstein i in., 1986; Hennig i in., 2021).

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie systemami nisko-polowymi. Choć w porównaniu z wysokim polem zapewniają one niższy SNR, to dzięki postępom w technice cewek, rekonstrukcji obrazów i redukcji szumów ich możliwości kliniczne stale się poprawiają (Campbell-Washburn i in., 2019; Hori, 2021). Nisko-polowe MRI oferuje szereg korzyści: niższe koszty eksploatacji, brak konieczności stosowania

nadprzewodzących magnesów i cieczy chłodzących, mniejszą podatność na artefakty związane z obecnością implantów oraz możliwość budowy mobilnych systemów diagnostycznych (Arnold, 2022; Deoni i in., 2022). Tym samym nisko-polowe MRI może stanowić ważne uzupełnienie klasycznych instalacji wysokopolowych, zwłaszcza w kontekście badań przesiewowych i diagnostyki przyłóżkowej.

Jednym z najważniejszych źródeł informacji w rezonansie magnetycznym są czasy relaksacji spin-sieć (T_1) i spin-spin (T_2), które odzwierciedlają lokalne właściwości środowiska molekularnego. Już klasyczna teoria Bloembergena, Purcella i Pounda (1948) wykazała, że relaksacja zależy od procesów rotacyjnych i translacyjnych molekuł. W przypadku tkanek czasy relaksacji są w dużym stopniu determinowane przez dynamikę wody oraz obecność makromolekuł, takich jak białka i lipidy, a także przez stopień uwodnienia i gęstość upakowania komórek. Z tego względu T_1 i T_2 mogą być traktowane jako pośrednie markery zmian patologicznych – na przykład zwiększonej gęstości komórkowej, włóknienia czy obecności obszarów martwicy (Koenig & Brown, 1990).

Szczególną rolę w badaniach nad tymi zjawiskami odgrywa technika Fast Field-Cycling NMR (FFC-NMR), która umożliwia rejestrację zależności T_1 od pola magnetycznego i tworzenie tzw. krzywych dyspersji relaksacyjnej (zależności częstości rezonansowej od odwrotności czasu relaksacji wyrażonej jako $R_{1=}\frac{1}{T_1}$). W odróżnieniu od klasycznych eksperymentów prowadzonych w jednym, stałym polu magnetycznym, FFC-NMR pozwala śledzić zachowanie spinów w szerokim zakresie częstotliwości, a tym samym dostarcza dodatkowych informacji o interakcjach między wodą a otaczającymi ją strukturami biologicznymi (Kimmich & Anoardo, 2004). Dzięki temu możliwe jest bardziej precyzyjne określenie, jakie procesy molekularne dominują w danej tkance — czy jest to np. wolna dyfuzja wody w przestrzeniach zewnątrzkomórkowych, czy też jej ograniczona wymiana wewnątrz gęsto upakowanych komórek. W kontekście medycznym technika ta otwiera perspektywę poszukiwania nowych biomarkerów, które mogą uzupełnić standardowe badania MRI i zwiększyć czułość diagnostyki nowotworów czy innych chorób związanych ze zmianami mikrostrukturalnymi.

Zastosowania FFC-NMR w biologii i medycynie zostały szeroko udokumentowane. Praca autorstwa Koeniga i Browna (1990) wykazała, że analiza dyspersji relaksacyjnej wody w tkankach odzwierciedla ich mikrostrukturę. Badania przeprowadzone w zespole pod kierunkiem Borgii (2000) pokazały, że FFC-NMR pozwala analizować hydratację i procesy wymiany wody w białkach, zaś analizy wykonane pod kierunkiem Mattos (2002) podsumowały rolę samej hydratacji w dynamice biomolekuł. Prace podkreślające znaczenie FFC-NMR w badaniach dynamiki molekularnej w systemach biologicznych zostały opublikowanie między innymi przez zespół pracjący pod kierunkiem Parigi (2021), w pracy tej autorzy wskazali na możliwość precyzyjnego opisu ruchów molekularnych w szerokim zakresie czasów korelacji oraz na potencjał tej techniki do określania różnic w dynamice molekularnej białek w roztworach wodnych. Natomiast Masiewicz, Ullah, Mieloch (2024) określili zmiany w dynamice molekularnej białek, używając jako materiału badawczego uwodnionego, jak i pozbawionego wody kolagenu, wskazując na istotny wpływ zawartości wody na charakter relaksacji.

Prace na temat wykorzystania FFC-NMR w analizie danych pozyskanych z analiz tkanek nowotworowych są stosunkowo rzadkie — jednak dostępne publikacje wskazują na realny potencjał tej techniki. Zespół pod kierunkiem Di Gregorio (2019) wykazał, że dla tkanek raka piersi, kształt krzywych dyspersji relaksacyjnej może pomóc w różnicowaniu stadiów tej choroby. Petit i in. (2021) wykonując badania dla tkanek glejaka pozyskanych z myszy laboratoryjnych, wskazali, że parametry relaksacyjne takie jak ΔR_1 (zmiana współczynnika relaksacji w niskim polu magnetycznym – około 0.1mT) i czasy korelacji (czyli miary szybkości ruchu cząsteczek wody w tkankach) są skorelowane z ekspresją akwaporyny-4, poziomem hipoksji i migracją komórek. W pracy Ruggiero (2022) zaprezentowano możliwości wykorzystania techniki FFC-NMR in vivo, wykazując, że relaksacja spin-sieć (T_1) i wewnątrzkomórkowy czas wymiany wody ($\tau_{(in)}$) pozwalają rozdzielić inwazyjne od proliferacyjnych fenotypów glejaka i wartości te są powiązane z wynikami histopatologicznymi. Zaś Bitonto i in. (2021) wykorzystywali FFC-NMR jako narzędzie do oceny marginesów nowotworów, również wykazując istotne różnice między tkanką zdrową a nowotworową. Ponadto zespół naukowców pod kierunkiem Broche (2021) zaprezentowali zastosowanie FFC-NMR w badaniu chondromalacyjnych zmian w chrząstkach, wykazując różnice w

sygnale relaksacyjnym związanym m.in. z kolagenem i proteoglikanami. W pracy Baroni i in. (2020) wykorzystano FFC-NMR do oceny makrofagów związanych z nowotworami w modelu czerniaka u myszy, pokazując, że krzywe dyspersji relaksacyjnej po zastosowaniu cząsteczek zawierających żelazo (dokładniej ferumoxytolu) różnią się w zależności od tego, czy cząstki zostały wewnątrz- czy zewnątrzkomórkowo zaabsorbowane. Kolejnym ważnym rezultatem badań nad wykorzystaniem technologii FFC-NMR w medycynie było opracowanie prototypu skanera MRI pozwalającego na zmianę pola magnetycznego w trakcie przeprowadzania obrazowania pacjenta. Dokonali tego naukowcy z Uniwersytetu w Aberdeen pracujący w zespole pod kierownictwem prof. Lionela Broche (Broche i in., 2019).

Mimo licznych badań, w literaturze wciąż istnieją istotne luki. Wiadomo, że wartości parametrów relaksacyjnych różnią się pomiędzy tkankami zdrowymi i patologicznymi, jednak brak jest spójnie zdefiniowanych markerów relaksacyjnych możliwych do zastosowania w praktyce klinicznej. Dotychczasowe badania najczęściej ograniczały się do pojedynczych typów tkanek lub wybranych modeli biomolekularnych, bez systematycznej analizy obejmującej różne nowotwory oraz ich porównanie z tkankami zdrowymi. Nierozwiązanym problemem pozostaje także kwestia metodologii – wciąż brakuje standardowych procedur analizy danych FFC, które pozwalałyby w jednoznaczny i powtarzalny sposób różnicować zmiany patologiczne na podstawie krzywych dyspersji relaksacyjnej.

W tym kontekście podjęte przeze mnie badania, opublikowane w cyklu artykułów naukowych, mają na celu chociaż częściowe uzupełnienie tych luk. Głównym zadaniem było określenie potencjału niskich pól magnetycznych w wykazywaniu różnic pomiędzy tkankami zmienionymi patologicznie i niezmienionymi, a tym samym wskazanie swoistych „markerów" tych zmian. Stanowi to krok w stronę opracowania nowych narzędzi wspomagających diagnostykę zmian nowotworowych, bazujących na relaksometrii MRJ w niskim polu.

5. CEL I ZAKRES BADAŃ

Cel niniejszej pracy można określić jako:

Poszerzenie informacji uzyskiwanej za pomocą obrazowania rezonansu magnetycznego, analizując dynamikę molekuł wody i makromolekuł w tkankach nowotworowych oraz tkankach nie zmienionych patologicznie.

Cele szczegółowe:

1. Zbadanie dynamiki wody jak i frakcji makromolekularnej w tkankach zmienionych patologicznie i nie zmienionych patologicznie używając zmiennych, niskich pól magnetycznych.
2. Opracowanie metodologii analizy danych pod kątem wyodrębniania markerów zmian patologicznych.
3. Zidentyfikowanie „markerów" zmian patologicznych w tkankach.

Zostały również określone 3 **hipotezy badawcze:**

H1. Występują różnice we współczynnikach relaksacji między tkankami nie zmienionymi patologicznie a zmienionymi patologicznie w niskich polach magnetycznych.

H2. Istnieje korelacja między uzyskanymi wynikami w eksperymencie MRJ dla tkanek zmienionych patologicznie i nie zmienionych patologicznie używając niskich pól magnetycznych a wynikami badań histopatologicznych.

H3.Korelacja ta pozwala na wyodrębnienie i określenie markerów chorób nowotworowych.

6. MATERIAŁ I METODY

1. Artykuł **„***Markers of low field NMR relaxation features of tissues.”* opisujący wykorzystanie relaksometrii MRJ do określenia markerów zmian patologicznych dla nowotworu jelita grubego.

   Materiał badawczy: Materiał do powyższego badania stanowiły 24 próbki tkanek jelita grubego uzyskane od pacjentów poddawanych operacji resekcji nowotworu jelita grubego. Próbki te zostały pobrane od pacjentów hospitalizowanych w Aberdeen Royal Infirmary. 12 próbek zostało pozyskanych z rejonu guza, zaś kolejne 12 z części jelita nie objętej zmianą patologiczną. Próbki te zostały zatopione w parafinie w celu zabezpieczenia przed utratą wody. W związku z błędami technicznymi w trakcie przeprowadzania eksperymentów, wyniki dla 3 próbek z każdego zestawu zostały pominięte. W sumie daje to 9 próbek - tkanka zmieniona patologicznie i 9 próbek - tkanka nie zmieniona patologicznie. Zgoda etyczna na wykonanie eksperymentu i pobranie prób została wydana przez *Grampian Biorepository Scientific Access Group* (TR000068). Wszystkie eksperymenty jak i pobranie prób było wykonane zgodnie z *Good Clinical Practices for Clinical Trials UK*.

   Metodyka eksperymentalna: Eksperymenty relaksometrii MRJ zostały przeprowadzone w laboratorium Katedry Fizyki Biomedycznej Instytutu Nauk Medycznych Uniwersytetu w Aberdeen przy użyciu relaksometru MRJ (SMARtracer, Stelar, Mede, Włochy). Fragmenty tkanek o objętości około 1cm^3 zostały umieszczone w szklanych probówkach o średnicy 10mm i długości 50 mm. Probówki zostały zabezpieczone parafilmem w celu uniknięcia kontaminacji badanego materiału. Eksperymenty zostały przeprowadzone w kontrolowanych warunkach temperaturowych w temperaturze 37ºC (±0.1ºC). Krzywe dyspersji relaksacyjnej zostały zanalizowane dla częstości rezonansowych od 1 kHz do 10MHz (odpowiada to polu magnetycznemu od 0.02mT do 0.2T). Dla każdej z analizowanych prób 77 wartości szybkości relaksacji zostało zmierzone.

2. Artykuł **„***Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example”* opisujący wykorzystanie relaksometrii MRJ do określenia markerów zmian patologicznych dla nowotworu endometrium.

   Materiał badawczy: Materiał do powyższej publikacji stanowiło 20 próbek pobranych od 11 pacjentek poddawanych operacji resekcji nowotworu endometrium w Miejskim Szpitalu Zespolonym w Olsztynie, Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej i Położnictwa. W związku ze specyfiką nowotworu endometrium (jest on rozsiany), nie jest możliwe wyodrębnienie w 100% grup zmienionych patologicznie jak i nie zmienionych patologicznie- w tym przypadku należy wszystkie próby traktować jako zmienione patologicznie. Dla 9 pacjentek pobrane zostały po dwie próbki, dla dwóch po jednej. Zgoda etyczna na badania została wydana przez *Komisję Bioetyczną przy Wydziale Lekarskim Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie* (Uchwała numer 27/2023 z dnia 19.10.2023 wraz ze zmianami- Uchwała 35/2023 z dnia 30.10.2023 oraz Uchwała 37/2024 z dnia 27.06.2024). Próbki te zostały w dniu operacji umieszczone w szklanych probówkach, zabezpieczone i przetransportowane do laboratorium Katedry Fizyki i Biofizyki UWM w Olsztynie celem przeprowadzenia analiz. W przypadku konieczności przeprowadzenia analiz dnia następnego, próbki zostały umieszczone w zamkniętym pojemniku i zamrożone w -24ºC. Próbki po przeprowadzeniu eksperymentu zostały przetransportowane do Miejskiego Szpitala Zespolonego w Olsztynie, na Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej i Położnictwa, celem utylizacji zgodnie z obowiązującymi przepisami.

   Metodyka eksperymentalna: Eksperymenty relaksometrii MRJ przy zmiennym polu magnetycznym jak i eksperymenty relaksometrii MRJ w jednym polu magnetycznym zostały przeprowadzone w laboratorium Katedry Fizyki i Biofizyki UWM w Olsztynie. W przypadku eksperymentów używających zmiennego pola magnetycznego, wykorzystano relaksometr MRJ (SMARtracer, Sterlar, Mede, Włochy) pozwalający na przeprowadzenie analizy w zmiennym polu magnetycznym w zakresie od 10kHz do 10 MHz (co odpowiada polu magnetycznemu od 0.2mT do 0.2T). Eksperymenty uzupełniono wykorzystując aparaturę SpinTrack (Resonance Systems GMBH,

Kirchheim unter Teck, Niemcy) pracującą w jednej, ściśle określonej częstości rezonansowej równej 18.7MHz (co odpowiada polu magnetycznemu 0.44T). Obie analizy zostały przeprowadzone w temperaturze 37ºC (±0.1ºC). Dla każdej z analizowanych prób 40 wartości szybkości relaksacji zostało zmierzone, a krzywe uzyskane jako wynik eksperymentów używających jednej częstości rezonansowej składały się z 32 punktów dla T_1 i 1002 punktów dla T_2.

3. Artykuł „*^{1}H NMR relaxation processes in lung tissues at low magnetic fields.*" opisujący wykorzystanie relaksometrii MRJ do określenia markerów zmian patologicznych dla nowotworów płuc.

   Materiał badawczy: Materiał do wyżej wymienionego artykułu stanowiło 19 próbek pobranych od 10 pacjentów (1 próbka od 1 pacjenta i 18 próbek od 9 pacjentów) poddanych rutynowej operacji resekcji nowotworu płuc w Oddziale Chirurgii Klatki Piersiowej Warmińsko-Mazurskiego Centrum Chorób Płuc w Olsztynie. Zgoda etyczna na badania została wydana przez *Komisję Bioetyczną przy Wydziale Lekarskim Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie* (Uchwała numer 27/2023 z dnia 19.10.2023 wraz ze zmianami- Uchwała 35/2023 z dnia 30.10.2023). Próbki te zostały w dniu operacji umieszczone w szklanych probówkach, zabezpieczone i przetransportowane do laboratorium Katedry Fizyki i Biofizyki UWM w Olsztynie celem przeprowadzenia analiz. W przypadku konieczności przeprowadzenia analiz dnia następnego, próbki zostały umieszczone w zamkniętym pojemniku i zamrożone w -24ºC. Po wykonaniu analiz, materiał został przekazany do Oddziału Chirurgii Klatki Piersiowej Warmińsko-Mazurskiego Centrum Chorób Płuc w Olsztynie celem utylizacji zgodnie z obowiązującymi przepisami.

   Metodyka eksperymentalna: W celu zapewnienia spójności analizy metodyka eksperymentalna zastosowana w niniejszej pracy była zgodna z metodyką opisaną w pracy P2.

7. WYNIKI

7.1 *Markers of low field NMR relaxation features of tissues*

Praca ta stanowiła pierwszy etap w opracowaniu metodologii analizy danych dotyczących tkanek nie zmienionych patologicznie oraz zmienionych patologicznie, a także w jej walidacji w odniesieniu do nowotworów jelita grubego.

W ramach wstępnych analiz skoncentrowano się na identyfikacji podstawowych różnic pomiędzy tkankami zmienionymi a niezmienionymi patologicznie, bez konieczności stosowania złożonych modeli matematycznych. W tym celu dane zostały przeskalowane tak aby uzyskać pokrycie punktów pomiarowych w zakresie wysokich częstotliwości. Po przeskalowaniu można zauważyć, że znaczące różnice występują w zakresie niskich częstości (**Fig.1(a-k).**).

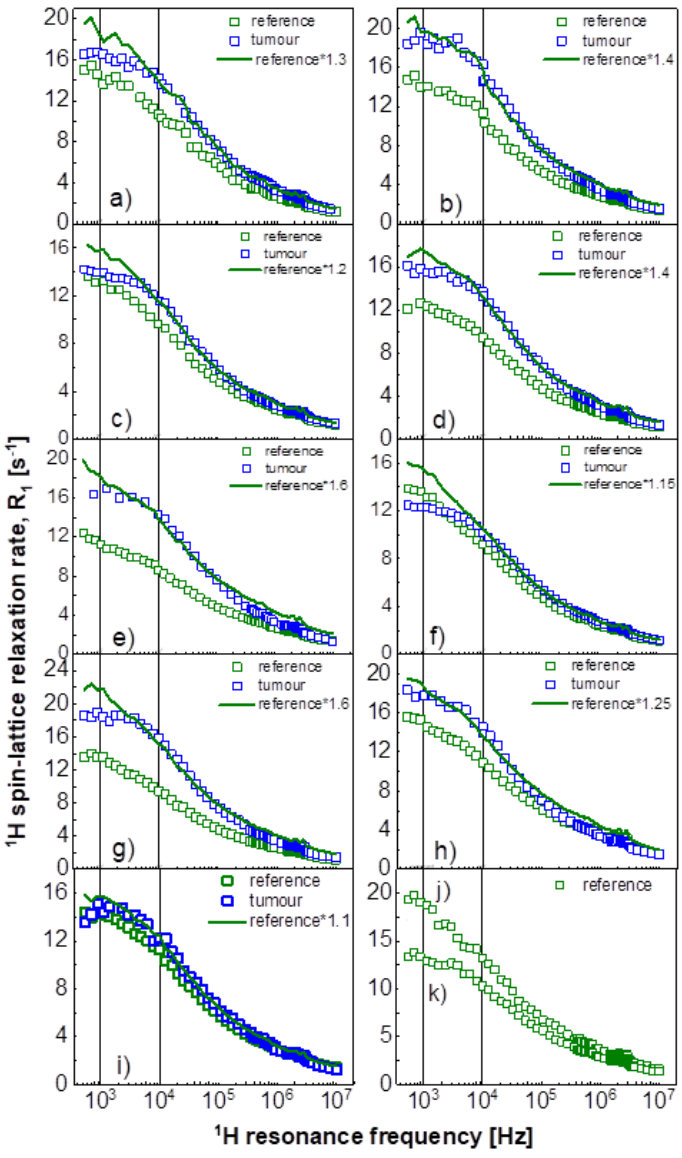


Fig.1(a-k). Współczynniki relaksacji spin-sieć (R_1) dla zmienionych patologicznie i referencyjnych tkanek jelita grubego. Linie ciągłe – przeskalowane współczynniki relaksacji dla próbek referencyjnych. Pionowe linie- zakres częstości wybrany do obliczenia parametru ξ.

Aby opisać te różnice w formie parametrów, następujące równanie zostało użyte:

$$\xi = \left|\frac{R_1(v_1)-R_1(v_2)}{R_1(v_2)}\right| * 100\% \quad (1)$$

Gdzie: $[v_1, v_2]$ zakres częstości wybrany do analizy (w tym przypadku $v_1 = 1kHz$ $v_2 = 10kHz$), $[R_1(v_1), R_1(v_2)]$ odpowiadające im wartości szybkości relaksacji.

Dla tkanek zmienionych patologicznie wartości parametru ξ były w zakresie od **14 do 23%**, a dla tkanek niezmienionych patologicznie zakres ten wynosił **od 28 do 42%**.

Kolejnym etapem analizy było wykonanie parametryzacji danych, w celu uzyskania informacji o skali czasu ruchu molekularnego w tkankach używając równania:

$$R_1(\omega) = C\left[\frac{\tau_c}{1+(\omega\tau_c)^2} + \frac{4\tau_c}{1+(2\omega\tau_c)^2}\right] \quad (2)$$

Gdzie: τ_c – czas korelacji bezpośrednio związany z ruchem molekuł budujących tkanki, C – parametr związany z amplitudą oddziaływań dipol-dipol.

Ze względu na przeprowadzenie eksperymentów w szerokim zakresie pól magnetycznych, równanie to można rozszerzyć o dwie kolejne składowe

$$R_1(\omega) = C_s\left[\frac{\tau_s}{1+(\omega\tau_s)^2} + \frac{4\tau_s}{1+(2\omega\tau_s)^2}\right] + C_i\left[\frac{\tau_i}{1+(\omega\tau_i)^2} + \frac{4\tau_i}{1+(2\omega\tau_i)^2}\right] + C_f\left[\frac{\tau_f}{1+(\omega\tau_f)^2} + \frac{4\tau_f}{1+(2\omega\tau_f)^2}\right] + A \quad (3)$$

Gdzie: *s*- wolny proces, *i*- proces pośredni, *f*- szybki proces, *A*- parametr związany z bardzo szybkim procesem.

Porównując parametry otrzymane dla tkanek zmienionych patologicznie i niezmienionych patologicznie, można stwierdzić że najbardziej istotne różnice otrzymujemy dla parametrów charakteryzujących wolną dynamikę molekularną – dla tkanki zmienionej patologicznie średni **parametr C_s jest większy pięciokrotnie**

w porównaniu do tkanki nie zmienionej patologicznie, a **parametr τ_s związany z wolnym ruchem molekularnym jest mniejszy czterokrotnie w porównaniu do tkanki nie zmienionej patologicznie.**

Następnym krokiem było porównanie krzywych uzyskanych z dopasowania równania 3 do danych. W tym celu z każdej krzywej została obliczona ich pochodna oraz dane zostały podzielone na dwie grupy (zmieniona patologicznie – nie zmieniona patologicznie) i wykreślone w postaci oś x- częstotliwość oś y- wartość pochodnej w danym punkcie częstotliwości (**Fig.2(a-b).**). Dla każdej z grup została również stworzona krzywa wzorcowa (suma wszystkich krzywych dla danego typu tkanki). Stosunek pomiędzy amplitudami dla krzywej wzorcowej dla tkanki zmienionej patologicznie a nie zmienionej patologicznie wyniósł **0.44**. Średnie położenie minimum krzywej wzorcowej dla tkanki zmienionej patologicznie jest równe **5.4kHz** a dla tkanki nie zmienionej patologicznie **1.8kHz** co daje różnicę **3.6kHz**.

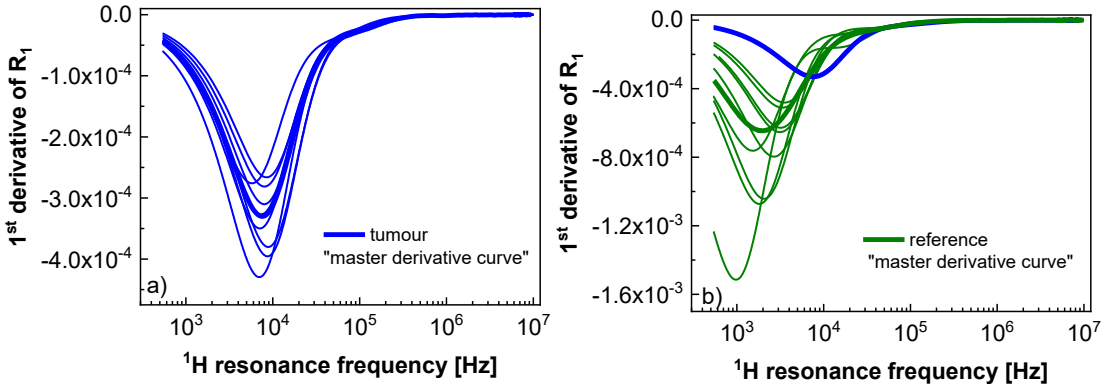


Fig.2(a-b). Pochodne szybkości relaksacji względem częstotliwości rezonansowej dla a) tkanek zmienionych patologicznie i b) tkanek referencyjnych. Przedstawiono krzywe pochodnych głównych (grubymi liniami), będące średnią pochodnych dla poszczególnych zestawów danych. Figura 2b zawiera krzywą pochodnej dla nowotworu z figury 2a, aby umożliwić bezpośrednie porównanie (niebieska linia).

Końcowym etapem analizy danych z wyżej wymienionej pracy było porównanie stosunku pomiędzy uzyskanymi wartościami szybkości relaksacji dla tkanki zmienionej patologicznie i nie zmienionej patologicznie. W każdym zanalizowanym przypadku można było stwierdzić maximum krzywej w **zakresie od 5kHz do 50kHz (Fig.3(a-i).)**.

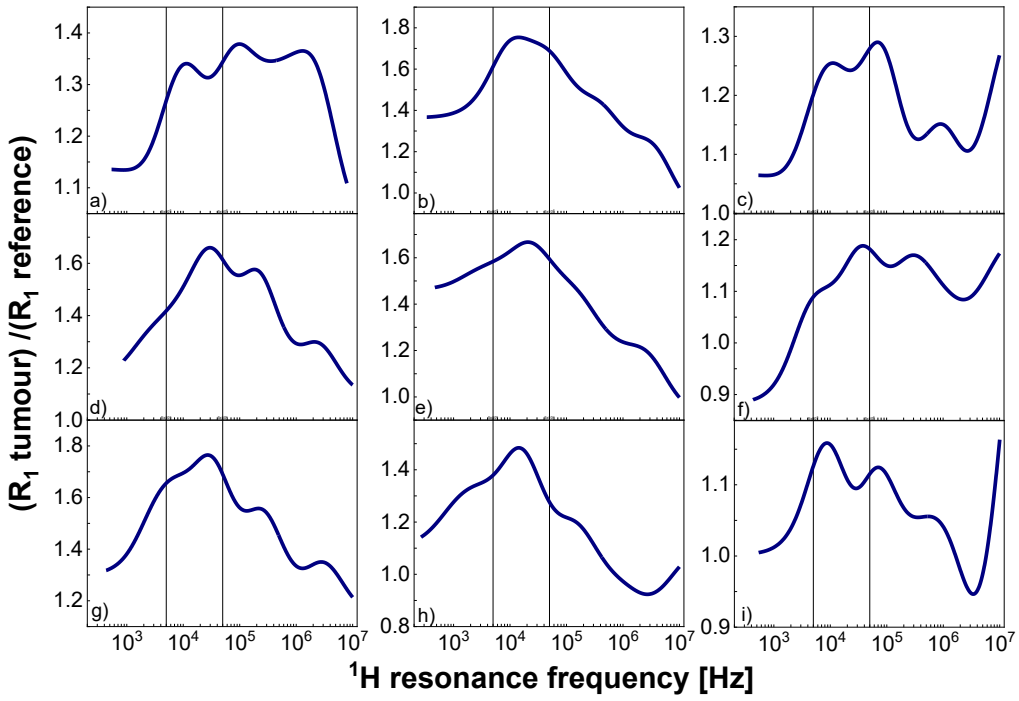


Fig.3(a-i). Stosunek między szybkościami relaksacji spin-sieć dla tkanek patologicznych i referencyjnych.

7.2. *Revealing and modelling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.*

Jak omówiono w podrozdziale 7.1, pierwszym etapem analizy danych była normalizacja względem szybkości relaksacji w wysokim polu magnetycznym, co umożliwiło wyraźniejsze uwidocznienie różnic w zakresie niskiego pola (**Fig. 4a–b**). Następnie, w celu ilościowego opisu tych różnic, zastosowano Równanie 1.

W przypadku tkanek endometrium wartości parametru ξ mieściły się w przedziale **od 42% do 62%**, przy średniej wartości wynoszącej **54%** i odchyleniu standardowym równym **5%.**

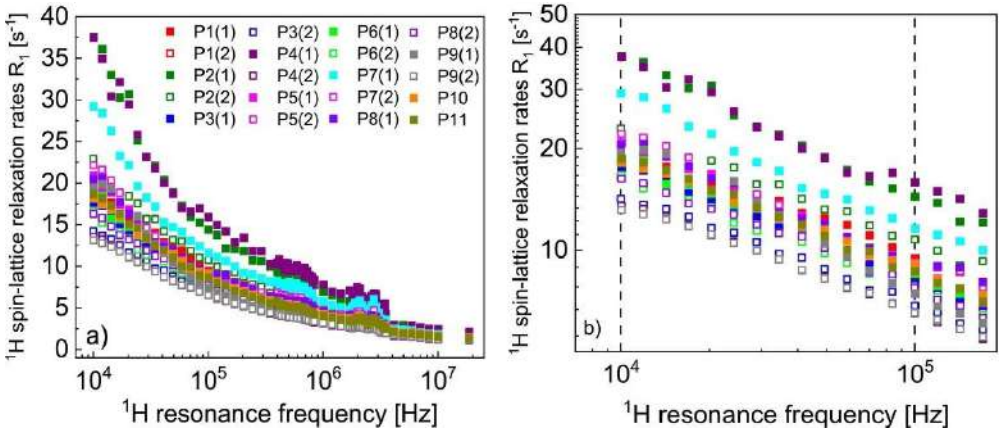


Fig.4(a-b). a) Dane relaksacji spin-sieć (R_1) przedstawione łącznie w celu ich porównania. b) Powiększone dane w zakresie niskich pól magnetycznych. Pionowe przerywane linie określają zakres częstości użytej do obliczenia parametru ξ.

W dalszej części analizy danych uzyskanych dla nowotworu endometrium wykorzystano model potęgowy, który pozwala opisać zależność szybkości relaksacji od częstości rezonansowej:

$$R_1(\omega) = C\omega^{-\alpha} \quad (4)$$

Gdzie α jest wykładnikiem potęgowym, a C jest czynnikiem fenomenologicznym. Dane wraz z dopasowaniem Równania 4 są przedstawione na **Fig. 5.**

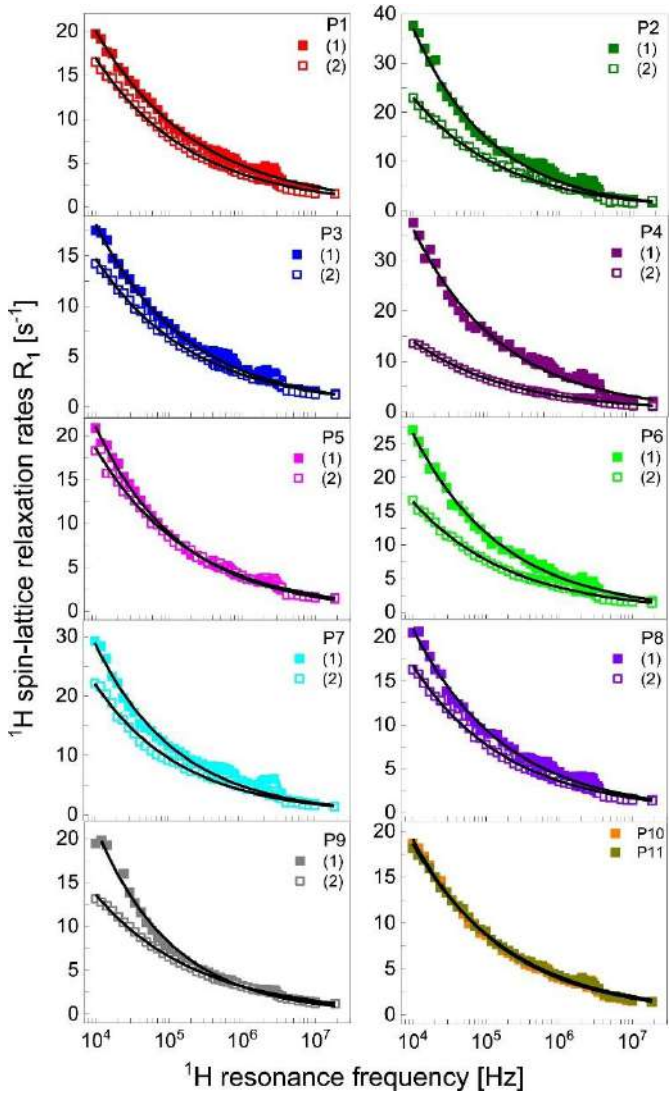


Fig. 5. Dane relaksacji spin-siec (R_1) dla tkanek raka endometrium u 11 pacjentek oznaczonych jako: P1,…,P11 (w przypadku pacjentek P1 – P9 pobrano dwie próbki, oznaczone jako (1) i (2)). Linie ciągłe – dopasowanie równania 4.

Dla tkanek endometrium wartość parametru α znajdowała się w zakresie **od 0.31 do 0.42** z wartością średnią **0.35±0.03** (SEM – Błąd Standardowy Średniej).

Analiza przebiegu krzywych opisujących ewolucję magnetyzacji w czasie wykazała, że w eksperymentach prowadzonych z wykorzystaniem techniki Fast-Field-Cycling, w których kluczową rolę odgrywa relaksacja podłużna (T_1), proces relaksacji charakteryzuje się mono-eksponencjalnym przebiegiem (**Fig. 6**). Analogicznie zachowanie zaobserwowano również w eksperymentach przeprowadzonych dla jednej częstości rezonansowej, w których czas T_1 wyznaczano przy częstości rezonansowej wynoszącej 18.7 MHz.

Odmienny charakter relaksacji stwierdzono natomiast w eksperymentach dotyczących relaksacji poprzecznej (T_2), w których proces ten wykazywał wyraźnie dwu-exponencjalny przebieg (**Fig. 7**). Taki przebieg wskazuje na obecność co najmniej dwóch populacji protonów różniących się dynamiką molekularną.

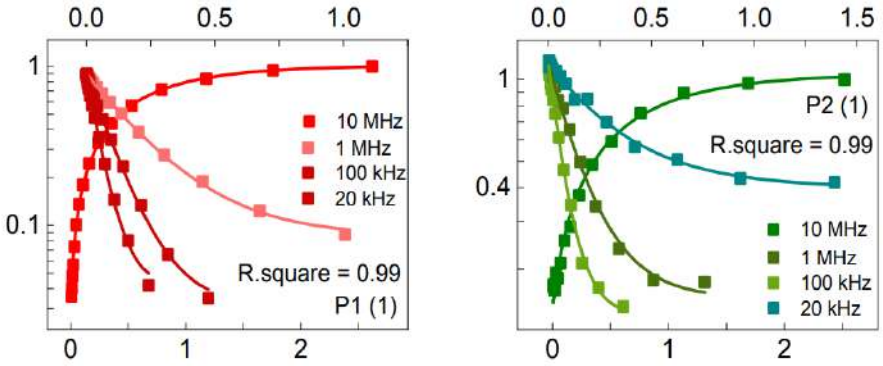


Fig. 6. Przykłady magnetyzacji (składowa podłużna) w funkcji czasu w eksperymentach spin-sieć (T_1) używając techniki FFC-NMR dla pacjentek oznaczonych jako P1 i P2. Linie ciągłe – dopasowanie funkcji mono-eksponencjalnej. Górna oś czasu odpowiada częstotliwościom 20 kHz, 100 kHz i 1 MHz, natomiast dolna – 10 MHz.

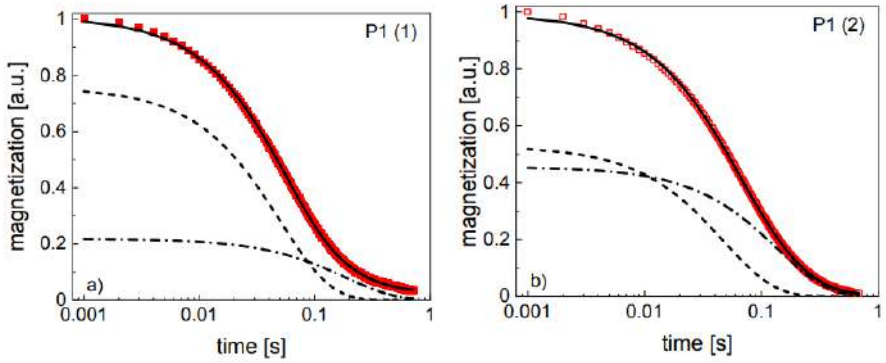


Fig. 7. Przykłady magnetyzacji (składowa poprzeczna) w funkcji czasu w eksperymentach relaksacji spin-spin (T_2). Linie ciągłe – dopasowania funkcji bi-eksponencjalnej, rozłożone na szybszą składową relaksacji (R_2^{fast}) – linie przerywane i wolniejszą składową relaksacji (R_2^{slow}) – linia przerywano-kropkowana.

Dwu-eksponencjalny charakter relaksacji poprzecznej umożliwił wyznaczenie dwóch współczynników relaksacji, związanych odpowiednio z procesem szybkim (R_2^{fast}) i wolnym (R_2^{slow}). Uzyskane średnie wartości wyniosły: R_2^{fast} = **20s⁻¹ ± 9s⁻¹** oraz R_2^{slow} = **7s⁻¹ ± 3s⁻¹** (SEM). Stosunek pomiędzy R_2^{fast} a R_2^{slow} mieścił się w zakresie

od 2 do 4 z jednym wyjątkiem, w którym wartość ta wyniosła 8 (wynikało to z wyjątkowo niskiej wartości R_2^{slow} równej **3s^{-1}**).

Kolejną istotną obserwacją związaną z dwu-eksponencjalnym charakterem opisywanego procesu było określenie stosunku amplitud odpowiadających poszczególnym składowym relaksacji poprzecznej (R_2). Choć wartości tego stosunku wykazywały znaczny rozrzut, warto podkreślić, że jedynie w przypadku pięciu zestawów danych amplituda komponentu szybkiego była wyższa od amplitudy komponentu wolnego.

7.3. *^{1}H NMR relaxation processes in lung tissues at low magnetic fields.*

W omawianej pracy zastosowano elementy metodyki opracowanej na potrzeby analizy danych nowotworowych, opisanej w publikacjach „Markers of Low-Field NMR Relaxation Features of Tissues" oraz „Revealing and Modelling NMR Relaxation Processes in Tissues: Endometrial Cancer Tissue as an Example", w celu jej walidacji w odniesieniu do nowotworów płuc.

Pierwszym etapem analizy było wykorzystanie Równania 1 w celu opisu różnic pomiędzy danymi uzyskanymi dla tkanek płuc zmienionych patologicznie oraz niezmienionych patologicznie. Dane zostały przeskalowane w taki sposób, aby zapewnić ich pełne pokrycie w zakresie wysokich pól magnetycznych, co umożliwiło bezpośrednie porównanie badanych próbek. Po wykonaniu tego etapu przeanalizowano zakres częstości rezonansowych od 10kHz do 100kHz, uzyskane wyniki przedstawiono na **Fig. 8(a-b)**.

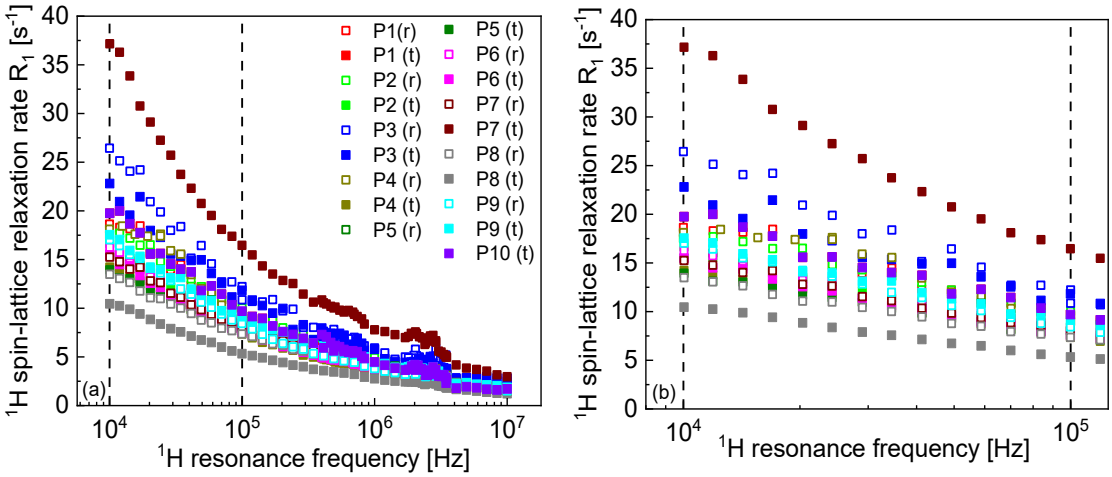


Fig. 8(a-b). (a) Porównanie szybkości relaksacji spin-sieć (R_1). Pionowe linie wyznaczają zakres częstotliwości od 10 kHz do 100 kHz. (b) Spadek szybkości relaksacji spin-sieć we wskazanym zakresie częstotliwości.

W analizowanym zakresie średnia wartość parametru ξ dla tkanki płucnej zmienionej patologicznie wyniosła **52% ± 3% (SEM),** natomiast dla tkanki niezmienionej patologicznie wartość ta wyniosła **49% ± 4% (SEM).**

Kolejnym etapem analizy danych dotyczących nowotworów płuc było zastosowanie Równania 4 w celu wyznaczenia parametru α, opisanego szczegółowo w podrozdziale 7.2. Przykładowe wyniki uzyskane dla czterech pacjentów przedstawiono na **Fig. 9 (a–d)**.

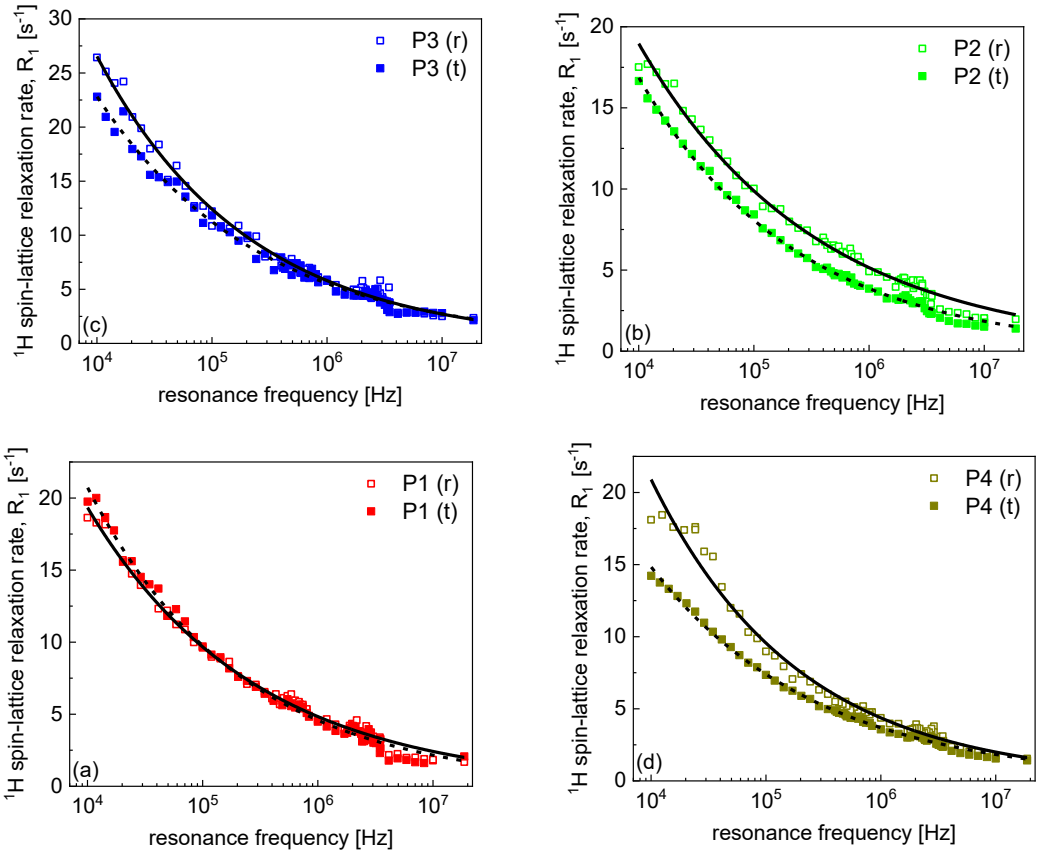


Fig. 9(a-b). Przykładowe dane relaksacji spin-sieć dla tkanek płuc. Linie ciągłe i przerywane — dopasowania uzyskane wykorzystując równanie 4, odpowiednio dla próbek zmienionych patologicznie (t) i nie zmienionych patologicznie (r) (wartości R-kwadrat dla dopasowań mieszczą się w przedziale od 0.993 do 0.997).

Oszacowana średnia wartość parametru α dla tkanek zmienionych patologicznie wyniosła **0.31±0.02 (SEM)**, dla tkanek nie zmienionych patologicznie wartość ta wyniosła **0.30±0.02 (SEM)**.

Następnym etapem analizy było zbadanie stosunku szybkości relaksacji pomiędzy tkankami referencyjnymi a patologicznymi w całym zakresie badanych częstotliwości. Wyniki uzyskane dla poszczególnych przypadków przedstawiono na **Fig. 10a**.

Szczegółowa analiza przebiegów przedstawionych na **Fig. 8a** wskazuje, że w większości przypadków szybkości relaksacji tkanek referencyjnych są wyższe niż odpowiadających im tkanek patologicznych. Odmienną zależność zaobserwowano jedynie w przypadku **P7** (gruczolakorak), gdzie relaksacja przebiega znacznie szybciej w tkance patologicznej, a w pewnym stopniu także w przypadku **P9** (pleomorficzny rak płuca), choć w tym ostatnim przypadku efekt ten jest mniej wyraźny.

Na **Fig. 10a** przedstawiono stosunek szybkości relaksacji pomiędzy tkankami referencyjnymi a patologicznymi dla wszystkich przypadków z wyjątkiem P7. Średni stosunek (**Fig. 10b**) pozostaje w przybliżeniu niezależny od częstotliwości, z wyjątkiem zakresu 2–4 MHz, w którym obserwuje się wpływ efektów wzmocnienia relaksacji kwadrupolowej (QRE), i wynosi **około 1.15**. Wartość tego współczynnika dla próbki **P7** jest natomiast istotnie odmienna od pozostałych przypadków (**Fig. 10b**).

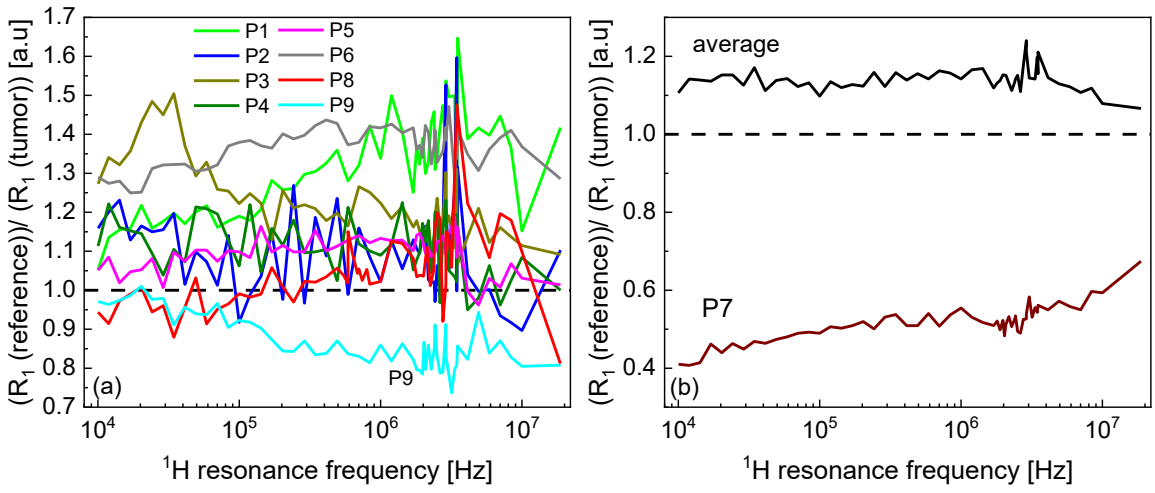


Fig. 10(a-b). (a) Stosunek między szybkościami relaksacji spin-sieć w dla tkanek referencyjnych i patologicznych dla P1–P6, P8 i P9. (b) Średnia wartość stosunków przedstawionych w (a) oraz stosunek dla P7.

Pomiary relaksacji podłużnej przy częstotliwości 18.7 MHz zostały uzupełnione o eksperymenty dotyczące relaksacji poprzecznej (T_2) przeprowadzone przy tej samej częstotliwości. We wszystkich przypadkach proces relaksacji poprzecznej wykazywał dwu-eksponencjalny charakter. Oznacza to, że ewolucję magnetyzacji w czasie można opisać jako sumę dwóch składowych relaksacyjnych: wolniejszej, charakteryzującej się współczynnikiem relaksacji $R_{2,slow}$ i amplitudą A_{slow}, oraz szybszej, opisywanej przez współczynnik $R_{2,fast}$ i amplitudę A_{fast}. Uzyskane wyniki dla 4 pacjentów przedstawiono na **Fig. 11(a-d)**.

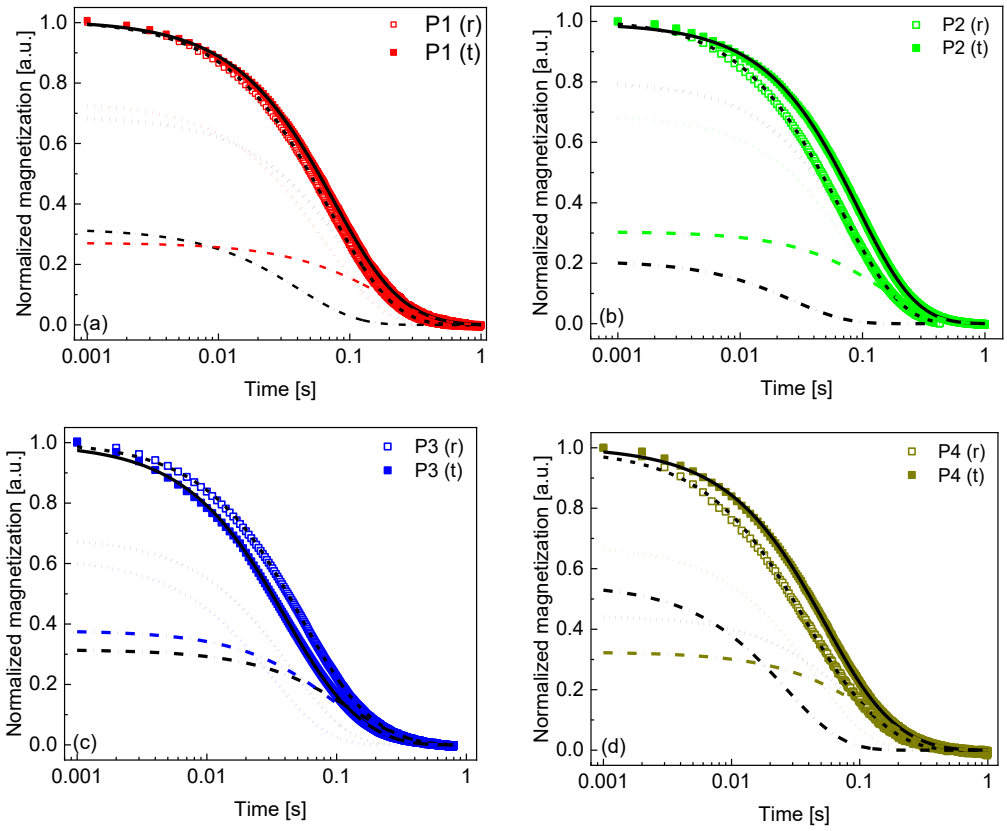


Fig. 11(a-d). Magnetyzacje w funkcji czasu w eksperymentach relaksacji spin-spin (T_2) przy częstotliwości 18,7 MHz dla tkanek płuc. Linie ciągłe — dopasowania dwuwykładnicze rozłożone na dwa składniki: $R_{2,slow}$ — czarne linie kropkowane dla tkanki referencyjnej i kolorowe linie kropkowane dla nowotworów, $R_{2,fast}$ — czarne linie przerywane kropkowane dla tkanki referencyjnej i kolorowe linie przerywane kropkowane dla nowotworów (wartości R-kwadrat dla dopasowań mieszczą się w przedziale od 0,998 do 0,999).

Uzyskane parametry $R_{2,slow}$ i $R_{2,fast}$ mieszczą się w zakresie- dla tkanek zmienionych patologicznie $R_{2,slow}$ **od 2s^{-1} do 10s^{-1}** z wartością średnią **6.3 ± 0.2 s^{-1}**

(SEM) $R_{2,fast}$ **od 8s^{-1} do 31s^{-1}** z wartością średnią **18.2 ± 0.7 s^{-1} (SEM)**, zaś dla tkanek nie zmienionych patologicznie $R_{2,slow}$ **od 4s^{-1} do 12s^{-1}** ze średnią **7.7 ± 0.3 s^{-1} (SEM)** $R_{2,fast}$ **od 12s^{-1} do 37s^{-1}** z wartością średnią **21.8 ± 0.9 s^{-1} (SEM).**

Stosunek pomiędzy szybkościami relaksacji $R_{2,fast}$ i $R_{2,slow}$ mieścił się w zakresie **od około 1.9 do 4.9**. Wolniejszą składową relaksacji poprzecznej ($R_{2,slow}$) można przypisać frakcji cząsteczek wody związanych z makrocząsteczkami, natomiast odpowiadający jej proces relaksacji podłużnej, mający charakter monoeksponencjalny, traktować jako jej odpowiednik. Stosunek $\frac{R_{2,slow}}{R_1}$ **zawierał się w przedziale 1.7–6.1**, co jest zgodne z warunkiem wynikającym z mechaniki kwantowej procesu relaksacji, mówiącym, że szybkości relaksacji poprzecznej nie mogą być mniejsze od odpowiadających im szybkości relaksacji podłużnej.

Współczynnik $r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}}$ przyjmował wartości **niższe od 1** (lub 100%, jeśli wyrażony w procentach), co oznacza, że amplituda szybszej składowej relaksacji poprzecznej była zawsze mniejsza niż amplituda składowej wolniejszej, choć sam stosunek wykazywał znaczną zmienność.

7.4. Dyskusja uzyskanych wyników.

Celem przedstawionych badań było zidentyfikowanie cech relaksacyjnych w niskich polach magnetycznych, które różnicują tkanki niezmienione patologicznie od tkanek zmienionych nowotworowo, oraz ocena użyteczności prostych, powtarzalnych wskaźników (ξ, α, oraz relacje amplitud i szybkości relaksacji) jako kandydatów na markery zmian patologicznych.

W pierwszym etapie (7.1) skupiono się na zestawie danych, który posłużył do zbudowania metodyki i podstaw walidacji. Kluczowym krokiem było przeskalowanie profili dyspersji tak, aby wyrównać wartości w zakresie wysokich pól i w ten sposób uwidocznić różnice w obszarze niskich częstotliwości. Zmianę szybkości relaksacji przy zmianie pola magnetycznego opisano parametrem zdefiniowanym w Równaniu 1, którego wartości dla tkanek zmienionych patologicznie wynosiły 14–23%, podczas gdy dla tkanek niezmienionych patologicznie 28–42%. Zatem badana wielkość wykazuje wyraźne rozdzielenie grup i wskazuje na szybszy spadek szybkości relaksacji w zakresie niskich pól dla tkanek jelita grubego zmienionych nowotworowo.

Wykonana następnie parametryzacja (Równania 2–3) poszerzyła analizę o informację o skalach czasu i amplitudach oddziaływań. Porównania wykazały, że **największe różnice pomiędzy grupami dotyczą komponentu wolnego**: czas korelacji dla wolnego procesu w tkankach zmienionych patologicznie jest około pięciokrotnie większy, a odpowiadająca mu amplituda — około czterokrotnie mniejsza niż w tkankach niezmienionych. Wskazuje to na spowolnienie najwolniejszych ruchów (oraz osłabienie efektywnego sprzężenia dipolowo-dipolowego dla tej skali czasowej) dla tkanek nowotworowych jelita grubego .

Trzeci element 7.1 — analiza pochodnych dopasowanych krzywych — dostarczył niezależnego, a przy tym czułego wskaźnika różnic. Amplituda krzywej wzorcowej (średniej pochodnej) dla tkanek zmienionych patologicznie stanowi ok. 44% amplitudy z grupy referencyjnej, a minima tych krzywych są przesunięte: ~5.39 kHz dla tkanek patologicznych wobec ~1.79 kHz dla referencyjnych. Ta analiza , pokazuje, że **parametryzacja w domenie pochodnych może stanowić prosty marker różnic**.

Końcowe porównanie stosunku szybkości relaksacji (tkanka patologiczna/ tkanka referencyjna) pokazało obecność lokalnego maksimum w przedziale 5–50 kH **wskazując na „okno częstotliwości" o podwyższonej mocy diagnostycznej**.

W drugim etapie (7.2) metodykę zastosowano do tkanek endometrium. Wstępna normalizacja względem szybkości relaksacji w wysokim polu ułatwiła odsłonięcie subtelnych różnic w niskich polach. Wartości parametru ξ mieściły się w przedziale 42–62% (średnio ~55% ± 5% SEM), co potwierdza, że **spadek szybkości relaksacji w zakresie niskich częstotliwości jest w tej tkance znaczny**. Zastosowanie modelu potęgowego (Równanie 4) dało dodatkowy opis: uzyskany wykładnik mieścił się w granicach ~0.31–0.42 (średnio 0.35 ± 0.03 SEM), co ilościowo opisuje nachylenie krzywych dyspersji relaksacyjnych.

Istotną obserwacją z 7.2 jest **rozdzielenie charakterów relaksacji**: T_1 **pozostaje jedno-eksponencjalna** (zarówno w FFC, jak i w pojedynczej częstotliwości 18,7 MHz), podczas gdy T_2 **jest konsekwentnie dwu-eksponencjalne**. Pozwoliło to wyznaczyć pary współczynników $R_{2,slow}$ i R_{fast} (średnio ~20 ± 9s^{-1} oraz 7.04 ± 3s^{-1}, odpowiednio), których stosunek w większości przypadków mieści się w

zakresie 2–4 (z pojedynczym wyjątkiem wynikającym z bardzo niskiej wartości składowej wolnej). Dodatkowo, dominacja amplitudowa komponentu wolnego ($r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}} < 1$ w niemal wszystkich zestawach) sugeruje, **że to wolniejsze procesy poprzecznej relaksacji mają przeważający udział w wygaszaniu magnetyzacji dla tej tkanki.**

Trzeci etap (7.3) przenosi metodykę do analizy tkanek płuc i umożliwia bezpośrednie porównania par referencyjna–patologiczna. Analiza stosunku szybkości relaksacji (referencyjna/patologiczna) w funkcji częstotliwości ujawniła, że **dla większości przypadków wartości są >1, co wskazuje na szybszą relaksację w tkankach referencyjnych**. Wśród wyjątków szczególne znaczenie ma przypadek **P7** (gruczolakorak), w którym relaksacja w tkance patologicznej jest wyraźnie szybsza; podobną, lecz słabszą tendencję odnotowano dla **P9** (pleomorficzny rak płuca). Średni stosunek wynosi około 1.15 i jest w przybliżeniu niezależny od częstotliwości, z wyjątkiem pasma 2–4 MHz, gdzie zaznaczają się efekty wzmocnienia relaksacji kwadrupolowej (QRE).

Pomiary T_2 przy 18.7 MHz dla płuc **również wykazały dwueksponencjalny charakter wygaszania magnetyzacji**. Zakresy wartości $R_{2,slow}$ i $R_{2,fast}$ dla tkanek patologicznych i referencyjnych częściowo się pokrywają, natomiast stosunek $\frac{R_{2,fast}}{R_{2,slow}}$ przyjmuje wartości 1.9–4.9. Co istotne, stosunek $\frac{R_{2,slow}}{R_1}$ zawiera się w przedziale 1.7–6.1, spełniając teoretyczne ograniczenie, że poprzeczne szybkości relaksacji nie mogą być mniejsze od podłużnych. Składowa procesu relaksacji spin-spin związana z krótszym czasem relaksacji ma niższą amplitudę (r<1).

Zestawiając wyniki 7.1–7.3, wyłania się kilka motywów przewodnich. Po pierwsze, **największa różnica własności relaksacyjnych między krótszym czasem pojawia się w zakresie niskich częstotliwości** — prosty zabieg polegający na przeskalowaniu części profili, tak aby uzyskać pokrycie w zakresie wysokich częstości, sprawia, że porównania stają się relewantne właśnie w tym zakresie. Po drugie, T_1 **wykazuje zachowanie jednoeksponencjalne** (wskazujące na dominację jednego kanału relaksacyjnego), podczas gdy relaksacja spin-spin **jest dwueksponencjalna**, co świadczy o obecności co najmniej dwóch populacji molekuł, których dynamika odbywa się w różnych skalach czasowych. Po trzecie, **parametry ξ, α, analiza**

pochodnych (pozycja minimum i amplituda) oraz krzywe stosunku szybkości relaksacji oferują komplementarne spojrzenia na te same różnice — każde z nich pojedynczo ma znaczenie ograniczone, **lecz w zestawie dają spójny obraz zmian właściwości dynamicznych i strukturalnych tkanek**.

Z perspektywy potencjalnej użyteczności diagnostycznej kluczowe są następujące obserwacje: **(i)** w 7.1 proste dopasowanie z Równania 1 oraz charakterystyki „wolnego" procesu z modelu wieloskładnikowego **pozwalają na rozdzielenie grup nowotworów jelita grubego**; **(ii)** w 7.2 dla endometrium parametr ξ i wykładnik modelu potęgowego, w powiązaniu z dwu-eksponencjalnością T_2 i relacją amplitud, **dają spójną charakterystykę jakościową**; (iii) w 7.3 dla płuc, mimo większej heterogeniczności, **uzyskano powtarzalny przeciętnie stosunek** ~1,15 (referencyjna/patologiczna) i **określono różnice w stosunku szybkości relaksacji pomiędzy tkanką nie zmienioną patologicznie a zmienioną patologicznie** w zakresie 10–100 kHz oraz 2–4 MHz z udziałem QRE.

Jednocześnie niektóre wyniki wymagają ostrożnej interpretacji. Wyjątek P7 dla nowotworów płuc pokazuje, że **lokalna mikrostruktura i typ histologiczny mogą odwracać przewidywaną relację referencyjna–patologiczna**; jest to istotne ostrzeżenie przed nadmiernym uogólnianiem. Ponadto, **szacunki parametrów w modelach wieloskładnikowych mogą wykazywać współzmienność (trade-off) między amplitudami a czasami korelacji**, co wymaga rygorystycznej kontroli procedur dopasowania i oceny niepewności. Wreszcie, parametry skalarne (ξ,α) są wrażliwe na wybór zakresu częstotliwości i algorytm normalizacji — **konieczna jest ich standaryzacja**, jeżeli mają być stosowane porównawczo między różnymi typami nowotworów.

Podsumowując, **zastosowana sekwencja analiz — od ujednolicenia profili w wysokim polu, przez parametryzację wieloskładnikową i analizę pochodnych, po skalarne wskaźniki ξ i α oraz same krzywe dyspersji relaksacyjnej — tworzą spójny zestaw narzędzi do opisu i różnicowania tkanek.** Wyniki z 7.1 (jelito grube) ustanawiają podstawy metodyczne i wskazują na czułość wskaźników na wolne składowe dynamiki molekularnej tkanek nowotworowych; 7.2 (endometrium) pokazuje powtarzalną relacje T_1/T_2 i przydatność parametrów ξ oraz wykładnika potęgowego w rozróżnieniu tkanek zmienionych patologicznie od referencyjnych; 7.3 (płuco) demonstruje możliwość zastosowania metodyki w parach referencyjna–patologiczna i identyfikuje częstotliwościowo-zależne wskaźniki różnic.

8. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Przeprowadzone badania miały na celu szczegółową analizę procesów relaksacyjnych Magnetycznego Rezonansu Jądrowego (MRJ) w tkankach nowotworowych oraz ocenę możliwości wykorzystania parametrów relaksacyjnych jako potencjalnych bio-markerów zmian patologicznych. Analiza obejmowała **trzy zasadnicze etapy**: opracowanie i zastosowanie metodyki na próbkach jelita grubego, rozszerzenie badań na tkanki endometrium oraz walidację opracowanego podejścia w odniesieniu do nowotworów płuc. Tak zaplanowana sekwencja eksperymentów **pozwoliła zidentyfikować uniwersalne cechy relaksacyjne charakterystyczne dla tkanek**

W pierwszym etapie wykazano**, że największa wartość diagnostyczna analizy relaksacyjnej ujawnia się w zakresie niskich częstotliwości**. Przeskalowanie profili dyspersji pozwoliło uwidocznić istotne różnice między tkankami referencyjnymi i patologicznymi, które w nieprzeskalowanej formie pozostawały niewidoczne. Analiza wieloskładnikowa ujawniła, że **w próbkach nowotworowych procesy relaksacyjne charakteryzują się dłuższymi czasami korelacji oraz mniejszymi amplitudami sygnału**. Wyniki te wskazują na znaczące spowolnienie najwolniejszych ruchów molekularnych oraz zmianę lokalnego mikrośrodowiska protonów w tkankach objętych procesem nowotworowym. Dodatkowo analiza pochodnych dopasowanych krzywych **ujawniła istotne różnice w amplitudach i położeniu minimów**, co sugeruje istnienie odmiennych mechanizmów relaksacyjnych w próbkach patologicznych i referencyjnych.

W drugim etapie badań, obejmującym tkanki endometrium, wykazano, że proces relaksacji podłużnej T_1 **ma charakter jedno-eksponencjalny**, natomiast relaksacja poprzeczna T_2 – **dwu-eksponencjalny**. Wynik ten wskazuje na obecność co najmniej **dwóch frakcji protonów różniących się środowiskiem molekularnym oraz dynamiką ruchu**. Uzyskane wartości parametrów ξ i α dostarczyły ilościowych informacji o dynamice molekularnej i **potwierdziły ich potencjalną przydatność w różnicowaniu tkanek zdrowych i nowotworowych**. Szczególnie istotna okazała się analiza współczynników $R_{2,fast}$ i $R_{2,slow}$, których wartości oraz stosunki odzwierciedlają udział szybkich i wolnych komponentów relaksacyjnych. Stosunek

amplitud obu procesów wykazał znaczną zmienność, jednak w większości przypadków **amplituda wolnej składowej była większa,**

W trzecim etapie badań, obejmującym próbki tkanek płuc, uzyskano wyniki potwierdzające możliwość zastosowania opracowanej metodyki w różnicowaniu tkanek o odmiennym stanie patologicznym. Choć różnice wartości parametrów ξ i α pomiędzy tkankami referencyjnymi a patologicznymi były stosunkowo niewielkie, mają potencjalną wartość diagnostyczną. Analiza stosunku szybkości relaksacji w szerokim zakresie częstotliwości **ujawniła wyraźne różnice między badanymi grupami**, z pojedynczymi wyjątkami, które mogą wynikać z różnic w typie histologicznym nowotworu lub lokalnej mikrostrukturze tkanki. Obserwacje te wskazują, że **procesy relaksacyjne są wrażliwe na zmiany strukturalne zachodzące w tkankach nowotworowych, a ich charakter może być różny w zależności od rodzaju i stopnia zaawansowania choroby.**

Podsumowując, wyniki badań potwierdzają, że analiza relaksacji MRJ stanowi cenne narzędzie do charakteryzowania dynamiki molekularnej w tkankach biologicznych. Parametry takie jak T_1, T_2, ξ, α, $R_{2,fast}$, $R_{2,slow}$ oraz relacje ich amplitud mają potencjał **w różnicowaniu tkanek zdrowych i zmienionych patologicznie**, a także do uzyskania dodatkowych informacji o mikrostrukturze i właściwościach fizykochemicznych badanych próbek.

Jednocześnie uzyskane wyniki wskazują na **konieczność dalszych badań**, w szczególności zwiększenia liczby analizowanych próbek oraz rozszerzenia zakresu analiz o metody komplementarne, co pozwoliłoby na bardziej precyzyjną interpretację obserwowanych zjawisk i lepsze zrozumienie ich znaczenia biologicznego.

Wnioski:

1. Analiza procesów relaksacyjnych MRJ w niskich polach magnetycznych wskazuje na potencjalną możliwość wykorzystania w różnicowaniu tkanek nie zmienionych patologicznie i zmienionych patologicznie.
2. Największa czułość metody obserwowana jest w zakresie niskich częstotliwości, gdzie uwidaczniają się subtelne różnice w dynamice molekularnej
3. Proces relaksacji podłużnej T_1 ma charakter jedno-eksponencjalny, natomiast struktury tkanek
4. Parametry ξ i α dostarczają istotnych informacji o zależności szybkości relaksacji od częstotliwości i mogą być wykorzystywane jako wskaźniki zmian patologicznych.
5. Stosunek szybkości relaksacji pomiędzy tkankami referencyjnymi i patologicznymi stanowi czuły parametr diagnostyczny, wykazując charakterystyczne wartości różnicujące badane próbki.
6. Obecność dwóch składowych relaksacji poprzecznej ($R_{2,fast}$ i $R_{2,slow}$) odzwierciedla obecność co najmniej dwóch populacji molekuł różniących się dynamiką.
7. Analiza amplitud składowych relaksacyjnych może dostarczyć dodatkowych informacji o proporcjach frakcji molekularnych w badanych tkankach.
8. Wyniki uzyskane dla tkanek jelita grubego, endometrium i płuc potwierdzają szerokie możliwości zastosowanej metodyki i jej potencjał diagnostyczny.
9. Niektóre obserwacje, takie jak odwrócenie relacji tkanka referencyjna–tkanka zmieniona patologicznie w pojedynczych przypadkach, wskazują na potrzebę dalszej weryfikacji metod i rozszerzenia badań na większe grupy prób.
10. Analiza relaksacji MRJ może stanowić cenne uzupełnienie klasycznych metod histopatologicznych i obrazowych w diagnostyce nowotworów.

9. SPIS LITERATURY

Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 74(3), 229–263. https://doi.org/10.3322/caac.21834

Brown, M. A., & Semelka, R. C. (2011). MRI: Basic principles and applications (4th ed.). Wiley-Blackwell.

Edelstein, W. A., Glover, G. H., Hardy, C. J., & Redington, R. W. (1986). The intrinsic signal-to-noise ratio in NMR imaging. Magnetic Resonance in Medicine, 3(4), 604–618. https://doi.org/10.1002/mrm.1910030413

Hennig, J., Weigel, M., Scheffler, K., & Heiland, S. (2023). MR imaging at low field: The current status and a view into the future. European Radiology Experimental, 7(1), 10. https://doi.org/10.1186/s41747-021-00216-2

Hoult, D. I., & Lauterbur, P. C. (1979). The sensitivity of the zeugmatographic experiment involving human samples. Journal of Magnetic Resonance, 34(2), 425–433. https://doi.org/10.1016/0022-2364(79)90019-2

Lauterbur, P. C. (1973). Image formation by induced local interactions: Examples employing nuclear magnetic resonance. Nature, 242(5394), 190–191. https://doi.org/10.1038/242190a0

Mansfield, P. (1977). Multi-planar image formation using NMR spin echoes. Journal of Physics C: Solid State Physics, 10(3), L55–L58. https://doi.org/10.1088/0022-3719/10/3/004

Campbell-Washburn, A. E., Ramasawmy, R., Restivo, M. C., Bhattacharya, I., Basar, B., Herzka, D. A., Hansen, M. S., & Balaban, R. S. (2019). Opportunities in interventional and diagnostic imaging by using high-performance low-field-strength MRI. Radiology, 293(2), 384–393. https://doi.org/10.1148/radiol.2019190452

Hori, M. (2021). Low-field magnetic resonance imaging: Its history and current applications. Investigative Radiology, 56(11), 725–733. https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000815

Arnold, T. C. (2022). Low-field MRI: Clinical promise and challenges. European Radiology Experimental, 6(1), 61. https://doi.org/10.1002/jmri.28408

Deoni, S. C. L., Matthews, L., Kolind, S. H., Rutt, B. K., & Peters, T. (2022). Development of a mobile low-field MRI scanner. Scientific Reports, 12(1), 5972. https://doi.org/10.1038/s41598-022-09760-2

Bloembergen, N., Purcell, E. M., & Pound, R. V. (1948). Relaxation effects in nuclear magnetic resonance absorption. Physical Review, 73(7), 679–712. https://doi.org/10.1103/PhysRev.73.679

Koenig, S. H., Brown, R. D., Spiller, M., & Lundbom, N. (1990). Relaxometry of brain: Why white matter appears bright in MRI. Magnetic Resonance in Medicine, 14(3), 482–495. https://doi.org/10.1002/mrm.1910140306

Kimmich, R., & Anoardo, E. (2004). Field-cycling NMR relaxometry. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, *44*(3–4), 257–320. https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2004.03.002

Koenig, S. H., & Brown, R. D. (1990). Field-cycling relaxometry of protein solutions and tissue: Implications for MRI. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 22(6), 417 https://doi.org/10.1016/0079-6565(90)80008-6

Mattos, C. (2002). Protein–water interactions in a dynamic world. Trends in Biochemical Sciences, 27(4), 203–208. https://doi.org/10.1016/S0968-0004(02)02067-4

Parigi, G., Ravera, E., et al. (2021). Unveiling protein dynamics in solution with field-cycling NMR relaxometry. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2021.05.001

Masiewicz, E., Ullah, F., Mieloch, A., Godlewski, J., & Kruk, D. (2024). Dynamical properties of solid and hydrated collagen: Insight from nuclear magnetic resonance relaxometry. The Journal of Chemical Physics, 160(16), 165101. https://doi.org/10.1063/5.0191409

Di Gregorio, E., Ferrauto, G., Lanzardo, S., Gianolio, E., & Aime, S. (2019). Use of FCC-NMRD relaxometry for early detection and characterization of ex-vivo murine breast cancer. Scientific Reports, 9, 4624. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41154-9

Petit, M., Leclercq, M., Pierre, S., Ruggiero, M. R., El Atifi, M., Boutonnat, J., Fries, P. H., Berger, F., & Lahrech, H. (2022). Fast-field-cycling NMR at very low magnetic fields: Water molecular dynamic biomarkers of glioma cell invasion and migration. NMR in Biomedicine, 35(6), e4677. https://doi.org/10.1002/nbm.46

Ruggiero, M. R., Ait Itto, H., Baroni, S., Pierre, S., Boutonnat, J., Broche, L. M., Aime, S., Berger, F., Geninatti Crich, S., & Lahrech, H. (2022). Role of transmembrane water exchange in glioma invasion/migration: In vivo preclinical study by relaxometry at very low magnetic field. Cancers, 14(17), 4180. https://doi.org/10.3390/cancers1417418077

Bitonto, V., Ruggiero, M. R., Pittaro, A., Castellano, I., Bussone, R., Broche, L. M., Lurie, D. J., Aime, S., Baroni, S., & Geninatti Crich, S. (2021). Low-field NMR relaxometry for intraoperative

tumour margin assessment in breast-conserving surgery. Cancers, 13(16), 4141. https://doi.org/10.3390/cancers13164141

Broche, L., Ross, J., Kennedy, B., MacEachern, C., Lurie, D., & Ashcroft, G. P. (2021). A new method for investigating osteoarthritis using fast field cycling nuclear magnetic resonance. Physica Medica, 88, 142–147. https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2021.05.034

Baroni, S., Ruggiero, M. R., Bitonto, V., Broche, L. M., Lurie, D. J., Aime, S., & Geninatti Crich, S. (2020). In vivo assessment of tumour associated macrophages in murine melanoma obtained by low-field relaxometry in the presence of iron oxide particles. Biomaterials, 236, 119805. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119805

Broche, L. M., Ross, P. J., Davies, G. R., MacLeod, M.-J., & Lurie, D. J. (2019). A whole-body fast field-cycling scanner for clinical molecular imaging studies. Scientific Reports, 9, 10402. https://doi.org/10.1038/s41598-019-46648-0

Masiewicz, E., Ashcroft, G., Boddie, D., Dundas, S. R., Kruk, D., & Broche, L. (2020). Towards applying NMR relaxometry as a diagnostic tool for bone and soft tissue sarcomas: A pilot study. Scientific Reports, 10, 14207. https://doi.org/10.1038/s41598-020-71067-x

10.KOPIE OPUBLIKOWANYCH PRAC WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU

scientific reports

Check for updates

OPEN

Markers of low field NMR relaxation features of tissues

Karol Kołodziejski[1], Elzbieta Masiewicz[1], Amnah Alamri[2,4], Vasileios Zampetoulas[2], Leslie Samuel[2,3], Graeme Murray[2], David J. Lurie[2], Lionel M. Broche[2]✉ & Danuta Kruk[1]

This work presents an approach to exploiting Nuclear Magnetic Resonance (NMR) relaxometry data (^{1}H spin-lattice relaxation rates covering the frequency range from below 1 kHz to 10 MHz) for the purpose of differentiating between pathological and reference tissues. Characteristic quantities (markers) that can be obtained in a straightforward manner, not resorting to an advanced analysis of ^{1}H spin-lattice relaxation data, have been identified and compared for pathological and reference colon tissues. Moreover, the relaxation data have been parametrised in terms of Lorentzian spectral densities and the possibility of using the obtained dipolar relaxation constants and correlation times as biomarkers to assess the state of tissues has been discussed. It has also been demonstrated that the relaxation data for the reference and the pathological tissues can be attributed to two groups (for each case). The studies are a step towards exploiting the potential of NMR relaxometry for characterisation of pathological changes in tissues.

Worldwide, colorectal cancer (CRC) ranks as the third most common kind of cancer and the third-leading cause of cancer-related death, with nearly one million annual fatalities[1,2]. The incidence and mortality rates of colorectal cancer increased significantly from 1990 to 2019, with incident cases and deaths more than doubling[3]. Early detection of CRC, risk stratification, prevention, and treatment principles are profoundly impacted by the biological complexity of CRC, which necessitates a multidimensional comprehension and development of personalised care and early detection biomarkers[4]. In human cells, the transition from a normal to a malignant state is the result of intricate interactions between genetic, environmental factors and cellular dynamics. Research has shown that changes in the dynamical activity of intracellular water play a role in differentiating the cellular state between healthy and cancer cells. This understanding offers crucial insights into the changes in dynamics underlying carcinogenesis and tumour metastasis[5,6]. Moreover, the water permeability of CRC cell membranes differs from that of healthy cells, possibly due to mutations in aquaporin channels. This alteration affects the uptake of nutrients and the resistance to drugs. Aquaporins (AQPs) are a group of transmembrane water channel proteins and are vital in maintaining water homeostasis[7]. The aforementioned biomarkers were investigated previously in several pathological conditions using field cycling nuclear magnetic resonance (FC-NMR) and show promising potential in the assessment of tissue remodelling non-invasively and without using contrast media[8–11].

The Nuclear Magnetic Resonance (NMR) phenomenon is the foundation of Magnetic Resonance Imaging (MRI) that revolutionised medical diagnostics. The essence of MRI lies in differences between parameters referred to as relaxation times (spin-lattice and spin-spin relaxation times, T_1 and T_2, respectively – their reciprocal values are referred to as relaxation rates: $R_1 = 1/T_1$ and $R_2 = 1/T_2$). MRI is usually performed at high magnetic fields to maintain high spatial resolution. This undeniably critical factor in medical diagnostics implies that the observed differences in the relaxation rates between healthy and pathological tissues are mainly associated with changes in the dynamical properties of water molecules in tissues. This is related to the fundamentals of NMR relaxation – the dominating relaxation contribution is associated with dynamical processes occurring on a timescale matching the reciprocal resonance frequency (that is proportional to the magnetic field)[11–14]. Consequently, at high magnetic fields (the magnetic field of 1T corresponds to ^{1}H resonance frequency of about 42 MHz) the relaxation rates are dominated by contributions associated with fast dynamics of small molecules. In this context, it is natural to wonder whether relaxation studies at lower magnetic fields could reveal pathological changes in tissues that cannot be detected at high magnetic fields.

Fast Field Cycling technology enables relaxation experiments to be performed over a very broad range of resonance frequencies (magnetic fields), from below 1 kHz to tens of MHz (referring to ^{1}H resonance frequency).

[1]Department of Physics and Biophysics, University of Warmia & Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 4, 10-719 Olsztyn, Poland. [2]School of Medicine, Medical Sciences and Nutrition, Biomedical Physics, University of Aberdeen, Foresterhill, Aberdeen AB25 2ZD, UK. [3]Department of Oncology, Aberdeen Royal Infirmary, Aberdeen, UK. [4]Department of Radiologic Sciences, Faculty of Applied Medical Sciences, King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia. ✉email: l.broche@abdn.ac.uk

Consequently, these kinds of studies, referred to as NMR relaxometry, possess the unique potential to probe dynamical processes occurring on the time scale from milliseconds to nanoseconds in a single experiment. On top of that, the shape of the frequency dependencies of spin-lattice relaxation rates (referred to as NMR dispersion curves) reflect the mechanism of the motion – in this way one can not only distinguish between translational and rotational dynamics[15–20], but also reveal anisotropy of the motion[21–24]. Moreover, at lower frequencies (around 1 MHz) one can detect specific relaxation features, referred to as Quadrupole Relaxation Enhancement (QRE)[25,26] associated with the presence of nuclei possessing quadrupole moments – for organic molecules typically ^{14}N. The QRE effects manifest themselves as frequency-specific relaxation maxima that appear only in the case of slow molecular motion[25–27], an example of which is immobilised proteins in tissues[26–31].

These unique advantages of NMR relaxometry have been exploited to reveal dynamical properties of molecular and ionic systems of various complexity, from "simple" liquids[32–34] via macromolecules, such as proteins[22,24,27,31,35–42] or polymers[43,44] to tissues[8,10,11,45–53]. As far as tissues are concerned, one should turn attention to the studies of relaxation effects in osteoarthritic articular cartilage[45–47], breast tissues[48–50], muscle tissues (sarcoma)[8] and glioma[11,51]. One should also note the insight provided by NMR relaxometry into water dynamics in intracellular and extracellular matrices[10,48,52,53]. Although NMR relaxometry studies of tissues are very limited, the potential of this approach has led to the construction of a prototype of an MRI scanner that uses magnetic field cycling to operate at different magnetic fields[9].

In this work, we continue the promising studies aiming at introducing a set of parameters that can be straightforwardly obtained from ^{1}H spin-lattice relaxometry data for tissues, not requiring an advanced analysis. Although a quantitative analysis of NMR relaxometry data for tissues, based on specific models of motion, can be a rich source of information about the dynamics of different molecular fractions in tissues, in this paper we do not go in that direction. Our goal is to reveal relaxation features (biomarkers) that can directly be compared for healthy (reference) and pathological tissues for the purpose of assessing the state of the tissue. The indicated biomarkers are compared for colon tissues. To avoid any misunderstanding, at present the results of this work are far from serving diagnostic purposes; nevertheless, they are a step in this direction. In the first part of the work, we focus on relaxation markers that do not require any data processing and can be considered separately – i.e. without a comparison with counterpart data for a reference or for a pathological tissue. Next, we reproduce the data in terms of fundamental (and the simplest) relaxation expressions. These serve two purposes: the first is to use the theoretical curves to determine other "simple" markers not affected by scatter of the experimental data; the second purpose is to compare the quantities obtained from the parametrisation of the data, as they also may be used (to some extent) to distinguish between reference and pathological tissues. Finally, the relaxation data for the reference and the pathological tissues have been grouped with respect to the shape of the frequency dependencies of the relaxation rates (not their arbitrary values). As already pointed out, this approach is intended to be a step toward revealing changes in the molecular dynamics and arrangement caused by pathological changes in tissue with the aim of turning attention to the diagnostic potential of NMR relaxometry.

Results

Comparison of slopes

As already pointed out, the purpose of relaxation markers is to quickly assess the state of tissues without requiring a full, quantitative analysis of the ^{1}H spin-lattice relaxation data. In other words, the markers are meant as relaxation features (described by quantitative parameters) that are seen "at the first glance". To illustrate this concept, a data set including nine examples of ^{1}H spin-lattice relaxation data for pathological and reference (background) colon tissues (kept in formalin) have been selected. The data are shown in Fig. 1. The data (Fig. 1 a to i) are complemented by two more cases (Fig. 1 j and k) illustrating data for reference tissues only. In the first nine cases (a to i), the ^{1}H spin-lattice relaxation rates for the reference tissues have been multiplied by a factor (indicated in the Figure legend) chosen in such a way so the data for the reference and the pathological tissues overlap in the high frequency range. This re-scaling has been applied to better visualise differences in the shapes of the relaxation dispersion profiles (spin-lattice relaxation rates versus the resonance frequency). As one can see from Fig. 1, after the re-scaling, the relaxation rates mostly differ in the low frequency range. This observation can be exploited to define the first relaxation marker – one can look at the relative differences in the relaxation rates in the low frequency range encompassing one order of magnitude. Thus, the parameters associated with this marker can be defined as: $\xi = \left|\frac{R_1(\nu_1)-R_1(\nu_2)}{R_1(\nu_2)}\right|$, where ν_1 and ν_2 denote the resonance frequencies determining the chosen frequency range (ν_1 refers to the lower frequency), while $R_1(\nu_1)$ and $R_1(\nu_2)$ are the corresponding relaxation rates at those frequencies. The parameter ξ reflects, to some extent, the "steepness" of the frequency dependencies of the relaxation rates in the interval $[\nu_1, \nu_2]$, but it is (in principle) independent of the arbitrary values of the relaxation rates. The frequency interval can be chosen as one wishes, but before doing that one should be aware in which range the differences in the ξ parameter between the relaxation data for pathological and reference tissues are most likely to occur. In the present case the frequencies are about $\nu_1 =$ 1 kHz and $\nu_2 = 10$ kHz (that means a very small frequency range). The values of the parameter ξ are collected in Table 1.

Looking at the obtained averaged values and their standard deviations, one can see that relaxation data for the pathological tissues exhibit a lower steepness compared to those for the reference samples. The slope values for the pathological tissues vary from 13.6 to 22.6%, while for the reference tissues they range from 28.1 to 41.5 for the raw data. In the case of the pathological tissues, the slope values range from 15.5 to 24.3, and for the fitted data they range from 27.0 to 42.2.

Although the purpose of the markers is to assess the differences in the relaxation features as fast as possible, in case of scattered data, it is useful to interpolate (spline) the data. This has been done in Fig. A1 shown in the Supplementary Appendix. Table 1 includes the values of the ξ parameter obtained from the interpolated data

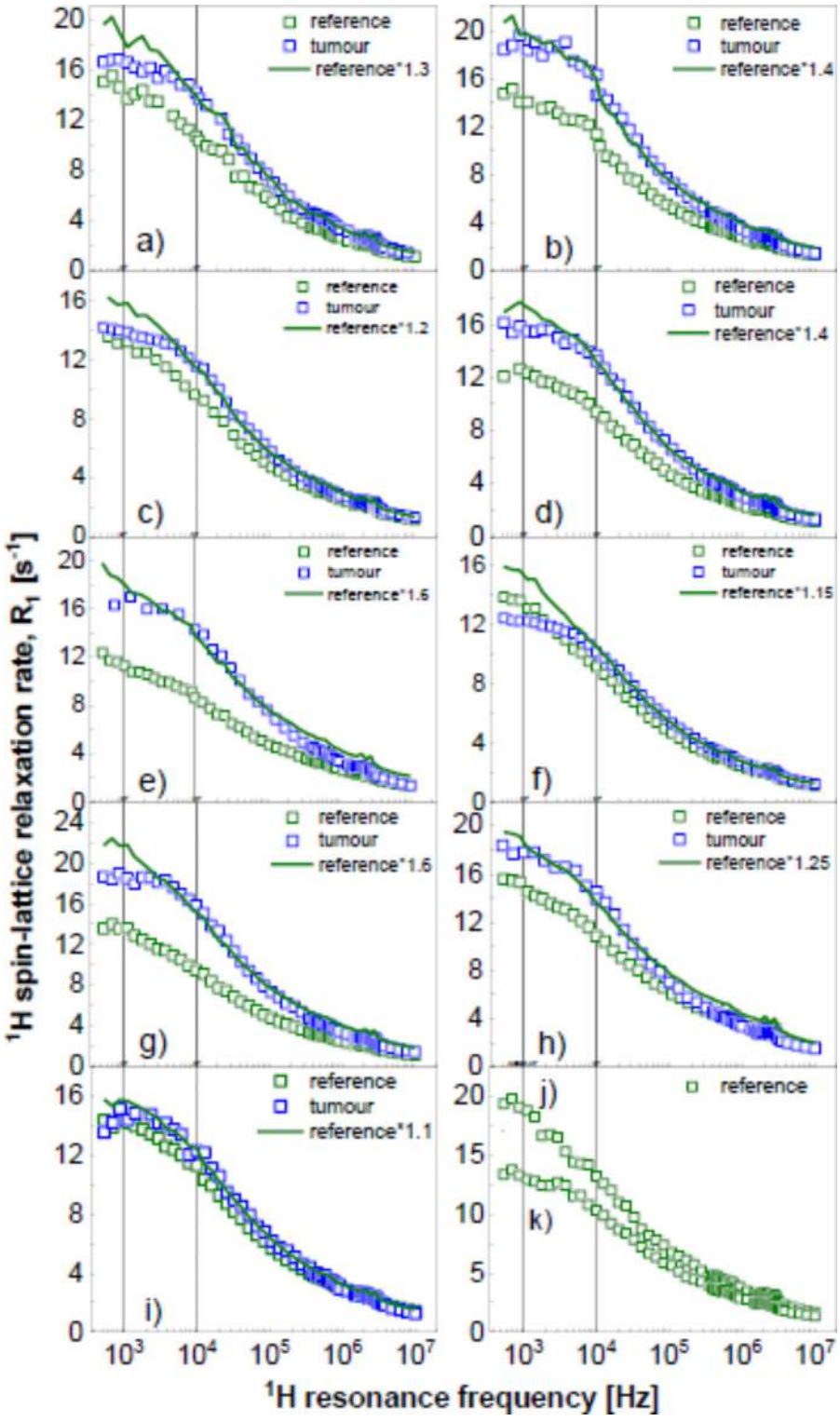


Fig. 1. ^{1}H spin-lattice relaxation rates for pathological and reference (background) colon tissues. Solid lines – re-scaled relaxation rates for the reference samples. Vertical lines indicate the frequency range used for calculating the ξ parameter.

for comparison. The conclusion remains unchanged. It is of interest to extend the frequency range, including three orders of magnitude from 10 kHz to 10 MHz. In this way, the shape of the frequency dependence of the spin-lattice relaxation rate is lost, but the difference in the ξ parameter reflects the changes in the relaxation rates resulting from dynamical processes occurring on much different time scales. The values of the ξ parameter for the frequency range from 10 kHz to 10 MHz for the raw data and the smoothed ones are collected in Table 2.

Case	Pathological	Reference	Pathological	Reference
	Raw data		Fitted data	
(a)	16.8	27.6	16.8	33.8
(b)	12.6	23.6	26.7	23.3
(c)	13.9	37.2	20.2	36.2
(d)	16.9	31.3	17.6	28.8
(e)	18.8	30.7	14.3	30.8
(f)	20.8	42.9	20.6	43.2
(g)	16.8	43.8	17.1	43.3
(h)	29.2	33.8	28.0	33.8
(i)	17.3	25.6	18.3	23.6
(j)	–	42.1	–	42.0
(k)	–	25.5	–	25.4
Average	18.1	33.1	20.0	34.1
Standard deviation	4.5	6.7	4.6	7.2

Table 1. ξ values (in %) obtained for the relaxation data shown in Fig. 1 in the range from 1 kHz to 10 kHz. Note that ξ is unitless.

Case	Pathological	Reference	Pathological	Reference
	Raw data		Fitted data	
(a)	1040	808	857	808
(b)	974	649	974	649
(c)	924	752	925	752
(d)	1040	710	936	618
(e)	983	553	966	543
(f)	816	727	816	727
(g)	1250	709	1010	709
(h)	775	582	986	578
(i)	778	709	770	709
(j)	–	866	–	866
(k)	–	653	–	652
Average	955	696	916	684
Standard deviation	146	88	74	92

Table 2. ξ values (in %) obtained for the relaxation data shown in Fig. 1 in the range from 10 kHz to 10 MHz.

The slope for the pathological tissues ranges between 809 and 1100 and for the reference ones between 608 and 783 for the raw data and between 838 and 994 for the pathological tissues and between 591 and 777 for the interpolated data.

Parametrisation of the data

The frequency dependencies of the spin lattice relaxation rates, $R_1(\omega)$ (ω denotes the resonance frequency in angular frequency units), can be reproduced based on the well-known expressions linking the relaxation rates with the time scale of the molecular motion. According to the relaxation theory, the spin-lattice relaxation rate can be expressed as[14]:

$$R_1(\omega) = C\left[\frac{\tau_c}{1+(\omega\tau_c)^2} + \frac{4\tau_c}{1+(2\omega\tau_c)^2}\right] \tag{3}$$

where the parameter τ_c is referred to as a correlation time and describes the time scale of the molecular motion associated with the relaxation process, while C denotes the corresponding dipolar relaxation constant, reflecting the amplitude of the dipole–dipole interactions. As the experiments have been carried out in a frequency range encompassing more than three orders of magnitude, the relaxation data can be decomposed into three contributions, according to the equation:

$$R_1(\omega) = C_s\left[\frac{\tau_s}{1+(\omega\tau_s)^2} + \frac{4\tau_s}{1+(2\omega\tau_s)^2}\right] + C_i\left[\frac{\tau_i}{1+(\omega\tau_i)^2} + \frac{4\tau_i}{1+(2\omega\tau_i)^2}\right] + C_f\left[\frac{\tau_f}{1+(\omega\tau_f)^2} + \frac{4\tau_f}{1+(2\omega\tau_f)^2}\right] + A \tag{4}$$

The contributions include the indices "s", "i" and "f" originating from "slow", "intermediate" and "fast" dynamical processes. This terminology is associated with the values of the correlation times that fulfil the condition: $\tau_s > \tau_i > \tau_f$; C_s, C_i and C_f denote the corresponding dipolar relaxation constants. The frequency independent term, A, describes a relaxation contribution originating from dynamical processes that are too fast to lead to changes of the relaxation rates with frequency (the correlation times fulfil the condition $\omega\tau_c \ll 1$ in the covered frequency range). The data were fitted in terms of Eq. 4 and the obtained parameters are collected in Table 3. We propose potential interpretations of these contributions in the Discussion, but the histology analyses did not provide sufficient data to validate one and additional work is needed to clarify this.

The data also showed weakly pronounced maxima in the frequency range around 1 MHz. The maxima represent Quadrupole Relaxation Enhancement (QRE) effects and are often referred to as quadrupole peaks. These are well known signals in biological T1 relaxometry that are due to cross-relaxation between water protons and ^{14}N from proteins, and have been studied extensively in the literature[15,16]. Because of their low amplitude, we decided to omit them in the analysis.

The most significant differences between the pathological and reference tissues are observed for the parameters characterising the slow dynamics, τ_s and C_s, while the parameters associated with the fast dynamics, τ_i and C_i, are comparable. To calculate errors for averaged values, the average of error for each parameter for each group was calculated.

Figure 2 shows the decomposition of the relaxation data into the individual contributions for the pathological samples.

Analogous decomposition of the data for the reference samples is shown in Fig. A2 (Supplementary Appendix).

Relaxation rates in the derivative representation

The parametrisation can be exploited to reveal further differences between the relaxation data for the pathological and reference tissues. An interesting approach is to consider not the shape of the frequency dependencies of the spin-lattice relaxation rates, but their derivatives. Figure 3a and b show the derivatives of the relaxation data for the pathological and reference tissues, respectively. The derivatives have been averaged, creating a "master derivative curve" for both cases.

Both curves show a minimum as the relaxation rates decay with increasing frequency. In the case of pathological tissues, the minimum is less pronounced. The ratio between the amplitudes (depths) of the "master" derivative curves for the pathological and reference tissues yields 0.44 ± 0.03. The minimum of the derivative for the pathological tissues is shifted towards higher frequencies compared to the position of the minimum for the reference tissues. The averaged frequency position of the minimum for the pathological tissues yields 5.39 kHz $\pm$ 1.94 kHz, while for the reference tissues the averaged position of the minimum is 1.79 kHz $\pm$ 2.03 kHz.

Case	C_s [10^5 Hz^2]	τ_s [µs]	C_i [10^6 Hz^2]	τ_i [µs]	C_f [10^7 Hz^2]	τ_f [µs]	A [s^{-1}]
(a) Tumour	2.12 ± 0.10	66.00 ± 2.30	1.72 ± 0.88	0.67 ± 0.15	0.09 ± 0.01	4.40 ± 1.30	1.31 ± 0.23
(a) Reference	0.76 ± 0.18	15.00 ± 4.90	0.98 ± 0.09	1.14 ± 0.08	0.66 ± 0.01	6.50 ± 0.62	1.23 ± 0.11
(b) Tumour	3.62 ± 0.27	5.50 ± 0.43	2.13 ± 0.13	0.49 ± 0.10	1.32 ± 0.19	4.40 ± 1.30	1.41 ± 0.24
(b) Reference	0.68 ± 0.17	18.00 ± 8.00	0.98 ± 0.09	1.30 ± 0.11	0.63 ± 0.02	6.50 ± 0.62	1.22 ± 0.13
(c) Tumour	2.32 ± 0.16	5.70 ± 0.29	1.53 ± 0.75	0.61 ± 0.05	0.89 ± 0.09	3.80 ± 0.37	1.24 ± 0.13
(c) Reference	0.76 ± 0.07	15.00 ± 1.40	0.85 ± 0.04	1.10 ± 0.12	0.72 ± 0.06	4.90 ± 0.74	1.14 ± 0.12
(d) Tumour	2.31 ± 0.20	6.10 ± 0.27	1.52 ± 0.10	0.69 ± 0.06	0.99 ± 0.13	4.70 ± 0.43	1.22 ± 0.14
(d) Reference	0.67 ± 0.10	15.00 ± 6.60	0.77 ± 0.05	1.20 ± 0.09	0.74 ± 0.01	5.00 ± 0.49	1.11 ± 0.13
(e) Tumour	2.14 ± 0.30	6.80 ± 0.28	2.34 ± 0.14	0.58 ± 0.06	1.41 ± 0.19	2.8 ± 0.39	1.24 ± 0.21
(e) Reference	0.21 ± 0.20	32.00 ± 8.20	0.47 ± 0.03	2.10 ± 0.23	0.53 ± 0.04	8.40 ± 1.30	1.53 ± 0.14
(f) Tumour	1.14 ± 0.10	8.50 ± 0.45	0.87 ± 0.05	0.99 ± 0.06	0.65 ± 0.06	6.70 ± 0.43	1.34 ± 0.13
(f) Reference	0.53 ± 0.33	23.00 ± 1.70	0.82 ± 0.03	1.20 ± 0.12	0.66 ± 0.06	5.40 ± 0.89	1.12 ± 0.14
(g) Tumour	3.63 ± 0.25	5.40 ± 0.24	1.92 ± 0.01	0.56 ± 0.06	1.24 ± 0.15	4.00 ± 0.45	1.33 ± 0.14
(g) Reference	0.42 ± 0.45	27.00 ± 2.20	0.66 ± 0.04	1.60 ± 0.17	0.61 ± 0.05	6.5 ± 0.82	1.34 ± 0.12
(h) Tumour	2.56 ± 0.11	6.90 ± 0.34	1.73 ± 0.02	0.63 ± 0.06	0.96 ± 0.09	4.30 ± 0.33	1.53 ± 0.24
(h) Reference	0.17 ± 0.14	50.00 ± 5.60	0.44 ± 0.04	3.10 ± 0.13	0.74 ± 0.06	8.60 ± 1.60	1.94 ± 0.13
(i) Tumour	2.1 ± 0.11	6.10 ± 0.29	1.33 ± 0.03	0.71 ± 0.06	0.86 ± 0.01	5.40 ± 0.56	1.32 ± 0.13
(i) Reference	0.71 ± 0.13	14.00 ± 6.70	0.79 ± 0.05	1.40 ± 0.14	0.66 ± 0.05	7.30 ± 0.77	1.53 ± 0.14
(j) Reference	0.37 ± 0.43	35.00 ± 4.90	0.65 ± 0.08	2.40 ± 0.33	0.78 ± 0.06	9.00 ± 0.81	1.93 ± 0.13
(k) reference	0.35 ± 0.11	24.00 ± 5.30	0.64 ± 0.09	1.70 ± 0.4	0.78 ± 0.07	6.70 ± 0.79	1.44 ± 0.12
Average tumour	2.45 ± 0.08	0.64 ± 0.54	1.63 ± 0.42	0.66 ± 0.03	1.13 ± 0.06	4.40 ± 0.37	1.33 ± 0.05
Average reference	0.51 ± 0.10	24.00 ± 2.30	0.71 ± 0.02	1.40 ± 0.06	0.68 ± 0.02	6.80 ± 0.24	1.44 ± 0.08

Table 3. Parameters obtained from fitting the relaxation data in terms of Eq. 4.

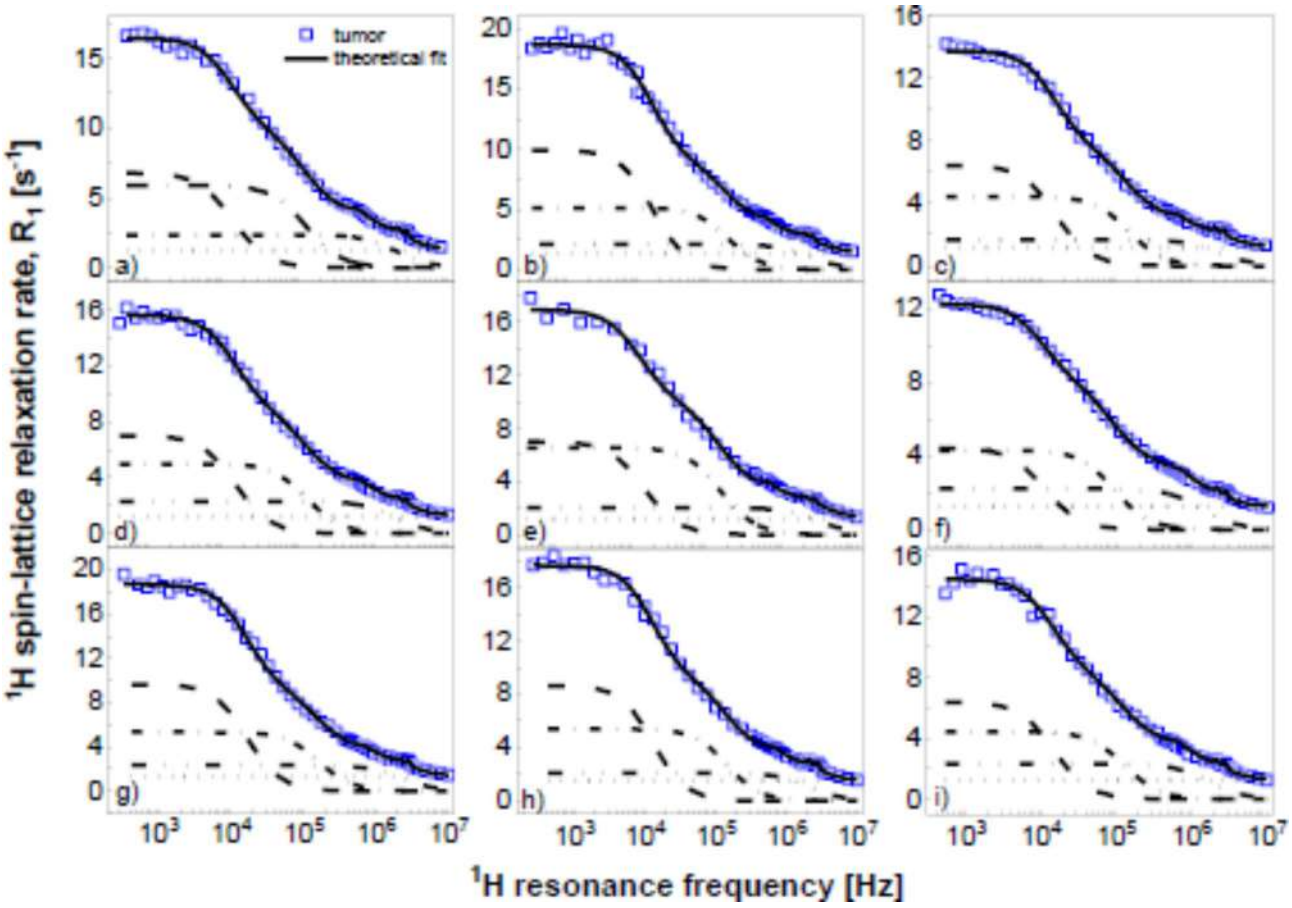


Fig. 2. ^{1}H spin-lattice relaxation rates from pathological colon tissues (blue squares) fitted using Eq. 4 (solid lines). The fit has been decomposed into the relaxation contributions associated with slow (dashed lines), intermediate (dashed-dotted) and fast (dashed-dotted-dotted) lines; the frequency independent term, A, is represented by dotted lines.

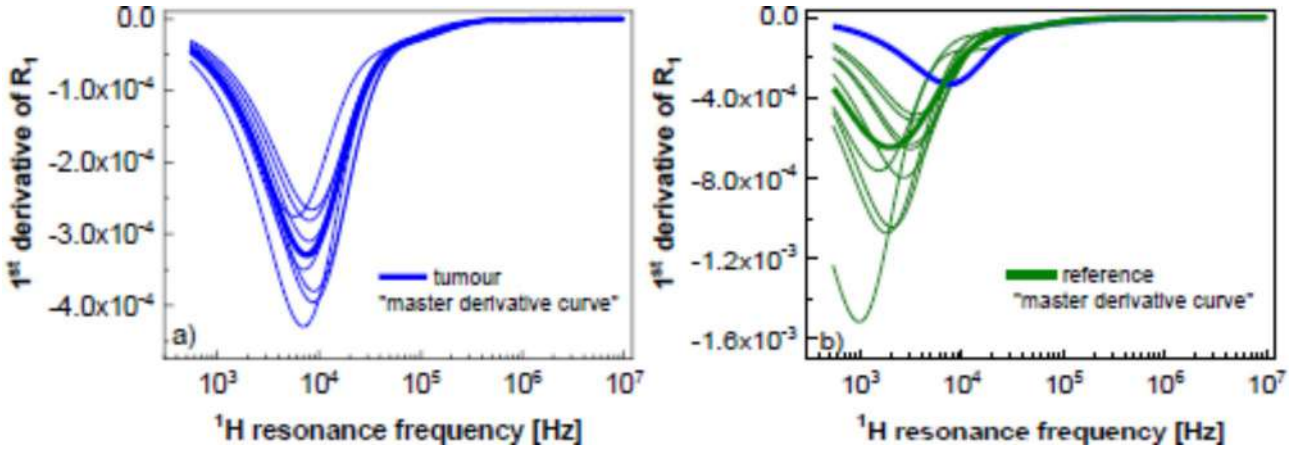


Fig. 3. Derivatives of the relaxation rates over the resonance frequency for (**a**) pathological and (**b**) reference tissues. The master derivative curves (thick lines) being an average of the derivatives for the individual data sets are shown. (**b**) Includes the master derivative curve from (**a**) to enable a direct comparison (blue line). The derivatives have been obtained from the curves representing the fits in terms of Eq. 4.

In the Supplementary Appendix (Fig. A3) the comparison of the derivative curves for the pathological and reference tissues for each case is presented. The comparison shows that the two effects, i.e. a deeper minimum for the reference tissue and its position at a lower frequency compared to the pathological tissue, appear in all cases.

Ratio between the relaxation rates for pathological and reference tissues

Although the main purpose of revealing characteristic relaxation markers for pathological tissues is to identify the pathological tissue not resorting to comparisons with other data sets, it is of interest to analyse the ratio between the relaxation rates for the pathological and reference tissues. The ratios are shown in Fig. 4 for the individual cases.

Although the shape of the frequency dependence of the ratio is quite complex, one can observe that in all cases there is a maximum in the frequency range from 5 kHz to 50 kHz.

Scaling and grouping

For the purpose of comparing the shapes of the frequency dependencies of the spin-lattice relaxation rates, not the arbitrary values of the relaxation rates, some of the data have been multiplied by a factor chosen in such a way so the data overlap in the high frequency limit. This concept has already been used in Fig. 1 to underline the differences in the shapes of the frequency dependencies of the relaxation rates for the pathological and reference tissues for the individual cases. Figure 5a shows the outcome of scaling the relaxation data for the pathological tissues, while Fig. 5b shows the analogous result for the reference tissues.

For both the pathological and the reference tissues, one can distinguish two groups of data, but the groups are formed by different individual cases. Figure A4 (Supplementary Appendix) shows a comparison of the four groups. The data can be parametrised in terms of Eq. 4, as shown in Fig. 6a.

The obtained parameters are collected in Table 4.

Following the approach presented in Sect. 3.1, it is of interest to compare the ξ parameters obtained from the fitted curves in the frequency range from 1 to 10 kHz and from 10 kHz to 10 MHz; they yield: 20.1% for group 1 of tumour, 15.9% for group 2, 38.9% for group 1 of reference, 39.3% for group 2 of reference in the 1–10 kHz frequency range and 892.1% for group 1 of tumour, 790.8% for group 2, 502.3% for group 1 of reference, 568.5% for group 2 of reference in the 10 kHz-10 MHz frequency range.

In Fig. A5 (Supplementary Appendix), the derivative curves for the four groups are shown. The derivatives preserve the features described in Sect. 3.3 – the minimum is more pronounced for the reference tissues and shifted towards lower frequencies.

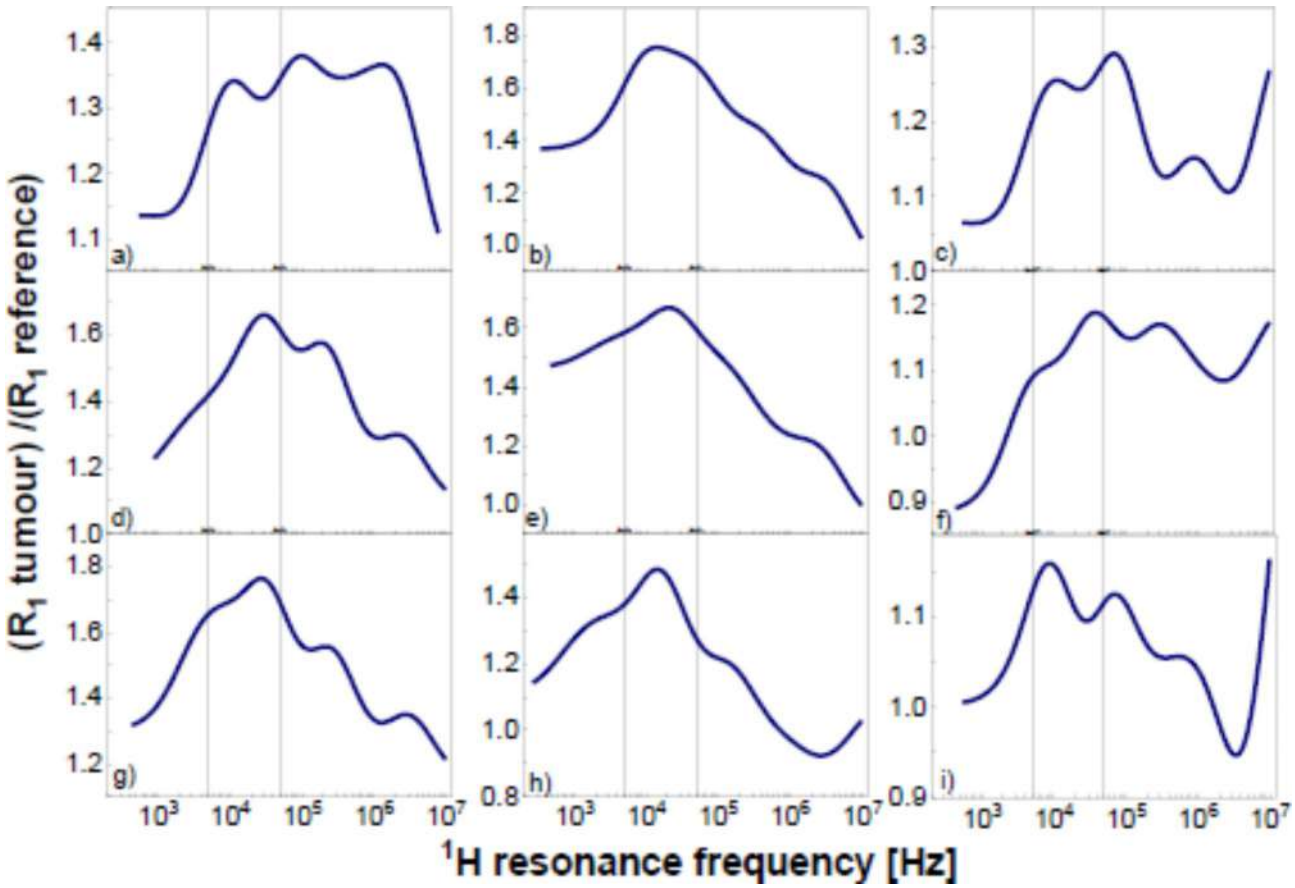


Fig. 4. Ratio between ^{1}H spin-lattice relaxation rates for pathological and reference tissues.

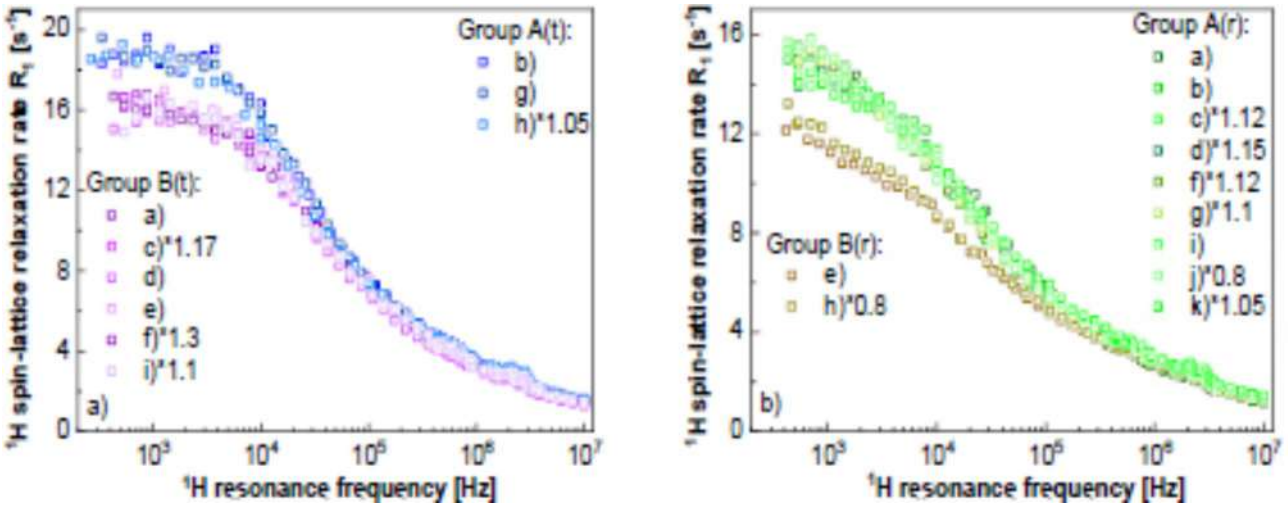


Fig. 5. Grouped and scaled relaxation data for tumour (**a**) and reference, (**b**) tissues. The data were scaled by the factors given in the legend. A(t) and B(t) refer to group A and group B of the tumour tissues, while A(r) and B(r) refer to group A and group B of the reference tissues.

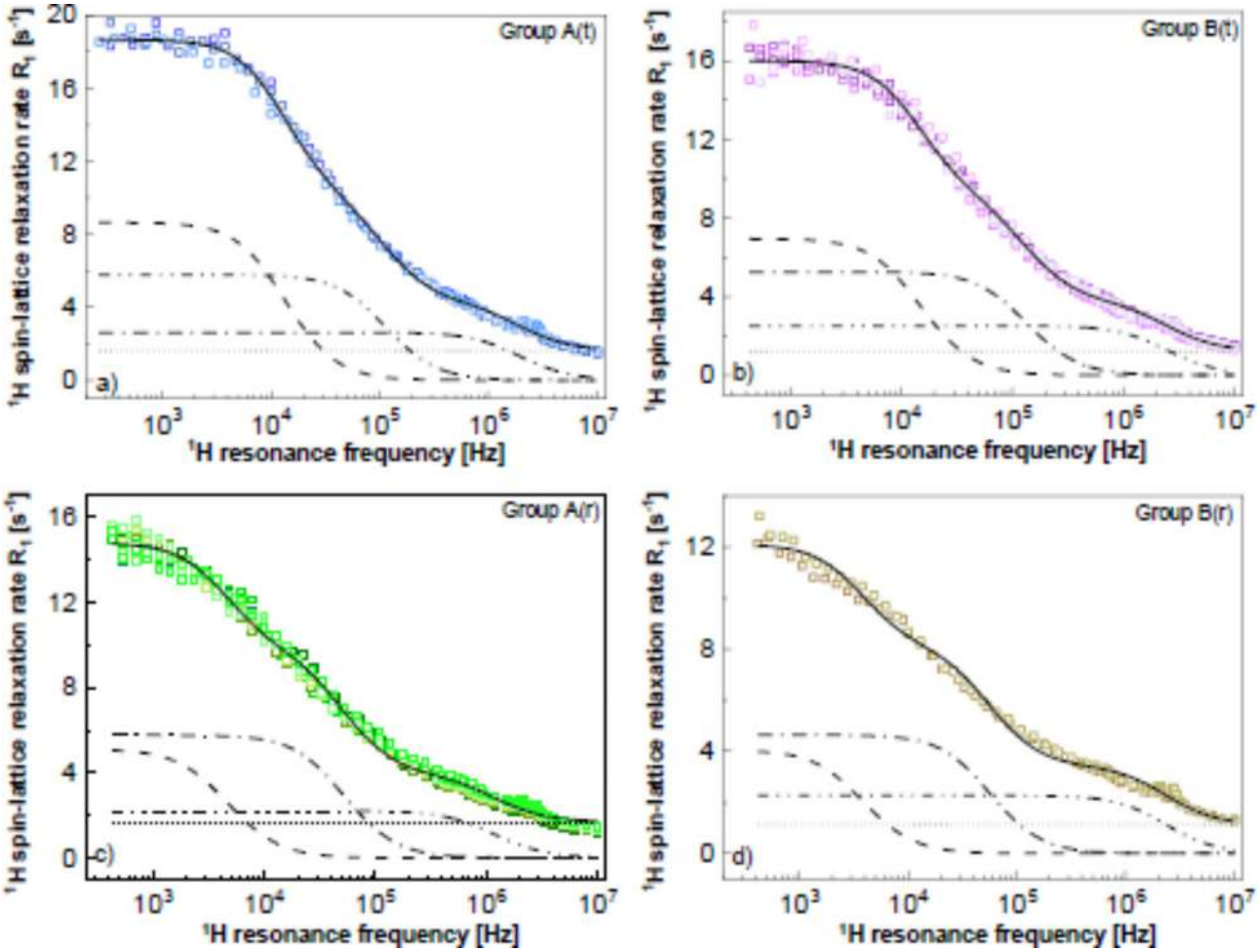


Fig. 6. (**a–d**) Groups of ^{1}H spin-lattice relaxation data reproduced in terms of Eq. 4 (solid lines). The fit has been decomposed into the relaxation contributions associated with slow (dashed lines), intermediate (dashed-dotted) and fast (dashed-dotted-dotted) lines; the frequency independent term, A, is represented by dotted lines.

Group	C_s [kHz^2]	τ_s [ms]	C_i [kHz^2]	τ_i [ns]	C_f [kHz^2]	τ_f [ns]	A [s^{-1}]
A(t)	0.261 ± 0.17	6.63 ± 0.26	1.45 ± 0.08	797 ± 56	11.2 ± 1.1	46.6 ± 3.9	1.63 ± 0.11
A(r)	0.0534 ± 0.0029	19.1 ± 0.8	0.675 ± 0.020	1710 ± 60	5.78 ± 3.28	76.5 ± 4.3	1.69 ± 0.04
B(t)	0.233 ± 0.013	5.97 ± 0.21	1.58 ± 0.62	667 ± 35	14.1 ± 2.8	35.8 ± 1.3	1.22± 0.11
B(r)	0.0346 ± 0.0036	23.4 ± 0.2	0.588 ± 0.314	1580 ± 104	12.1 ± 4.1	38.0 ± 1.8	1.12 ± 0.04

Table 4. Parameters obtained from fitting the groups of relaxation data in terms of Eq. 4.

Discussion

This work allowed us to develop some analytical methods to extract potential biomarkers of colorectal cancer, but at this stage any biological interpretation can only be hypothetical and further study is ongoing to clarify the origin of the signals observed.

Comparing ^{1}H spin-lattice relaxation data for the pathological and reference colon tissues, one can make two observations. The first one is that the relaxation rates tend to coincide at the higher frequencies (above 1 MHz). The second observation is that in most cases (7 out of 9), the relaxation rates at low frequencies are larger for the pathological tissues than for the reference ones – at 1 kHz the averaged relaxation rates are 16.08 ± 2.11 and 14.36 ± 1.88 for the pathological and reference tissues, analogously at 10 kHz the values yield 13.31 ± 2.82 for the pathological tissues and 10.60 ± 1.36 for the reference ones. Although this finding is undoubtedly worth attention, in this work we aim to reveal relaxation factors characteristic of pathological and reference tissues that are not entirely based on the arbitrary values of the relaxation rates themselves, but on the shape of the frequency dependencies of the relaxation rates. The most straightforward factor to determine is the parameter ξ reflecting the "steepness" of the relaxation rates versus the resonance frequency in a given frequency range. Even though the parameter ξ calculated for the broad frequency range from 1 kHz to 10 MHz is different for the pathological and reference tissues (954.7 ± 145.5 for pathological and 695.8 ± 87.5 for reference), the most significant differences are observed in the low frequency range – the ξ parameter corresponding to the frequency range from 1 kHz to 10 kHz yields 18.1 ± 4.5 for the pathological tissues and 34.8 ± 6.7 for the reference ones.

A quantitative description of the relaxation data has led to three pairs of parameters (the correlation time and the corresponding dipolar relaxation constant). As already pointed out, the most significant differences are revealed for the parameters characterising the slow dynamics: τ_s and C_s. This was to be expected as relaxation processes at low frequencies are associated with slow dynamics. The average dipolar relaxation constant, C_s, for the tumour tissues is larger by a factor of ~ 5 compared to that for the reference tissues, while the correlation time is shorter by a factor of ~ 4. The dipolar relaxation constant for the intermediate process, C_i, is larger by a factor of ~ 2 for the pathological tissues compared to the reference ones, while the correlation time, τ_i, is shorter by a factor of ~ 2; the differences in the parameters C_f and τ_f are less significant.

To get a deeper insight into the characteristic shapes of the frequency dependencies of the relaxation rates, the derivative of the relaxation rates over the frequency range has been calculated. The minimum of the derivative corresponds to the frequency around which the changes in the relaxation rates are most significant. The absolute value of the minimum is by a factor of ~ 2 lower for the pathological tissues compared to the reference ones. As far as the frequency position of the minimum of the derivative is concerned, it is shifted towards higher frequencies for the pathological tissues (about 5 kHz) compared to the reference ones (about 2 kHz).

One can attempt to provide explanations for these effects: for instance, one could attribute the larger dipolar relaxation constant for the pathological tissues to a higher population of the fraction of water molecules strongly bound to the macromolecular matrix in the pathological tissues. The shorter correlation time associated with the tumour tissue also suggests that this matrix may be constituted of smaller proteins, or may be more loosely structured in tumours. This seems coherent with the histological analyses of tumour tissues, which are more disorganised than healthy ones.

Another possibility could be the exchange of water through cell membranes. Other groups have reported changes in NMRD profiles due to passive channels such aquaporins[10,11,54], which modulate the intracellular contribution to the NMRD profile. Active channels are unlikely to contribute in fixed tissues, but membrane damage may provide additional passive channels.

The presence of two subsets of NMRD profiles indicates additional relaxation mechanisms at fields below 2 mT. Determining the exact origin would require detailed analysis of the tissue components, which was not planned for this work. One possibility could be Further studies are under way using fresh tissue samples to better understand the biological pathways relating to our findings.

Conclusions

Several quantities have been indicated as possible markers of pathological changes in tissues reflected by ^{1}H spin-lattice NMR relaxometry. The quantities have been obtained and compared for colon tissues. It has been shown that the relative changes in the relaxation rates in the low frequency range differ significantly, depending on the state of the tissue – the changes are smaller for pathological tissues compared to the reference. Analogously, a minimum of the first derivative of the relaxation rate over the resonance frequency has been revealed. The minimum is more pronounced for the reference tissues and shifted towards lower frequencies compared to the pathological ones. A quantitative parametrisation of the relaxation data in terms of Lorentzian spectral densities has led to a set of dipolar relaxation constants and associated correlation times that can be used for the purpose of differentiating between the state of the tissue. The ^{1}H spin-lattice relaxation data for the pathological and

reference tissues tend to coincide at higher frequencies, while at lower frequencies the differences are clearly pronounced. The relaxation data for the pathological and reference tissues, after a re-scaling (multiplying by a frequency independent factor), can be attributed to two groups (for each case) that likely reflect their different structural properties. At this stage it is difficult to determine the biological origin of these signals and further work is ongoing using fresh colorectal cancer tissues to validate our findings for in vivo applications.

Methods

Tissue samples

Twelve formalin-fixed colorectal tissue samples were obtained from colorectal cancer patients during surgery. The extraction process was specifically aimed at obtaining tissue cores from two different regions as follows: tumour area ($n=12$) and non-involved healthy tissue ($n=12$). R1 measurements were acquired after pathology examination so as not to interfere with normal patient care. These samples were obtained fixed in a 4% solution of formaldehyde. Some samples were excluded due to technical measurement errors (Healthy $n=3$, Tumour $n=3$). Ethical approval was granted by the Grampian Biorepository Scientific Access Group (tissue requests TR000068) prior to commencing this prospective study, and the patients' informed consents were obtained from all participants. All methods were performed in accordance with the Good Clinical Practices for Clinical Trials UK. Confidentiality and privacy of the participants data were maintained throughout the research process.

FFC-NMR acquisitions

In this study, we used a commercial benchtop FFC NMR relaxometer (SMARtracer; Stelar S.r.l., Mede, Italy). Tissue cores around 1 ml in volume were placed into flat-bottom tubes (Scientific Glass Laboratories Ltd, Tunstall, UK, G050/18 model) with a diameter of 10 mm and a length of 50 mm and analysed at a controlled temperature of 37 °C± 0.1 °C. R1 dispersion profiles were analysed in the fields lying between 1 kHz and 10 MHz proton Larmor frequency (PLF) range (corresponding to applied magnetic field B0 = 0.02 mT to 0.2 T). The overall acquisition time of the NMR dispersion (NMRD) profile was approximately 20 min per sample. The 1 H spin-lattice relaxation rate of these samples was investigated using a saturation recovery pulse sequence.

This work received support from the EURELAX COST Action CA15209, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology).

Data availability

The data that support the findings of this study are not openly available due to reasons of sensitivity and are available from the corresponding author upon reasonable request. Data are located in controlled access data storage at the University of Aberdeen.

Received: 30 January 2024; Accepted: 23 September 2024
Published online: 22 October 2024

References

1. Jiang, Y. et al. Global pattern and trends of colorectal cancer survival: a systematic review of population-based registration data. *Cancer Biol. Med.* **19**(2), 175–186. https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0634 (2021).
2. Arnold, M. et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence & mortality. *Gut* **66**(4), 683–691. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310912 (2017).
3. Sharma, R. et al. M. Global, regional, and national burden of colorectal cancer and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* **7**(7), 627–647 (2022).
4. De Rosa, M. D. et al. The biological complexity of colorectal cancer: insights into biomarkers for early detection & personalised care. *Therap. Adv. Gastroenterol.* **9**(6), 861–886. https://doi.org/10.1177/1756283X16659790 (2016).
5. Shlyakhtina, Y., Moran, K. L. & Portal, M.M. Genetic and non-genetic mechanisms underlying cancer evolution. *Cancers* **13**, 1380 (2021).
6. Marques, M. P. M. et al. Role of intracellular water in the normal-to-cancer transition in human cells-insights from quasi-elastic neutron scattering. *Struct. Dyn.* **7**(5), 054701. https://doi.org/10.1063/4.0000021 (2020).
7. Moon, C. S., Moon, D. & Kang, S. K. Aquaporins in cancer biology. *Front. Oncol.* **12**, 782829. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.782829 (2022).
8. Masiewicz, E. et al. Towards applying NMR relaxometry as a diagnostic tool for bone & soft tissue sarcomas: a pilot study. *Sci. Rep.* **10**(1), 14207. https://doi.org/10.1038/s41598-020-71067-x (2022).
9. Broche, L. M. et al. A whole-body fast field-cycling scanner for clinical molecular imaging studies. *Sci. Rep.* **9** https://doi.org/10.1038/s41598-019-46648-0 (2019).
10. Ruggiero, M. R. et al. Evidence for the role of intracellular water lifetime as a tumour biomarker obtained by in vivo field-cycling relaxometry. *Angew Chem. Int. Ed.* **57**(25), 7468–7472. https://doi.org/10.1002/anie.201713318 (2018).
11. Petit, M. et al. Fast-field-cycling NMR at very low magnetic fields: water molecular dynamic biomarkers of glioma cell invasion & migration. *NMR iBiomed.* **35**(6), e4677. https://doi.org/10.1002/nbm.4677 (2022).
12. Slichter, C. P. *Principles of Magnetic Resonance*, 3rd edn (Springer, 1990).
13. Kruk, D. *Understanding Spin Dynamics* (CRC, 2015).
14. Kowalewski, J. & Mäler, L. *Nuclear Spin Relaxation in Liquids: Theory, Experiments, & Applications*, 2nd edn (CRC Press, Taylor & Francis Group, 2018).
15. Hwang, L. P. & Freed, J. H. Dynamic effects of pair correlation functions on spin relaxation by translational diffusion in liquids. *J. Chem. Phys.* **63**, 4017–4025. https://doi.org/10.1063/1.431841 (1975).
16. Ayant, Y., Belorizky, E., Aluzon, J. & Gallice, J. Calcul Des densités spectrales résultant d'un mouvement aléatoire de translation en relaxation par interaction dipolaire magnétique dans les liquides. *J. Phys. France* **36**, 991–1004. https://doi.org/10.1051/jphys:019750036010099100 (1975).
17. Belorizky, E., Fries, P. H., Guillermo, A. & Poncelet, O. Almost ideal 1D water diffusion in imogolite nanotubes evidenced by NMR relaxometry. *Chem. Phys. Chem.* **11**, 2021–2026. https://doi.org/10.1002/cphc.200901030 (2010).
18. Fries, P. H. Dipolar nuclear spin relaxation in liquids and plane fluids undergoing chemical reactions. *Mol. Phys.* **48**, 503–526. https://doi.org/10.1080/00268978300100361 (1983).

19. Kruk, D., Meier, R. & Rössler, E. A. Translational and rotational diffusion of glycerol by means of field cycling ^{1}H NMR relaxometry. *J. Phys. Chem. B* **115**, 951–957. https://doi.org/10.1021/jp110514r (2011).
20. Meier, R., Kruk, D., Bourdick, A., Schneider, E. & Rössler, E. A. Inter- and intramolecular relaxation in molecular liquids by field cycling ^{1}H NMR relaxometry. *Appl. Magn. Reson.* **44**, 153–168 (2013).
21. Korb, J. P. Multiscale nuclear magnetic relaxation dispersion of complex liquids in bulk & confinement. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **104**, 12–55. https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2017.11.001 (2013).
22. Parigi, G., Ravera, E., Fragai, M. & Luchinat, C. Unveiling protein dynamics in solution with field-cycling NMR relaxometry. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **124–125**, 85–98. https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2021.05.001 (2021).
23. Kruk, D. et al. Mechanism of water dynamics in hyaluronic dermal fillers revealed by nuclear magnetic resonance relaxometry. *Chem. Phys. Chem.* **20**, 2816–2822. https://doi.org/10.1002/cphc.201900761 (2019).
24. Kruk, D. et al. Water dynamics in highly concentrated protein systems—insight from nuclear magnetic resonance relaxometry. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 4093. https://doi.org/10.3390/ijms24044093 (2023).
25. Fries, P. H. & Belorizky, E. Simple expressions of the nuclear relaxation rate enhancement due to quadrupole nuclei in slowly tumbling molecules. *J. Chem. Phys.* **143**, 044202. https://doi.org/10.1063/1.4926827 (2015).
26. Kruk, D., Umut, E., Masiewicz, E., Fischer, R. & Scharfetter, H. Multi-quantum quadrupole relaxation enhancement effects in 209Bi compounds. *J. Chem. Phys.* **150**, 184309. https://doi.org/10.1063/1.5082007 (2019).
27. Kruk, D. et al. Dynamics of solid proteins by means of nuclear magnetic resonance relaxometry. *Biomolecules* **9**, 652. https://doi.org/10.3390/biom9110652 (2019).
28. Westlund, P. O. Quadrupole-enhanced proton spin relaxation for a slow reorienting spin pair: (I)–(S). A stochastic Liouville approach. *Mol. Phys.* **107**, 2141–2148. https://doi.org/10.1080/00268970903185909 (2019).
29. Westlund, P. O. The quadrupole enhanced ^{1}H spin–lattice relaxation of the amide proton in slow tumbling proteins. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **12**, 3136–3140. https://doi.org/10.1039/B922817A (2010).
30. Sunde, E. P. & Halle, B. Mechanism of ^{1}H–^{14}N cross-relaxation in immobilised proteins. *J. Magn. Reson.* **203**, 257–273. https://doi.org/10.1016/j.jmr.2010.01.008 (2010).
31. Kruk, D. et al. Slow dynamics of solid proteins—nuclear magnetic resonance relaxometry versus dielectric spectroscopy. *J. Magn. Res.* **314**, 106721. https://doi.org/10.1016/j.jmr.2020.106721 (2020).
32. Kruk, D., Wojciechowski, M. & Florek-Wojciechowska, M. Singh. R. K. Dynamics of ionic liquids in confinement by means of NMR relaxometry—EMIM-FSI in a silica matrix as an example. *Materials* **13**, 4351. https://doi.org/10.3390/ma13194351 (2020).
33. Seyedlar, A. O., Stapf, S. & Mattea, C. Nuclear magnetic relaxation & diffusion study of the ionic liquids 1-ethyl- and 1-butyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imide confined in porous glass. *Magn. Reson. Chem.* **57**, 818–828. https://doi.org/10.1002/mrc.4852 (2019).
34. Pilar, K. et al. Investigation of dynamics in BMIM TFSA ionic liquid through variable temperature & pressure NMR relaxometry and diffusometry. *J. Electrochem. Soc.* **164**, H5189. https://doi.org/10.1149/2.0301708jes (2017).
35. Goddard, Y. A., Korb, J. P. & Bryant, R. G. Water molecule contributions to proton spin–lattice relaxation in rotationally immobilised proteins. *J. Magn. Reson.* **199**, 68–74. https://doi.org/10.1016/j.jmr.2009.04.001 (2009).
36. Korb, J. P. & Bryant, R. G. Magnetic field dependence of proton spin–lattice relaxation of confined proteins. *C R Phys.* **5**, 349–357. https://doi.org/10.1016/j.crhy.2004.03.001 (2004).
37. Goddard, Y., Korb, J.-P. & Bryant, R. G. The magnetic field & temperature dependences of proton spin–lattice relaxation in proteins. *J. Chem. Phys.* **126**, 175105. https://doi.org/10.1063/1.2727464 (2007).
38. Bertini, I., Fragai, M., Luchinat, C. & Parigi, G. ^{1}H NMRD profiles of diamagnetic protains: A model-free analysis. *Magn. Reson. Chem.* **38**, 543–550 (2000).
39. Ravera, E. et al. Experimental determination of microsecond reorientation correlation times in protein solutions. *J. Phys. Chem. B* **117**, 3548–3553. https://doi.org/10.1021/jp312561f (2013).
40. Bryant, R. G. Dynamics of water in & around proteins characterised by ^{1}H-spin-lattice relaxometry. *C R. Phys.* **11**, 128–135. https://doi.org/10.1016/j.crhy.2010.06.013 (2010).
41. Diakova, G., Goddard, Y. A., Korb, J.-P. & Bryant, R. G. Water & backbone dynamics in a hydrated protein. *Biophys. J.* **98**, 138–146. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.09.054 (2010).
42. Grebenkov, D. S., Goddard, Y. A., Diakova, G., Korb, J. P. & Bryant, R. G. Dimensionality of diffusive exploration at the protein interface in solution. *J. Phys. Chem. B* **113**, 13347–13356. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.09.054 (2009).
43. Kimmich, R. & Fatkullin, N. Polymer chain dynamics & NMR. *Adv. Polym. Sci.* **170**, 1–113. https://doi.org/10.1007/978-3-540-40000-4_5 (2004).
44. Kimmich, R. & Anoardo, E. Field-cycling NMR relaxometry. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **44**(3/4), 257–320. https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2004.03.002 (2004).
45. Rankin, I. A. et al. Fast-field cycling magnetic resonance imaging—developing a new biomarker for early osteoarthritis of the knee. *Osteoarthr. Cartil.* **26**(1), S467. https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.02.881 (2018).
46. Broche, L. M. et al. A new method for investigating osteoarthritis using fast field-cycling nuclear magnetic resonance. *Phys. Med.* **88**, 142–147. https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2021.05.034 (2021).
47. Petrov, V. O. & Stapf, S. Multicomponent analysis of T1 relaxation in bovine articular cartilage at low magnetic fields. *Magn. Res. Med. Sci.* **81**(5), 2858–2868. https://doi.org/10.1002/mrm.27624 (2018).
48. Ruggiero, M. R. Intracellular water lifetime as a tumor biomarker to monitor doxorubicin treatment via FFC-relaxometry in a breast cancer model. *Front. Oncol.* **11**, 823. https://doi.org/10.3389/fonc.2021.778823 (2021).
49. Bitonto, V. et al. Low-field NMR relaxometry for intraoperative tumour margin assessment in breast-conserving surgery. *Cancers* **13**, 4141. https://doi.org/10.3390/cancers13164141 (2021).
50. Di Gregorio, E., Ferrauto, G., Lanzardo, S., Gianolio, E. & Aime, S. Use of FCC-NMRD relaxometry for early detection & characterisation of ex-vivo murine breast cancer. *Sci. Rep.* **9**, 4624. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41154-9 (2019).
51. Ruggiero, M. R. et al. Role of transmembrane water exchange in glioma invasion/migration: in vivo preclinical study by relaxometry at very low magnetic. *Field Cancers* **14**, 4180. https://doi.org/10.3390/cancers14174180 (2022).
52. Baroni, S., Ruggiero, M. R., Aime, S. & Crich, S. G. Exploring the tumour extracellular matrix by in vivo fast field cycling relaxometry after the administration of a Gadolinium-based MRI contrast agent. *Magn. Reson. Chem.* **57**(10), 845–851. https://doi.org/10.1002/mrc.4837 (2019).
53. Ruggiero, M. R., Baroni, S., Aime, S. & Crich, S. G. Relaxometric investigations addressing the determination of intracellular water lifetime: a novel tumour biomarker of general applicability. *Mol. Phys.* **117**, 968–974. https://doi.org/10.1080/00268976.2018.1527045 (2018).
54. Li, X., Mangia, S., Lee, J. H., Bai, R. & Springer, C. S. NMR shutter-speed elucidates apparent population inversion of 1H2O signals due to active transmembrane water cycling. *Magn. Reson. Med.* **82**, 411–424 (2019).

Acknowledgements

This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 668119 (project "IDentIFY").This work received support from the EURELAX COST Action CA15209, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology).

Author contributions

KK conducted the analysis for the fits of the dispersion profiles, EM conducted the data processing to produce the NMRD profiles, AA contributed to the data analysis, VZ performed the measurements and recorded the data, LS collected the tissue samples, GM provided the histological analysis of the samples, DL was responsible for the clinical study, LB designed and coordinated the study and DK developed the analytical methods. All authors contributed to and reviewed the manuscript.

Declarations

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at https://doi.org/10.1038/s41598-024-74055-7.

Correspondence and requests for materials should be addressed to L.M.B.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

© The Author(s) 2024

Check for updates

Magnetic Resonance in Chemistry

WILEY

RESEARCH ARTICLE

Revealing and Modeling NMR Relaxation Processes in Tissues: Endometrial Cancer Tissue as an Example

Karol Kolodziejski[1] | Farman Ullah[1] | Krzysztof Jablonski[2] | Piotr Mieloch[2] | Maciej Zukowski[2] | Jerzy Gielecki[3] | Danuta Kruk[1]

[1]Department of Physics and Biophysics, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Olsztyn, Poland | [2]Clinical Department of Gynaecology, Oncological Gynaecology and Obstetrics, Municipal Polyclinical Hospital in Olsztyn, Olsztyn, Poland | [3]Department of Anatomy, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Olsztyn, Poland

Correspondence: Danuta Kruk (danuta.kruk@uwm.edu.pl)

Received: 27 April 2025 | **Revised:** 1 September 2025 | **Accepted:** 13 September 2025

Funding: This research was funded by the National Science Centre, Poland, Grant No. 2021/43/B/NZ5/01602.

Keywords: NMR | power law | relaxation | relaxation models | tissues

ABSTRACT

These studies are intended to be a step towards the identification of characteristic markers of relaxation processes in tissues, with the aim of revealing the extent to which they are tissue and/or cancer specific, and thus to consider the potential of NMR relaxometry for diagnostic purposes. ^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation studies were carried out on 20 samples of endometrial cancer tissue. The spin–lattice relaxation experiments were performed in the frequency range from 10 kHz to 10 MHz and complemented by spin–lattice and spin–spin relaxation measurements at 18.7 MHz. It was shown that the spin–lattice relaxation data can be reproduced in the form of a power-law function with the exponent of about 0.35 over the whole frequency range, while the spin–spin relaxation process was found to be bi-exponential in all cases. The relaxation scenario has been described quantitatively, leading to a number of parameters such as the ratio between the spin–spin relaxation rates and their contributions to the total relaxation process, or the relative decay of the spin–lattice relaxation rates in the low frequency range (from 10 to 100 kHz). As a result of ^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation studies several characteristic relaxation features of endometrial cancer tissue have been revealed. The relaxation markers include the characteristic values of the relaxation rates, the shapes of the frequency dependencies of the spin–lattice relaxation rates and bi-exponentiality of the relaxation processes. The relaxation features have been compared with those for proteins and polymers.

1 | Introduction

According to the National Cancer Registry, endometrial cancer is the most common cancer of the female reproductive system. The most common type is carcinoma of the uterus. In terms of pathogenesis, endometrial cancer has been divided into two subgroups: type I—endometrioid carcinoma (adenocarcinoma, 80%–90%) and type II—non-endometrioid carcinoma [1]. The revised classification (referred to as The Cancer Genome Atlas [TCGA]) distinguishes four molecular subtypes of endometrial cancer differing in the mutation profile, immunogenicity, and prognosis [2–10]. At present, the primary diagnostic tool for the assessment of the endometrium is vaginal ultrasound. Patients with a history of reproductive tract bleeding and the endometrium width of 5 mm or more undergo an invasive diagnosis: endometrial abrasion and aspiration biopsy. In asymptomatic cases and no abnormalities in the endometrial ultrasound image, the width limit is set to 10 mm [1, 11, 12]. Nevertheless, the ultrasound indications for the invasive diagnostics are currently ambiguous. The sensitivity of the invasive diagnostics for detecting endometrial cancer (cumulative value of abrasion and aspiration biopsy) is 89%, and the rate of false-negative results

© 2025 John Wiley & Sons Ltd.

is 10% [13, 14]. There is still a need to develop a non-invasive method with high sensitivity and specificity to detect endometrial cancer, the epidemiology of which shows a steadily increasing incidence.

At the same time, nuclear magnetic resonance (NMR) is considered an extremely powerful, noninvasive diagnostic method. Magnetic resonance imaging (MRI) exploits the difference in the mobility and arrangement of water molecules in healthy and pathological tissues. The dynamical properties of water molecules lead to differences in ^{1}H relaxation rates (spin–lattice and spin–spin relaxation, also referred to as the longitudinal and the transversal relaxation). Classical medical scanners operate at high magnetic fields (high resonance frequencies), typically from 3 to 7 T. Fast field cycling NMR (FFC-NMR) relaxometry makes it possible to perform relaxation experiments in a broad range of resonance frequencies, from 10 kHz to 10 MHz (that corresponds to the range of magnetic fields from about 0.25 mT to 0.25 T) [15]. According to the physical mechanisms of NMR relaxation processes, at lower resonance frequencies, the dominating relaxation contribution is associated with slow molecular dynamics, while with increasing frequency a progressively faster dynamics is probed [16–18]. This implies that using FFC-NMR relaxometry, one can probe dynamical processes occurring on the time scale from 10^{-4} to 10^{-8} s and reveal the underlying mechanism of motion [19–21]. This unique potential of NMR relaxometry has been exploited for molecular and ionic systems of various complexity, liquids [22–24], macromolecules (such as polymers [25, 26] and proteins [21, 27–30]), liquid crystals [31, 32], solids [33, 34], food products [35, 36], and tissues [37–49]. As far as tissues are concerned, examples of frequency-dependent relaxation studies are scarce. NMR relaxometry has been exploited to enquire into the subject of osteoarthritic effects in cartilages [37–40] and for assessing intraoperative margin for breast cancer [41]. One should also point out the insight into relationships between the intracellular and extracellular water dynamics [42–44] and the effort to enquire into the relaxation features of glioma [46, 47]. The studies have also given rise to the concept of combining MRI and FFC-NMR into a prototype scanner operating at a magnetic field that can be varied [40]. It is expected that pathological changes in tissues affect, in the first place, the slow dynamics of the macromolecular fractions of tissues and the strongly bound water molecules. The effect has been demonstrated by some of us for sarcoma [48]. In our recent work [49], ideas of methodological approaches to analyze NMR relaxometry data for tissues have been presented and illustrated by data for colon tissues.

In this work, we intend to deepen the knowledge on the changes in molecular motion and organization caused by pathological changes in tissues by turning attention to endometrial cancer. The ^{1}H spin–lattice FFC-NMR relaxation experiments, performed in the frequency range from 10 kHz to 10 MHz, have been complemented with spin–lattice and spin–spin relaxation data obtained at 18.7 MHz using the so-called time domain (TD-NMR) approach [50, 51]. The term "TD-NMR" stems from the name of the equipment (Section II) and is used in the literature. The experiment can be performed only at a single resonance frequency (18.7 MHz), but one can cover a very broad range of spin–lattice and spin–spin relaxation times. To our knowledge, this is the first example of applying the TD-NMR method to tissues. This comprehensive approach is a step towards revealing how pathological changes alter the dynamics and arrangement of molecules in tissues. Consequently, this brings one closer to fully profiting from the potential of low field MRI with its clinical and economical promises [52, 53], exploring the combination of MRI and the FFC technology [40] and a direct exploitation of FFC relaxometry [41].

2 | Materials and Methods

^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation experiments have been performed for endometrial cancer tissues for 11 patients. For nine patients, two tissue samples have been investigated. The tissue samples were obtained after surgery, and they were not fixed. Effort has been put to perform the experiments without delay; in the meantime, the samples were kept at low temperature (−24°C). All experiments were conducted at 37°C. Two kinds of relaxation experiments have been performed. The first kind includes fast field cycling (FFC-NMR) ^{1}H spin–lattice relaxation experiments performed in the frequency range from 10 kHz to 10 MHz using a STELAR (Mede, Italy) relaxometer. Sixteen magnetization values have been recorded versus time in a logarithmic time scale for each resonance frequency. The second kind includes ^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation experiments performed at 18.7 MHz using the TD-NMR equipment produced by Resonance System GmbH (Kirchheim unter Teck, Germany). The spin–lattice relaxation experiments were performed using a saturation recovery sequence [54] (with the observation time ranging between 4 and 6 s and 6 scans, with 32 logarithmically spaced points), while for the spin–spin relaxation, the CPMG (Carr–Purcell–Meiboom–Gill) sequence [55] was used (with the observation time ranging between 0.3 and 1 s and the number of echoes yielding 1000).

In case of spin–lattice relaxation, the magnetization evolution, $M(t)$, has turned out to be single exponential:

$$M(t) = A\exp\left(-R_1 t\right) + A_0 \tag{1}$$

where R_1 denotes the spin–lattice relaxation rate, while A and A_0 are constants ($M(0) = A + A_0$). The spin–spin relaxation process is bi-exponential, according to the expression:

$$M(t) = A_{slow}\exp\left(-R_{2,slow}t\right) + A_{fast}\exp\left(-R_{2,fast}t\right) \tag{2}$$

where $R_{2,slow}$ and $R_{2,fast}$ denote the spin–spin relaxation rates ($R_{2,slow} < R_{2,fast}$), while A_{slow} and A_{fast} are the corresponding amplitudes of the two relaxation contributions.

The frequency dependence of the spin–lattice relaxation rate, $R_1(\omega)$ (ω denotes the ^{1}H resonance frequency in angular frequency units) has been interpreted using the power-law model characteristic of hydrated proteins and polymers [25, 26, 56–61]:

$$R_1(\omega) = C\omega^{-\alpha} \tag{3}$$

where α is the power-law exponent, while C is a phenomenological pre-factor.

1097458xa, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kwadrajski - PCP/University of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

3 | Results and Analysis

Figure 1 shows ^{1}H spin–lattice relaxation data for 11 patients with endometrium cancer, collected in the frequency range from 10 kHz to 10 MHz using the FFC-NMR method. In Cases 1–9, two samples have been taken for each patient. The data are labelled by the patient number: PX (X = 1, ... 9), with "(1)" and (2)" referring to these two samples. As for Patients 10 and 11, only one sample was taken (per patient), the data are labelled as P10 and P11. The spin–lattice relaxation process has turned out to be single-exponential in the whole frequency range for all patients. To illustrate this effect, in Figures S1 and S2, the values of

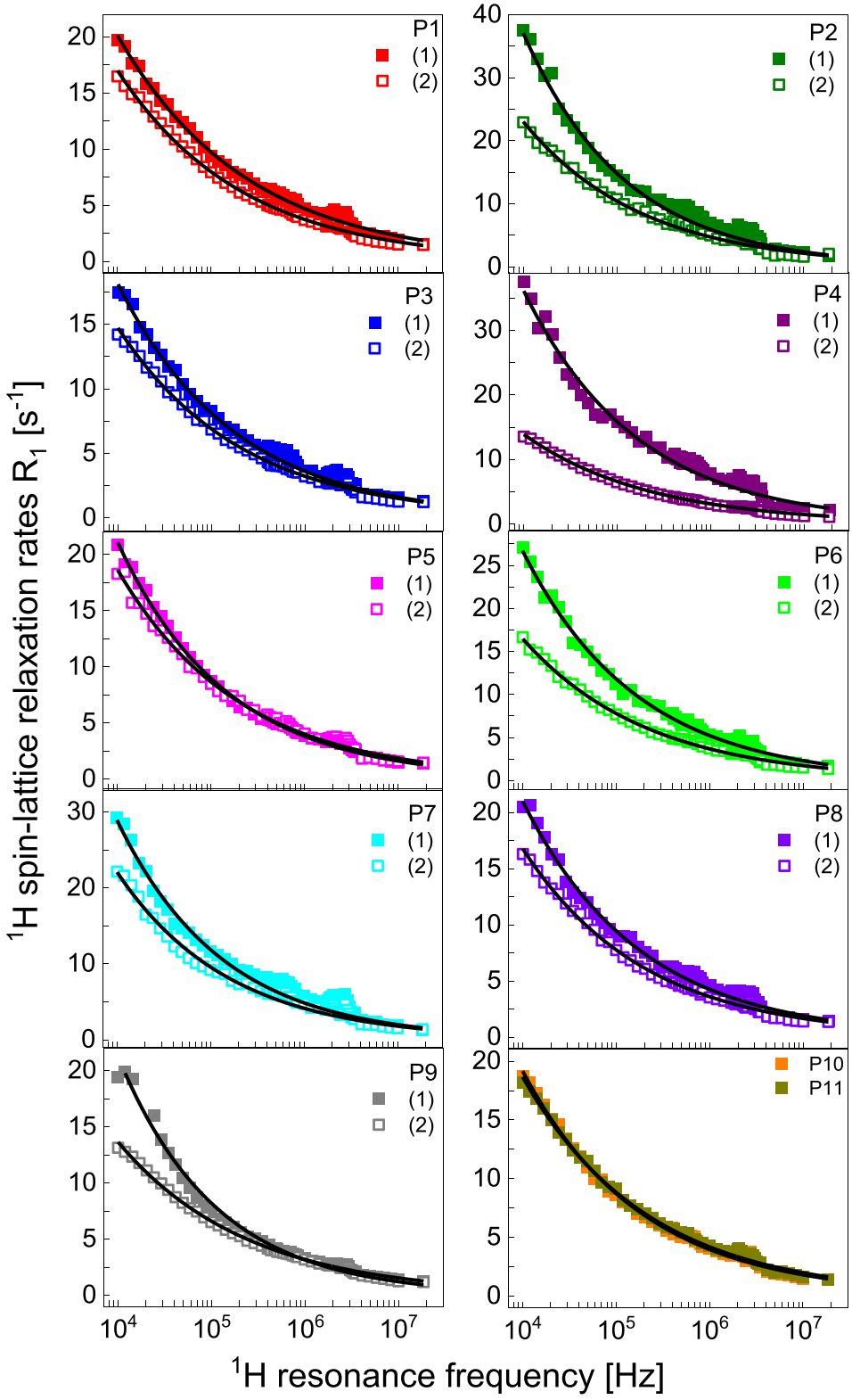


FIGURE 1 | ^{1}H spin–lattice relaxation data for endometrial cancer tissues for 11 patients labelled as: P1, ..., P11 (for patients P1–P9 two samples were taken, labelled as (1) and (2)) reproduced in terms of the power-law expression: $R_1(\omega) = A\omega^{-\alpha}$—solid lines.

1097458x, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Koodziejski - PCP/University of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

^{1}H magnetization versus time (so-called magnetization curves) at about 20 kHz, 100 kHz, 1 MHz, and 10 MHz are presented for patients P1–P9 where one of the cases (1 or 2) was selected. The FFC-NMR data are complemented with the ^{1}H spin–lattice relaxation rates obtained from TD-NMR experiments at 18.7 MHz. These ^{1}H spin–lattice relaxation rates have been obtained as a result of single exponential (Equation 1) fits of the time evolution of the ^{1}H magnetization, shown in Figure 2.

The frequency dependencies of the spin–lattice relaxation rates, $R_1(\omega)$, have been reproduced in terms of the power-law expression (Equation 3). The values of α are collected in Table 1. The values of the power-law parameters, α, give the average of 0.347 with the standard deviation of 0.028; ranging between 0.314 and 0.415. For completeness, the last column of Table 1 includes the values of the pre-factor C—its units depend on α: $[s^{\alpha+1}]$.

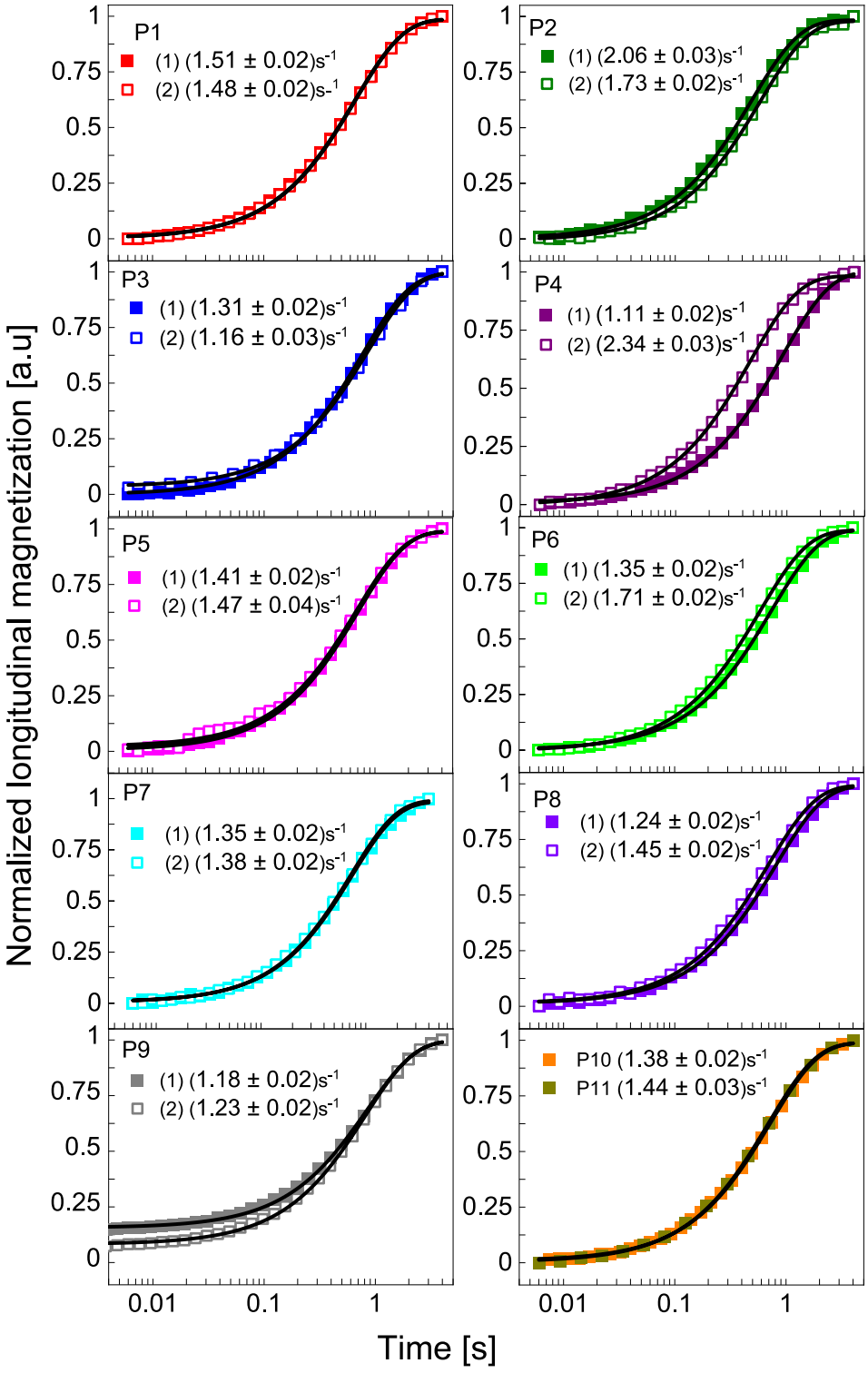


FIGURE 2 | ^{1}H magnetization (the longitudinal component) versus time in spin–lattice relaxation TD-NMR experiments. Solid lines—single exponential fits. The numbers give the spin–lattice relaxation rates.

1097458x, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kozdrzejski - PCPI University of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

TABLE 1 | Values of the parameter α describing the power-law dependence of the ^{1}H spin–lattice relaxation rates on the resonance frequency and of the parameter ξ defined as: $\xi = \frac{R_1(\nu_1) - R_1(\nu_2)}{R_1(\nu_1)}$, where $\nu_1 = 10$ kHz, $\nu_2 = 100$ kHz. Values of the ^{1}H spin–spin relaxation rates obtained from the TD-NMR experiments, $R_{2,slow}$ and $R_{2,fast}$, and the ratio between the corresponding amplitudes of the two relaxation contributions: $r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}}$ (Equation 2). Values of the pre-factor C (Equation 3); the uncertainties of this parameter do not exceed 10%.

Case	α	ξ	$R_{2,slow}$[s^{-1}]	$R_{2,fast}$ [s^{-1}]	$\frac{R_{2,fast}}{R_{2,slow}}$	r	C [$s^{\alpha+1}$]
P1(1)	0.314 ± 0.003	0.52	5.38 ± 0.10	19.61 ± 0.11	3.64	3.45 ± 0.02	651
P1(2)	0.327 ± 0.003	0.52	7.30 ± 0.07	21.28 ± 0.21	2.92	1.16 ± 0.03	634
P2(1)	0.397 ± 0.001	0.62	5.26 ± 0.65	18.18 ± 0.24	3.46	5.96 ± 0.12	3013
P2(2)	0.343 ± 0.005	0.53	17.54 ± 0.52	44.44 ± 1.97	2.53	0.69 ± 0.13	1024
P3(1)	0.349 ± 0.004	0.53	3.97 ± 0.14	14.18 ± 0.09	3.57	4.20 ± 0.04	862
P3(2)	0.329 ± 0.002	0.52	3.45 ± 0.40	9.71 ± 0.14	2.81	4.88 ± 0.16	559
P4(1)	0.357 ± 0.008	0.57	7.87 ± 0.13	39.68 ± 0.18	5.04	7.87 ± 0.02	1882
P4(2)	0.323 ± 0.002	0.52	5.95 ± 0.13	11.31 ± 0.23	1.90	0.90 ± 0.12	467
P5(1)	0.371 ± 0.002	0.58	7.46 ± 0.05	17.98 ± 0.10	2.41	1.17 ± 0.23	1278
P5(2)	0.333 ± 0.003	0.54	8.64 ± 0.17	17.04 ± 0.20	1.97	1.69 ± 0.09	741
P6(1)	0.353 ± 0.004	0.59	4.42 ± 0.02	13.83 ± 0.04	3.13	1.74 ± 0.01	968
P6(2)	0.325 ± 0.003	0.54	9.43 ± 0.10	27.78 ± 0.15	2.95	2.22 ± 0.03	673
P7(1)	0.387 ± 0.008	0.60	5.73 ± 0.12	21.93 ± 0.06	3.82	7.81 ± 0.02	2080
P7(2)	0.363 ± 0.007	0.59	9.35 ± 0.17	29.94 ± 0.09	3.20	8.10 ± 0.03	1218
P8(1)	0.346 ± 0.006	0.56	6.71 ± 0.15	13.61 ± 0.19	2.03	1.44 ± 0.09	968
P8(2)	0.334 ± 0.003	0.52	6.70 ± 0.51	16.39 ± 0.19	2.44	4.74 ± 0.14	673
P9(1)	0.415 ± 0.005	0.62	6.29 ± 0.03	13.77 ± 0.11	2.19	0.63 ± 0.03	2074
P9(2)	0.316 ± 0.002	0.50	6.13 ± 0.04	14.97 ± 0.25	2.44	0.38 ± 0.05	449
P10	0.341 ± 0.003	0.50	10.65 ± 0.12	22.73 ± 0.87	2.13	0.33 ± 0.11	835
P11	0.324 ± 0.003	0.42	2.58 ± 0.09	20.62 ± 0.20	7.99	1.55 ± 0.04	674

It is of interest to note that the ^{1}H spin–lattice relaxation rates converge at the high frequencies, while in the low frequency range they vary; this spread is shown in Figure 3.

As pointed out in [46] to identify the characteristic relaxation features one should rather focus on the shape of the frequency dependencies of the relaxation rates than on the arbitrary values of these rates. Following this concept, we have calculated the relative changes in the ^{1}H spin–lattice relaxation rates in the frequency range from 10 to 100 kHz, expressed as: $\xi = \frac{R_1(\nu_1) - R_2(\nu_1)}{R_1(\nu_1)}$, where $\nu_1 = 10$ kHz, $\nu_2 = 100$ kHz. The ξ and α are correlated—a larger α implies a larger ξ. One should, however, note that to determine the ξ values one needs only two relaxation rates (at ν_1 and at ν_2), while to obtain the α parameter one needs many relaxation rates measured in a broad frequency range. The ξ values are collected in Table 1. The average value of ξ yields 0.54 (with a standard deviation of 0.05), which shows that the relaxation rates decay by a factor of about 2 when the frequency decreases by one decade (from 10 to 100 kHz), and the factor does not show a large spread around the average value.

The ^{1}H spin–lattice relaxation profile (Figure 1) shows quadrupole relaxation enhancement (QRE) effects—frequency specific maxima of the relaxation rates. The QRE effects stem from ^{1}H–^{14}N dipole–dipole interactions [33, 62, 63]. ^{14}N nuclei possess quadrupole moments (as a result of their spin quantum number $S = 1$). Consequently, the energy level structure of ^{14}N nuclei is predominated by the quadrupole coupling. At some magnetic fields, the ^{1}H resonance frequency matches the transition frequencies of ^{14}N nuclei between their energy levels. At these magnetic fields, the ^{1}H magnetization can be (under some conditions) "taken over" by ^{14}N nuclei—this effect manifests itself as a faster relaxation process (a higher relaxation rate).

The presented data show that as far as the ^{1}H spin–lattice relaxation process is concerned, the relaxation scenario for endometrial cancer tissues is similar in all cases. Following this line, Figure 4 shows the outcome of the ^{1}H spin–spin relaxation experiments using TD-NMR. The essential feature of the spin–spin relaxation process is its biexponential nature. The obtained spin–spin relaxation rates, $R_{2,fast}$, $R_{2,slow}$, and the ratio $r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}}$, are included in Table 1.

1097458xa, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kozdzieński - PCPI/University of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

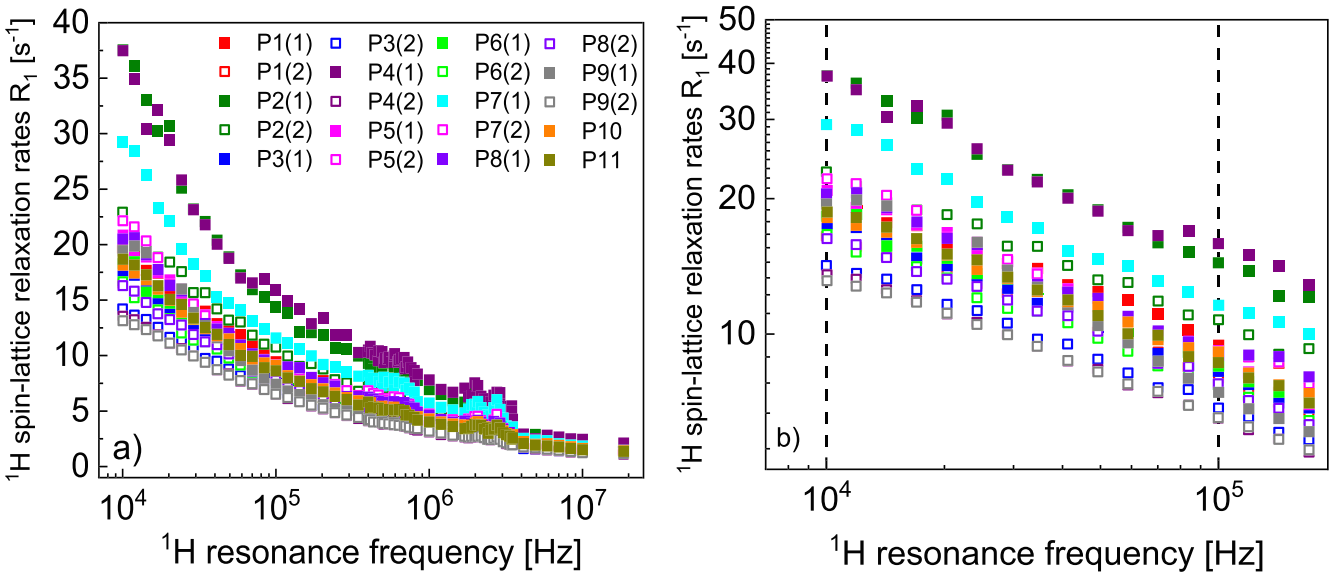


FIGURE 3 | (a) ^{1}H spin–lattice relaxation rates shown in Figure 1 displayed together for the purpose of comparison. (b) The same relaxation data in the frequency range from 10 to 100 kHz, used for calculating the ξ parameter.

Figure 5 shows examples of the time evolution of the magnetization recorded in the spin–spin relaxation experiments (already shown in Figure 4) with decomposed fitted relaxation components into the individual relaxation contributions. The remaining cases are presented in Figure S3.

4 | Discussion

The analysis of the ^{1}H spin–lattice relaxation data (in the frequency range from 10 kHz to 18.7 MHz) shows that in all cases, the shape of the frequency dependencies of the spin–lattice relaxation rates can be reproduced in terms of a power-law function, $R_1(\omega) = C\omega^{-\alpha}$. The value of the α parameter ranges between 0.314 and 0.415, with the average of about 0.35. It is worth to stress at this stage that the characteristic power laws predicted for polymers range between 0.25 for the intermolecular relaxation contribution for the Rouse dynamics and reptation dynamics, via 0.5 for the intra-molecular relaxation contribution for reptation dynamics, to even 0.625 (5/8) and 0.75 for intra-molecular and inter-molecular relaxation contributions, respectively, in the constrained Rouse dynamics regime [25, 26, 59–61]. Power-laws have also been observed for hydrated proteins and attributed to backbone dynamics; the power-laws typically range between 0.5 and 0.8 [56–58], although in [64], a power-law of 0.94 has been found for collagen containing 28% (by weight) of water. The ^{1}H spin–lattice relaxation rates for the endometrium tissue have been reproduced using solely the power-law term, while to reproduce relaxation data for polymers or proteins other relaxation contributions, such as a contribution associate with two-dimensional diffusion of water molecules in the vicinity of the macromolecular surface, was needed [27, 64]. The observed spin–lattice relaxation process can be attributed to water molecules interacting (bound) to the macromolecular fractions of tissues, in analogy to the dynamics of protein backbones in hydrated proteins which were probed indirectly as a result of cross-relaxation effects (transfer of magnetization) between ^{1}H nuclei of water [56–58].

The parameter ξ describing the relative decrease of the values of the ^{1}H spin–lattice relaxation rates in the frequency range from 10 to 100 kHz (with respect to the value at 10 kHz) ranges from 0.42 to 0.62, with the average of 0.54 and the deviation of 0.05.

In the next step, we have turned attention to the ^{1}H spin–spin relaxation data at 18.7 MHz. The first, very important, observation is that the spin–spin relaxation process is bi-exponential in all cases (in contrast to the single-exponential spin–lattice relaxation process). The relatively low values of the ^{1}H spin–spin relaxation rates indicate that they are both rather attributed to water pools of different mobility than to a solid and a liquid fraction. The relaxation rate $R_{2,slow}$ ranges between 2.58 and 17.54 s^{-1} (the ratio between these two extreme values is about 6.8), with the averaged value of 7.04 s^{-1} and the standard deviation of 3.22 s^{-1}. Analogously, the relaxation rate $R_{2,fast}$ varies between 9.71 and 44.44 s^{-1} (the ratio between the values is about 4.6), the averaged values and the standard deviation yield: 20.45 and 9.00 s^{-1}, respectively. As far as the ratio between the relaxation rates, $\frac{R_{2,fast}}{R_{2,slow}}$, is concerned, it varies, in a good approximation, in the range 2–4, except for one case for which it reached 8 (due to the small value of $R_{2,slow} = 2.58$ s^{-1}). It is also of interest to note the ratio between the amplitudes of the spin–spin relaxation components, $r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}}$. The spread of this parameter is large; however, in only five cases A_{fast} exceed A_{slow}. The slower spin–spin relaxation contribution might be considered as counterpart of the spin–lattice relaxation process and, hence, also attributed to water molecules bound to the macromolecular fractions of tissues. The faster spin–spin relaxation contribution could then be associated with hydrogen atoms belonging to the macromolecules. Faster spin–spin relaxation is observed for slower dynamics (assuming comparable dipolar relaxation constants), which is expected for macromolecules (compared with the water fraction). One should, however, treat this concept as a hypothesis.

The presented analysis reveals two main characteristic relaxation features of endometrium tissue. The first one is the power-law

1097458xa, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kwadziejski - PCPUniversity of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

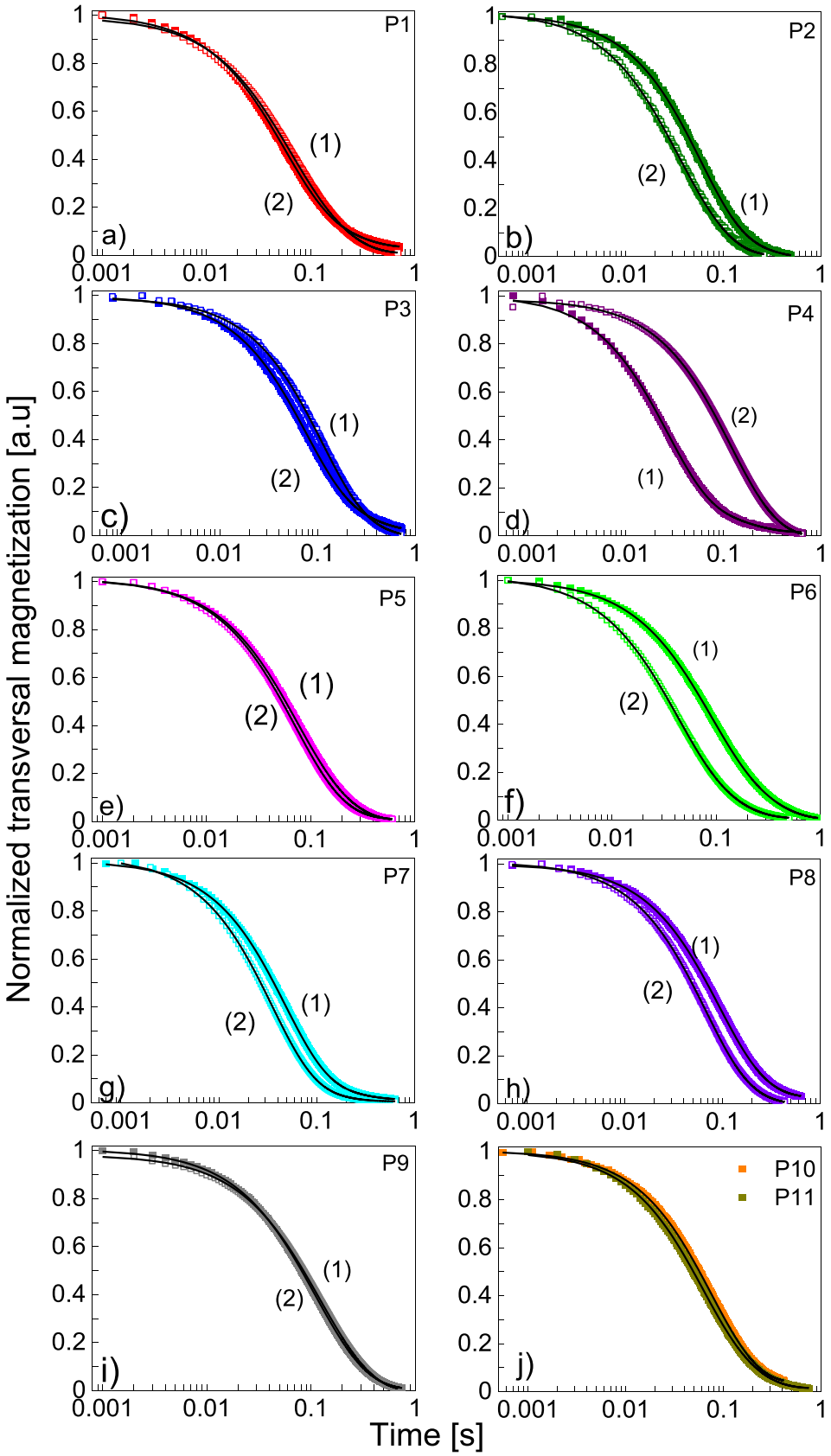


FIGURE 4 | ^{1}H magnetization (the transversal component) versus time in spin–spin relaxation TD-NMR experiments. Solid lines—biexponential fits.

10974583a, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kwodziejski - PCPI/University of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

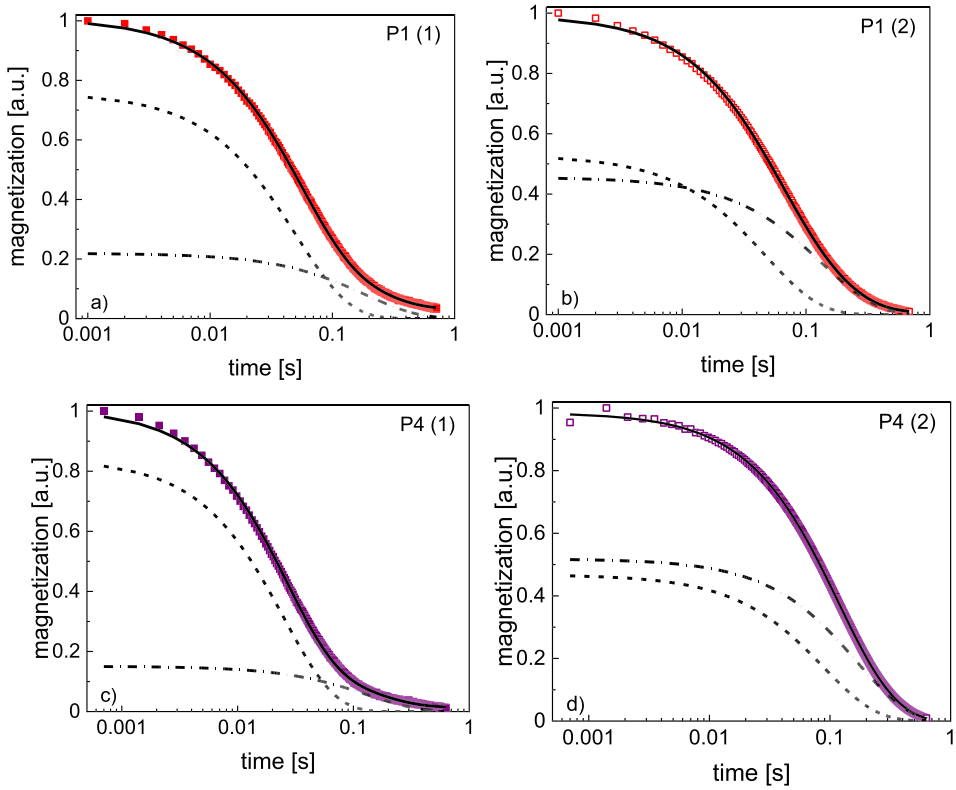


FIGURE 5 | Examples of ^{1}H magnetization (the transversal component) versus time in TD-NMR spin–spin relaxation experiments. Solid lines—biexponential fits (already shown in Figure 4) decomposed into a faster relaxation component ($R_{2,fast}$)—dashed lines and a slower relaxation component ($R_{2,slow}$)—dashed-dotted line.

dependence of the spin–lattice relaxation rates on the resonance frequency in the broad frequency range, from 10 kHz to 18.7 MHz. The α values vary in a narrow range and the power-law function is sufficient to fully reproduce the data in all cases. The second one is the bi-exponential character of the spin–spin relaxation process combined with the $\frac{R_{2,fast}}{R_{2,slow}}$ ratio ranging between 2 and 4 (in a good approximation, except of one case).

5 | Conclusions

As a result of ^{1}H spin–lattice relaxation studies performed on 20 samples (11 patients) of endometrial cancer tissue in the frequency range from 10 kHz to 10 MHz, complemented by ^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation measurements at 18.7 MHz, several characteristic relaxation features of endometrial cancer tissue have been revealed. The ^{1}H spin–lattice relaxation rates vary from about 40 s^{-1} at 10 kHz to about 1 s^{-1} at 18.7 MHz (although in most cases, the low frequency value is closer to about 20 s^{-1}) and their frequency dependence can be described by a power-law function with the exponent of about 0.35. This value lies between 0.25 and 0.50 (can be treated as an average), which are characteristic of the inter-molecular and intra-molecular relaxation contributions, respectively, for the reptation dynamics of polymers. The spin–spin relaxation process at 18.7 MHz is bi-exponential with the ratio between the relaxation rates ranging between about 2 and 4 (except in one case). The spin–spin relaxation rates vary between about 40 s^{-1} (the highest $R_{2,fast}$) and about 3 s^{-1} (the lowest $R_{2,slow}$), and in most cases, the amplitude of the faster contribution is higher. The studies can be seen as a step towards revealing the relaxation properties of tissues in order to benefit from low-field NMR methods in medical diagnostics.

Ethics Statement

The ethical approval was granted by the Bioethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland (No. 27/2023). Informed written consent was obtained from all participants who were patients undergoing the surgery at the Municipal Polyclinical Hospital in Olsztyn.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available in Zenodo at https://doi.org/10.5281/zenodo.14732640.

Peer Review

The peer review history for this article is available at https://www.webofscience.com/api/gateway/wos/peer-review/10.1002/mrc.70047.

References

1. J. V. Bokhman, "Two Pathogenetic Types of Endometrial Carcinoma," *Gynecologic Oncology* 15 (1983): 10–17.

10974458x, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kwodziejski - PCPUniversity of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

2. WHO Classification of Tumors. Editorial Board, *Female Genital Tumors*, vol. 14, 5th ed. (WHO Classification of Tumors Series; International Agency for Research on Cancer, 2020), https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-020117-043609.

3. D. W. Bell and L. H. Ellenson, "Molecular Genetics of Endometrial Carcinoma," *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 14 (2019): 339–367.

4. E. Deolet, J. Van Dorpe, and K. Van De Vijver, "Mesonephric-Like Adenocarcinoma of the Endometrium: Diagnostic Advances to Spot This Wolf in Sheep's Clothing, A Review of the Literature," *Journal of Clinical Medicine* 10 (2021): 698.

5. M. F. Melhem and H. Tobon, "Mucinous Adenocarcinoma of the Endometrium: A Clinico-Pathological Review of 18 Cases," *International Journal of Gynecological Pathology* 6 (1987): 347–355.

6. R. J. Jalloul, M. A. Elshaikh, R. Ali-Fehmi, et al., "Mucinous Adenocarcinoma of the Endometrium," *International Journal of Gynecological Cancer* 22 (2012): 812–818.

7. C. Zhang, H. Zhang, L. Yang, et al., "Primary Squamous Cell Carcinoma of the Endometrium in a Woman of Perimenopausal Age: A Case Report," *Medicine* 97 (2018): e13418.

8. D. A. Levine and The Cancer Genome Atlas Research Network, "Integrated Genomic Characterization of Endometrial Carcinoma," *Nature* 497 (2013): 67–73.

9. J. Huvila, J. Pors, E. F. Thompson, and C. B. Gilks, "Endometrial Carcinoma: Molecular Subtypes, Precursors and the Role of Pathology in Early Diagnosis," *Journal of Pathology* 253 (2021): 355–365.

10. M. Alexa, A. Hasenburg, and M. J. Battista, "The TCGA Molecular Classification of Endometrial Cancer and Its Possible Impact on Adjuvant Treatment Decisions," *Cancers* 13 (2021): 1478.

11. L. Valentin, "Imaging Techniques in the Management of Abnormal Vaginal Bleeding in Non-Pregnant Women Before and After Menopause," *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 28 (2014): 637–654.

12. N. Colombo, C. Creutzberg, F. Amant, et al., "ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-Up," *Annals of Oncology* 27 (2016): 16–41.

13. C. Taraboanta, H. Britton, A. Plotkin, N. Azordegan, P. B. Clement, and C. B. Gilks, "Performance Characteristics of Endometrial Sampling in Diagnosis of Endometrial Carcinoma," *International Journal of Gynecological Pathology* 39 (2020): 19–25.

14. T. J. Clark, C. H. Mann, N. Shah, K. S. Khan, F. Song, and J. K. Gupta, "Accuracy of Outpatient Endometrial Biopsy in the Diagnosis of Endometrial Cancer: A Systematic Quantitative Review," *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 109 (2002): 313–321.

15. R. Kimmich, ed., *Field-Cycling NMR Relaxometry: Instrumentation, Model Theories and Applications* (Royal Society of Chemistry, 2018).

16. C. P. Slichter, *Principles of Magnetic Resonance*, 3rd ed. (Springer, 1990).

17. D. Kruk, *Understanding Spin Dynamics* (Jenny Stanford Publishing, 2015).

18. J. Kowalewski and L. Mäler, *Nuclear Spin Relaxation in Liquids: Theory, Experiments, and Applications*, 2nd ed. (Taylor & Francis, 2018).

19. D. Kruk and M. Florek-Wojciechowska, "Recent Developments in ^{1}H NMR Relaxometry," in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, vol. 99, ed. G. A. Webb (Elsevier, 2020), 119–184.

20. J.-P. Korb, "Multiscale Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion of Complex Liquids in Bulk and Confinement," *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 104 (2018): 12–55.

21. G. Parigi, E. Ravera, M. Fragai, and C. Luchinat, "Unveiling Protein Dynamics in Solution With Field-Cycling NMR Relaxometry," *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 124–125 (2021): 85–98.

22. A. Ordikhani Seyedlar, S. Stapf, and C. Mattea, "Nuclear Magnetic Relaxation and Diffusion Study of the Ionic Liquids 1-Ethyl- and 1-Butyl-3-methylimidazolium Bis(trifluoromethylsulfonyl)imide Confined in Porous Glass," *Magnetic Resonance in Chemistry* 57 (2019): 818–828.

23. K. Pilar, A. Rua, S. N. Suarez, et al., "Investigation of Dynamics in BMIM TFSA Ionic Liquid Through Variable Temperature and Pressure NMR Relaxometry and Diffusometry," *Journal of the Electrochemical Society* 164 (2017): H5189–H5196.

24. D. Kruk, E. Masiewicz, R. Markiewicz, and R. K. Singh, "Dynamics of Ionic Liquids by Means of Nuclear Magnetic Resonance Relaxation—Overview of Theoretical Approaches," *Physical Chemistry Chemical Physics* 26 (2024): 27248–27259.

25. R. Kimmich and N. Fatkullin, "Polymer Chain Dynamics & NMR," *Advances in Polymer Science* 170 (2004): 1–113.

26. R. Kimmich and E. Anoardo, "Field-Cycling NMR Relaxometry," *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 44 (2004): 257–320.

27. D. Kruk, A. Kasparek, E. Masiewicz, K. Kolodziejski, R. Cybulski, and B. Nowak, "Water Dynamics in Highly Concentrated Protein Systems—Insight From Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry," *International Journal of Molecular Sciences* 24 (2023): 4093.

28. R. G. Bryant, "Dynamics of Water in and Around Proteins Characterized by ^{1}H-Spin-Lattice Relaxometry," *Comptes Rendus Physique* 11 (2010): 128–135.

29. E. Ravera, G. Parigi, A. Mainz, T. L. Religa, B. Reif, and C. Luchinat, "Experimental Determination of Microsecond Reorientation Correlation Times in Protein Solutions," *Journal of Physical Chemistry B* 117 (2013): 3548–3553.

30. A. Kubrak, R. Pejanovic, K. Kamau, D. Kruk, F. Ferrage, and G. Parigi, "Field-Dependent Relaxation Profiles of Biomolecular Systems," *Physical Chemistry Chemical Physics* 27 (2025): 1756–1771.

31. D. Kruk, E. Umut, E. Masiewicz, R. Fischer, and H. Scharfetter, "Multi-Quantum Quadrupole Relaxation Enhancement Effects in ^{209}Bi Compounds," *Journal of Chemical Physics* 150 (2019): 184309.

32. P. J. Sebastiao, A. Gradišek, L. F. V. Pinto, T. Apih, M. H. Godinho, and M. Vilfan, "Fast Field-Cycling NMR Relaxometry Study of Chiral and Nonchiral Nematic Liquid Crystals," *Journal of Physical Chemistry B* 115 (2011): 14348–14358.

33. A. Gradišek, V. Domenici, T. Apih, V. Novotná, and P. J. Sebastiao, "^{1}H NMR Relaxometric Study of Molecular Dynamics in a "de Vries" Liquid Crystal," *Journal of Physical Chemistry B* 120 (2016): 4706–4714.

34. S. Khatibi, M. Ostadhassan, Z. H. Xie, et al., "NMR Relaxometry a New Approach to Detect Geochemical Properties of Organic Matter in Tight Shales," *Fuel* 235 (2019): 167–177.

35. H. I. Fakhar, A. Kasparek, K. Kolodziejski, et al., "Universal ^{1}H Spin–Lattice NMR Relaxation Features of Sugar—A Step Towards Quality Markers," *Molecules* 29 (2024): 2422.

36. L. Grunin, M. Ivanova, V. Schiraya, and T. Grunina, "Time-Domain NMR Techniques in Cellulose Structure Analysis," *Applied Magnetic Resonance* 54 (2023): 929–955.

37. I. A. Rankin, L. M. Broche, R. James, et al., "Fast-Field Cycling Magnetic Resonance Imaging—Developing a New Biomarker for Early Osteoarthritis of the Knee," *Osteoarthritis and Cartilage* 26 (2018): S467.

10974558x, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kwadzieljski - PCPI/University of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

38. L. M. Broche, P. James Ross, B. W. C. Kennedy, C. F. MacEachern, D. J. Lurie, and G. P. Ashcroft, "A New Method for Investigating Osteoarthritis Using Fast Field-Cycling Nuclear Magnetic Resonance," *Physica Medica* 88 (2021): 142–147.

39. O. V. Petrov and S. Stapf, "Multicomponent Analysis of T_1 Relaxation in Bovine Articular Cartilage at Low Magnetic Fields," *Magnetic Resonance in Medicine* 81 (2019): 2858–2868.

40. L. M. Broche, P. J. Ross, G. R. Davies, M.-J. MacLeod, and D. J. Lurie, "A Whole-Body Fast Field-Cycling Scanner for Clinical Molecular Imaging Studies," *Scientific Reports* 9 (2019): 10402.

41. V. Bitonto, M. R. Ruggiero, A. Pittaro, et al., "Low-Field NMR Relaxometry for Intraoperative Tumour Margin Assessment in Breast-Conserving Surgery," *Cancers* 13 (2021): 4141.

42. M. R. Ruggiero, S. Baroni, S. Pezzana, G. Ferrante, S. Geninatti Crich, and S. Aime, "Evidence for the Role of Intracellular Water Lifetime as a Tumour Biomarker Obtained by In Vivo Field-Cycling Relaxometry," *Angewandte Chemie, International Edition* 57 (2018): 7468–7472.

43. M. R. Ruggiero, S. Baroni, V. Bitonto, et al., "Intracellular Water Lifetime as a Tumor Biomarker to Monitor Doxorubicin Treatment via FFC-Relaxometry in a Breast Cancer Model," *Frontiers in Oncology* 11 (2021): 778823.

44. S. Baroni, M. R. Ruggiero, S. Aime, and S. Geninatti Crich, "Exploring the Tumour Extracellular Matrix by In Vivo Fast Field Cycling Relaxometry After the Administration of a Gadolinium-Based MRI Contrast Agent," *Magnetic Resonance in Chemistry* 57 (2019): 845–851.

45. M. R. Ruggiero, S. Baroni, S. Aime, and S. G. Crich, "Relaxometric Investigations Addressing the Determination of Intracellular Water Lifetime: A Novel Tumour Biomarker of General Applicability," *Molecular Physics* 117 (2019): 968–974.

46. M. Petit, M. Leclercq, S. Pierre, et al., "Fast-Field-Cycling NMR at Very Low Magnetic Fields: Water Molecular Dynamic Biomarkers of Glioma Cell Invasion and Migration," *NMR in Biomedicine* 35 (2022): e4677.

47. M. R. Ruggiero, H. Ait Itto, S. Baroni, et al., "Role of Transmembrane Water Exchange in Glioma Invasion/Migration: In Vivo Preclinical Study by Relaxometry at Very Low Magnetic Field," *Cancers* 14 (2022): 4180.

48. E. Masiewicz, G. P. Ashcroft, D. Boddie, S. R. Dundas, D. Kruk, and L. M. Broche, "Towards Applying NMR Relaxometry as a Diagnostic Tool for Bone and Soft Tissue Sarcomas: A Pilot Study," *Scientific Reports* 10 (2020): 14207.

49. K. Kołodziejski, E. Masiewicz, A. Alamri, et al., "Markers of Low Field NMR Relaxation Features of Tissues," *Scientific Reports* 14 (2024): 24901.

50. S. Meiboom and D. Gill, "Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times," *Review of Scientific Instruments* 29 (1958): 688–691.

51. G. Acri, C. Sansotta, E. V. Ruello, L. Denaro, F. M. Salmeri, and B. Testagrossa, "The Use of Time Domain NMR in Food Analysis: A Review," *Current Nutrition & Food Science* 17 (2021): 558–565.

52. M. Hori, A. Hagiwara, M. Goto, A. Wada, and S. Aoki, "Low-Field Magnetic Resonance Imaging: Its History and Renaissance," *Investigative Radiology* 56 (2021): 669–679.

53. T. C. Arnold, C. W. Freeman, B. Litt, and J. M. Stein, "Low-Field MRI: Clinical Promise and Challenges," *Magnetic Resonance Imaging* 57 (2023): 25–44.

54. S. U. Schumacher, B. Rothenhäusler, A. Willmann, J. Thun, R. Moog, and M. Kuentz, "Time Domain NMR as a New Process Monitoring Method for Characterization of Pharmaceutical Hydrates," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 137 (2017): 96–103.

55. H. Ratiney, M. J. Albers, H. Rabeson, and J. Kurhanewicz, "Semi-Parametric Time-Domain Quantification of HR-MAS Data From Prostate Tissue," *NMR in Biomedicine* 23 (2010): 1146–1157.

56. L. Calucci and C. Forte, "Proton Longitudinal Relaxation Coupling in Dynamically Heterogeneous Soft Systems," *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 55 (2009): 296–323.

57. R. G. Bryant and J.-P. Korb, "Nuclear Magnetic Resonance and Spin Relaxation in Biological Systems," *Magnetic Resonance Imaging* 23 (2005): 167–173.

58. S. Kiihne and R. G. Bryant, "Protein-Bound Water Molecule Counting by Resolution of ^{1}H Spin-Lattice Relaxation Mechanisms," *Biophysical Journal* 78 (2000): 2163–2169.

59. B. Kresse, M. Hofmann, A. F. Privalov, N. Fatkullin, F. Fujara, and E. A. Rossler, "All Polymer Diffusion Regimes Covered by Combining Field-Cycling and Field-Gradient ^{1}H NMR," *Macromolecules* 48 (2015): 4491–4502.

60. A. Bormuth, M. Hofmann, P. Henritzi, M. Vogel, and E. A. Rossler, "Chain-Length Dependence of Polymer Dynamics: A Comparison of Results From Molecular Dynamics Simulations and Field-Cycling ^{1}H NMR," *Macromolecules* 46 (2013): 7805–7811.

61. M. Hofmann, B. Kresse, A. F. Privalov, et al., "Field-Cycling NMR Relaxometry Probing the Microscopic Dynamics in Polymer Melts," *Macromolecules* 47 (2014): 7917–7929.

62. D. Kruk, E. Masiewicz, M. Wojciechowski, M. Florek-Wojciechowska, L. M. Broche, and D. J. Lurie, "Slow Dynamics of Solid Proteins—Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry Versus Dielectric Spectroscopy," *Journal of Magnetic Resonance* 314 (2020): 106721.

63. P. H. Fries and E. Belorizky, "Simple Expressions of the Nuclear Relaxation Rate Enhancement due to Quadrupole Nuclei in Slowly Tumbling Molecules," *Journal of Chemical Physics* 143 (2015): 044202.

64. E. Masiewicz, F. Ullah, A. Mieloch, J. Godlewski, and D. Kruk, "Dynamical Properties of Solid and Hydrated Collagen: Insight From Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry," *Journal of Chemical Physics* 160 (2024): 165101.

Supporting Information

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section. **Figure S1:** Examples of ^{1}H magnetization (the longitudinal component) versus time in the FFC-NMR spin–lattice experiments (P1(1)—P9(1) and P10). Solid lines—single—exponential fits. The top time axis corresponds to the frequencies of 20 kHz, 100 kHz and 1 MHz, while the bottom one to 10 MHz. **Figure S2:** Examples of ^{1}H magnetization (the longitudinal component) versus time in the FFC-NMR spin–lattice experiments (P1(2)—P9(2) and P11). Solid lines—single—exponential fits. The top time axis corresponds to the frequencies of 20 kHz, 100 kHz and 1 MHz, while the bottom one to 10 MHz. **Figure S3:** Examples of ^{1}H magnetization (the transversal component) versus time in TD-NMR spin–spin relaxation experiments. Solid lines—biexponential fits (already shown in Figure 4) decomposed into a faster relaxation component ($R_{2,fast}$)—dashed lines and a slower relaxation component ($R_{2,slow}$)—dashed-dotted line. The *R*-square values are higher than = 0.9996.

10974458x, 0, Downloaded from https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047 by Karol Kwodziejski - PCP/University of Warmia , Wiley Online Library on [09/10/2025]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

molecules

MDPI

Article

^{1}H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields

Karol Kołodziejski [1], Farman Ullah [1], Łukasz Klepacki [2], Jerzy Gielecki [2] and Danuta Kruk [1,*]

[1] Department of Physics and Biophysics, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Michała Oczapowskiego 4, 10-719 Olsztyn, Poland; karol.kolodziejski@uwm.edu.pl (K.K.); farman.ullah@uwm.edu.pl (F.U.)
[2] Department of Anatomy and Histology, Faculty of Medicine, Collegium Medicum, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, 10-082 Olsztyn, Poland; lukasz.klepacki@uwm.edu.pl (Ł.K.); jerzy.gielecki@uwm.edu.pl (J.G.)
* Correspondence: danuta.kruk@uwm.edu.pl

Abstract

Proton spin–lattice and spin–spin NMR relaxation studies were conducted on lung tissue samples from 10 patients. For each case, relaxation properties of tumor tissue were compared with those of the corresponding reference tissue. The spin–lattice relaxation measurements were performed over a wide frequency range, from 10 kHz to 10 MHz, spanning three orders of magnitude. These were complemented by both spin–lattice and spin–spin relaxation data acquired at 18.7 MHz. Notably, the spin–spin relaxation process exhibited a bi-exponential character. This relaxation behavior was quantitatively analyzed using dedicated models to achieve two main goals: to evaluate the diagnostic potential of low-field NMR relaxometry, and to gain insights into the dynamics of water and macromolecules in tissue, in comparison with aqueous solutions of proteins and polymers. The frequency dependence of the spin–lattice relaxation rates was well described by a power-law function, with an exponent of approximately 0.3 closely matching the theoretical prediction for reptation dynamics in polymer systems, associated with the intermolecular relaxation contribution. The combined analysis of spin–lattice and spin–spin relaxation data revealed specific parameters (such as ratios between the relaxation rates or between the amplitudes of individual relaxation components) that can be considered as potential markers of pathological changes affecting molecular dynamics in tissues.

Keywords: NMR relaxation; tissues; dynamics

check for updates

Academic Editor: Igor Zhukov

Received: 26 July 2025
Revised: 15 August 2025
Accepted: 20 August 2025
Published: 7 October 2025

Citation: Kołodziejski, K.; Ullah, F.; Klepacki, Ł.; Gielecki, J.; Kruk, D. ^{1}H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields. *Molecules* **2025**, *30*, 4002. https://doi.org/10.3390/molecules30194002

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

The terms lung cancer or bronchogenic cancer refer to cancers that originate in the lung parenchyma or bronchi [1]. About 90% of cigarette smokers have the highest risk of developing lung cancer. Another risk factor for lung cancer is radiation, which is used to treat breast cancer or non-Hodgkin's lymphoma, among others [2]. Exposure to metals (nickel, chromium) or aromatic hydrocarbons contributes to the development of lung cancer. Independent of cigarette smoking, idiopathic pulmonary fibrosis also increases the risk of developing lung cancer [3]. The pathophysiology of lung cancer is complex and not fully understood. It has been hypothesized that carcinogens, such as continuous exposure to tobacco smoke, which causes dysplasia of the bronchial epithelium, lead to genetic mutations [4]. The most common genetic mutations responsible for the development of lung cancer are MYC, BCL2 and p53, which are responsible for small-cell

lung cancer (SCLC), and EGFR, KRAS and p16 are responsible for non-small-cell lung cancer (NSCLC) [5,6]. Dividing lung cancer into two categories, SCLC and NSCLC, makes it easier to make decisions about the prognosis of the disease and about further treatment [7]. NSCLC is the most common type of lung cancer occurring worldwide [8].

Magnetic Resonance Imaging (MRI) plays a central role in medical diagnostics. MRI exploited differences in quantities referred to as ^{1}H relaxation rates (spin–lattice and spin–spin relaxation rates). MRI is performed at a single (high) magnetic field (resonance frequency)—this is related to the need to maintain a high spatial resolution to detect even very small pathological changes. The quantum-mechanical foundation of spin relaxation implies that at high resonance frequencies, the most efficient relaxation mechanism is associated with fast molecular motion [9]. Consequently, the difference in the relaxation rates exploited in MRI primarily stems from alteration of the motion and arrangement of water molecules, caused by pathological changes in tissues [10]. To enquire into slower molecular motion, one needs to perform relaxation experiments at lower resonance frequencies. Profiting from the Fast Field Cycling (FFC) technology, one can perform relaxation experiments over a broad range of resonance frequencies—at least from 10 kHz to 10 MHz (for ^{1}H nuclei, this corresponds to the range of magnetic fields from 0.25 mT to 0.25 T). This kind of experiment is referred to as NMR relaxometry. In addition to probing molecular motion on the time scale from ms to a tenth of ns, NMR relaxometry makes it possible to reveal the mechanism of the motion. For instance, one can not only distinguish between translational and rotational motion but also differentiate between isotropic (three-dimensional) translation diffusion and restricted diffusion on surfaces (two-dimensional diffusion) [11,12]. The unique advantages of NMR relaxometry have been greatly appreciated in molecular science, providing insight into the timescale and mechanisms of molecular and ionic motion in a variety of systems, from liquids to solids, including in this range macromolecular systems (proteins, polymers) [13–16], food products [17,18], nanocomposites and other nanoparticle systems [19]. There are also examples of NMR relaxometry studies of tissues—tissues can be described as complex, heterogeneous systems including macromolecular fractions and water molecules. Thus, it is only natural that, eventually, tissues have also become the subject of NMR relaxometry studies, especially in the context of possible diagnostic applications. Nevertheless, examples of NMR relaxometry studies of tissues are rare. One should point out here the attempt to assess intraoperative margins for breast cancer and reveal the characteristic relaxation features of glioma [20–23]. NMR relaxometry has also given a unique insight into relationships between the intracellular and extracellular water dynamics in tissues [24,25]. One should also turn attention to the subject of osteoarthritic effects in cartilages [26,27]. The NMR relaxometry studies of sarcoma (authored by some of us) show that pathological changes in tissues affect the slow dynamics of macromolecules and the bound water fraction [28]. Following this line, in our recent work, we have presented a methodology for the analysis of NMR relaxometry data for tissues, indicating a set of characteristic relaxation features (markers), using colon tissues as an example [29]. Eventually, it is important to point out that to exploit the diagnostic potential of frequency-dependent relaxation studies, a prototype scanner combining MRI and FFC has been developed [30].

In this work, we address the subject of relaxation properties of lung tissues, including tumor tissues and healthy tissues. For this purpose, in addition to exploiting NMR relaxometry (performing ^{1}H spin–lattice relaxation experiments in the frequency range from 10 kHz to 10 MHz), we have carried out ^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation studies at 18.7 MHz. The inclusion of the spin–spin relaxation studies considerably extends the insight into the molecular motion in tissues. This comprehensive approach contributes to the (limited) knowledge about molecular dynamics and arrangement in tissues and carries a diagnostic potential.

2. Results and Analysis

^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation experiments were conducted on lung cancer tissues. The tissue samples were obtained after surgery, and the experiments started in about 30–40 min after receiving the samples. In case an immediate (after 30–40 min) experiment was not possible, the samples were stored at a low temperature (−24 °C) for a short time (up to 3 h). A total of 2 samples were obtained for patients 1–9 and one sample for patient 10 (this gives 19 samples in total). The sets of two samples (for patients 1–9) include a sample of pathological tissue (tumor) and a sample of tissue obtained from the margin (peri-tumoral). For patient 10, only the sample of pathological tissue was investigated. The histopathological characterization of the tumors is collected in Table 1.

Table 1. Histopathological characterization of the tumors. "SUV" stems from Standardized Uptake Value (PET tomography), and it is a measure of the fraction of the injected radiotracer accumulated in a specific part of the body. SUV is measured only for areas with high metabolism or for regions that appear suspicious for tumors.

Case	SUV	Tumor Size (mm × mm)	Description
P1	2.9	2.8 × 2.8	Organized hematoma
P2	17.3	84 × 30	Squamous cell carcinoma
P3	25.0	48 × 35	Squamous cell carcinoma
P4	19.9	56 × 46	Adenocarcinoma
P5	2.0	25 × 29	Benign tumor from epithelioid cells
P6	9.6	80 × 90	Squamous cell carcinoma
P7	14.2	84 × 57	Adenocarcinoma
P8	12.2	65 × 51	Squamous cell carcinoma
P9	26.7	53 × 50	Pleomorphic lung cancer
P10	12.0	50 × 43	Squamous cell carcinoma

The ^{1}H spin–lattice relaxation data collected by means of FFC-NMR relaxometry are shown in Figure 1 for the individual patients. The data obtained for the pathological samples are denoted as open symbols, and the index "(t)" (for instance, "P5 (t)", denotes patient 5, tumor sample), while the data for the peri-tumoral (reference) samples are represented by solid symbols and the index "(r)". The data sets also include the spin–lattice relaxation rates at 18.7 MHz. The spin–lattice relaxation process has turned out to be single exponential—the corresponding magnetization curves (^{1}H magnetization versus time) are presented in the Supplementary Materials, Figures S1 and S2.

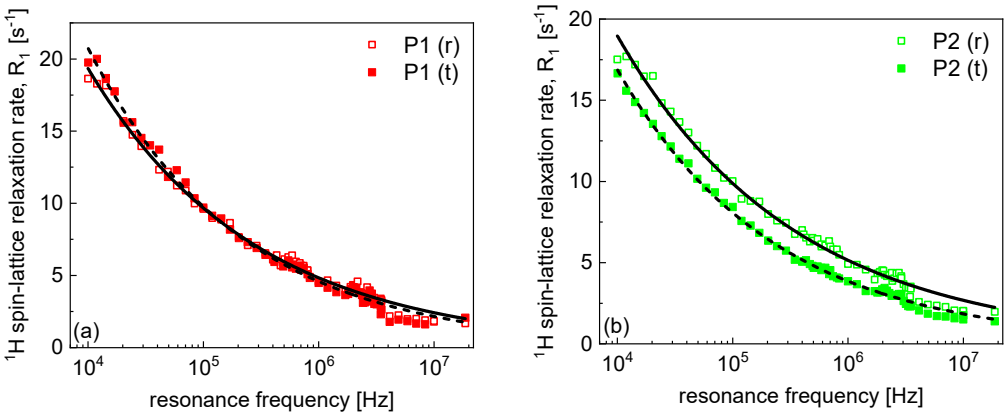


Figure 1. *Cont.*

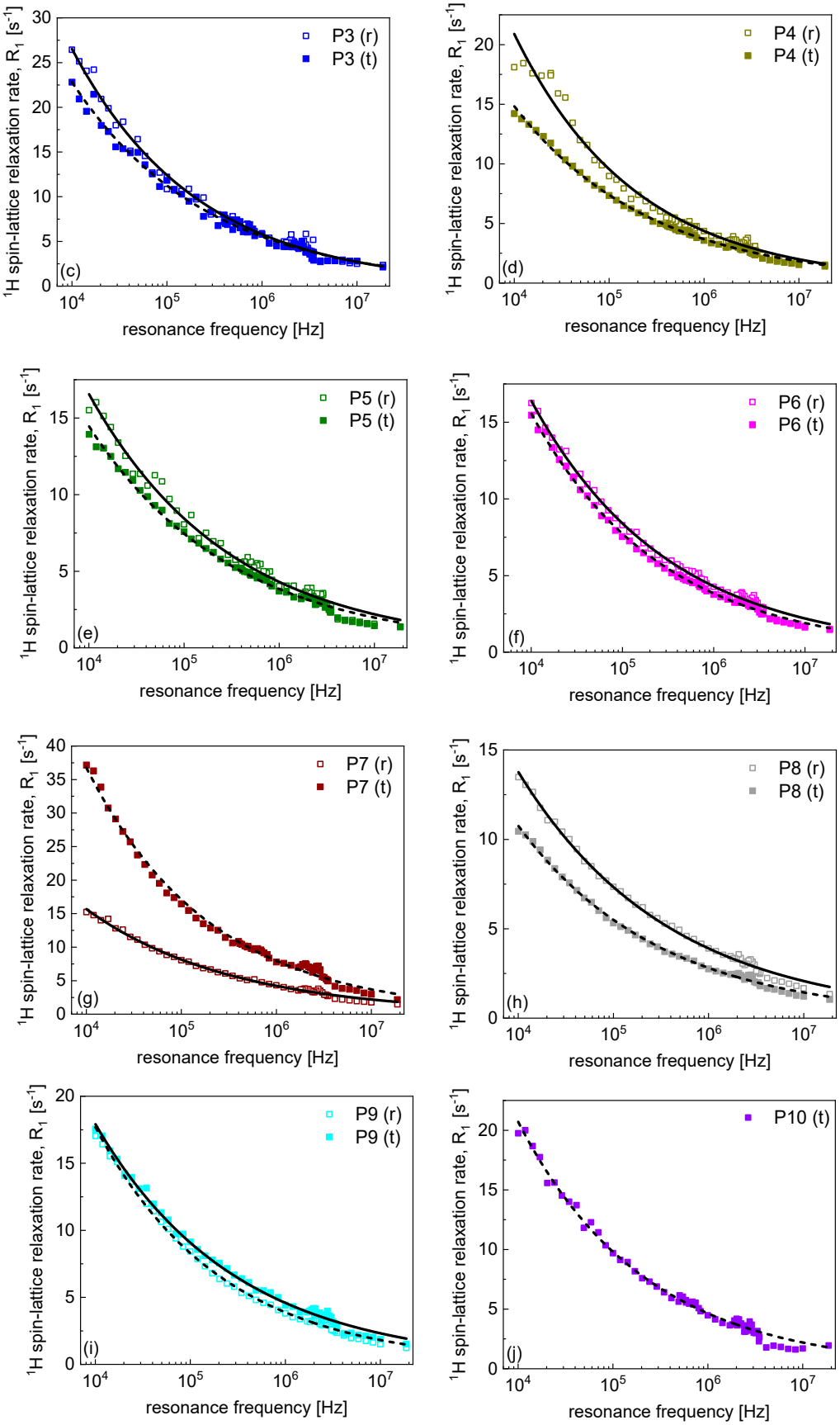


Figure 1. (**a**–**j**) ^{1}H spin–lattice relaxation data for lung tissues. Solid lines and dashed lines—fits in terms of Equation (1) for tumor and reference samples, respectively (R-square values for the fits range between 0.993 and 0.997).

The ^{1}H spin–lattice relaxation rates, $R_1(\omega)$, (ω denotes the resonance frequency in angular frequency units), can be reproduced in the whole frequency range in terms of a power-law function:

$$R_1(\omega) = C\omega^{-\alpha} \quad (1)$$

where α denotes the power-law factor, while C is a phenomenological pre-factor (in $s^{(\alpha-1)}$). The obtained values of α are collected in Table 2.

Table 2. Parameters characterizing ^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation for lung tissues. The parameter ξ defined as $\xi = \frac{R_1(\nu_1)-R_1(\nu_2)}{R_1(\nu_1)}$, where ν_1 = 10 kHz, ν_2 = 100 kHz, while $r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}}$; R_1 denotes the values of the spin–lattice relaxation rate at 18.7 MHz, where the obtained spin–spin relaxation rates at 18.7 MHz are denoted by $R_{2,slow}$ and $R_{2,fast}$. The uncertainties of the average values are represented by stand. dev.

Case	α	ξ [%]	$R_{2,slow}$ [s^{-1}]	$R_{2,fast}$ [s^{-1}]	r [%]	$\frac{R_{2,fast}}{R_{2,slow}}$	$\frac{R_{2,slow}}{R_1}$
P1 (r)	0.30 ± 0.01	48	10.8 ± 0.1	24.1 ± 0.77	46	2.2	6.4
P1 (t)	0.33 ± 0.01	54	5.6 ± 0.2	15.3 ± 0.20	36	2.7	2.7
P2 (r)	0.28 ± 0.01	43	11.99 ± 0.04	37.1 ± 0.89	26	3.1	6.1
P2 (t)	0.32 ± 0.01	55	6.4 ± 0.1	12.4 ± 0.11	38	1.9	4.6
P3 (r)	0.33 ± 0.01	59	7.5 ± 0.1	22.26 ± 0.04	46	3.0	3.2
P3 (t)	0.31 ± 0.01	53	10.11 ± 0.08	31.4 ± 0.3	61	3.2	4.7
P4 (r)	0.33 ± 0.01	50	10.9 ± 0.1	37.3 ± 0.7	81	3.4	7.0
P4 (t)	0.30 ± 0.01	51	7.62 ± 0.06	22.5 ± 0.2	48	2.9	5.4
P5 (r)	0.29 ± 0.01	44	6.72 ± 0.05	15.5 ± 0.2	66	2.3	4.9
P5 (t)	0.29 ± 0.01	49	2.37 ± 0.02	11.04 ± 0.04	20	4.7	1.7
P6 (r)	0.29 ± 0.01	52	6.61 ± 0.08	16.1 ± 0.1	36	2.4	4.4
P6 (t)	0.30 ± 0.01	53	7.49 ± 0.03	18.2 ± 0.2	76	2.4	5.1
P7 (r)	0.28 ± 0.01	49	6.68 ± 0.04	18.8 ± 0.2	88	2.8	4.5
P7 (t)	0.33 ± 0.01	58	5.91 ± 0.06	28.8 ± 0.1	19	4.9	2.7
P8 (r)	0.27 ± 0.01	47	3.91 ± 0.04	12.8 ± 0.1	27	3.3	2.9
P8 (t)	0.29 ± 0.01	51	2.95 ± 0.02	8.40 ± 0.04	35	2.9	2.8
P9 (r)	0.33 ± 0.01	51	4.18 ± 0.04	11.89 ± 0.05	21	2.8	3.4
P9 (t)	0.30 ± 0.01	48	4.38 ± 0.03	14.6 ± 0.1	34	3.3	2.9
P10 (t)	0.33 ± 0.01	52	10.1 ± 0.1	18.8 ± 0.2	66	1.9	5.2
Avg. (t)	0.31 ± 0.02	52 ± 3	6.3 ± 0.2	18.2 ± 0.7	43 ± 19	3.2 ± 0.9	3.7 ± 1.3
Avg. (r)	0.30 ± 0.02	49 ± 4	7.7 ± 0.3	21.8 ± 0.9	49 ± 24	2.8 ± 0.4	4.8 ± 1.4

The power-law factor, The power-law factor, α, ranges between 0.27 and 0.33. This narrow range of the variations implies that there is no statistically relevant difference between the averaged α values for the pathological and reference tissues. One should, however, note that $\alpha = 0.3$ can be considered as a characteristic relaxation property for lung tissues.

Figure 2a includes a comparison of the ^{1}H spin–lattice relaxation rates obtained for all cases. The relaxation rates converge at higher frequencies, showing significant differences in the low frequency range. Therefore, it is of interest to discuss relative changes in the spin–lattice relaxation rates in a specified frequency range, from ν_1 to ν_2, focusing on low frequencies. The relative change (decreasing) of the ^{1}H spin–lattice relaxation rates is given

by a parameter $\xi = \frac{R_1(\nu_1) - R_1(\nu_2)}{R_1(\nu_1)}$. As far as the frequencies are concerned, ν_1 = 10 kHz and ν_2 = 100 kHz have been chosen to cover one order of magnitude in the low frequency range (Figure 2b).

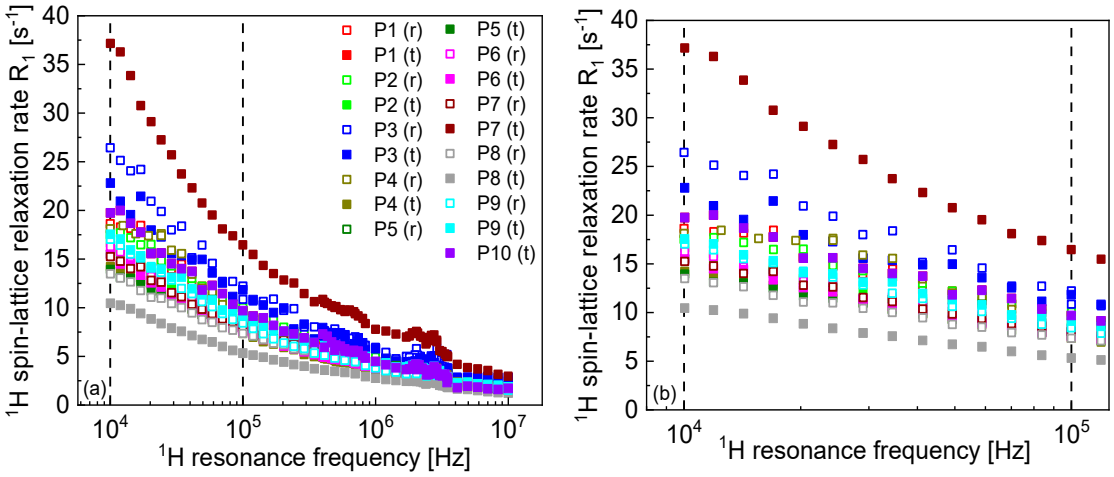


Figure 2. (**a**) Comparison of ^{1}H spin–lattice relaxation rates already shown in Figure 1. Vertical lines mark the frequency range from 10 kHz to 100 kHz. (**b**) Decreasing of the ^{1}H spin–lattice relaxation rates in the indicated frequency range.

The ξ parameter ranges between 43% and 58%—the value is determined by the power-law factor, α. For α of about 0.3, the relaxation rates decrease by about a factor of 2 (50%). It is of interest to inspect the ratio between the ^{1}H spin–lattice relaxation rates for the reference and pathological tissues in the covered frequency range. The ratios for the individual cases are presented in Figure 3. A closer inspection of Figure 1 shows that in the majority of the cases, the ^{1}H spin–lattice relaxation rates for the reference tissues are higher than for the corresponding pathological samples. The relationship is different for P7 (adenocarcinoma)—in this case, the relaxation is much faster for the pathological tissue, and (to some extent) for P9 (pleomorphic lung cancer). In the last case, this effect is, however, much less pronounced. Figure 3a shows the ratio between the relaxation rates for the reference and the pathological tissues for all cases except for P7. The average ratio (Figure 3b) is, in a good approximation, frequency independent (except for the frequency range from about 2 MHz to 4 MHz in which Quadrupole Relaxation Enhancement (QRE) effects are visible), being about 1.15. The ratio for P7 is much different (Figure 3b).

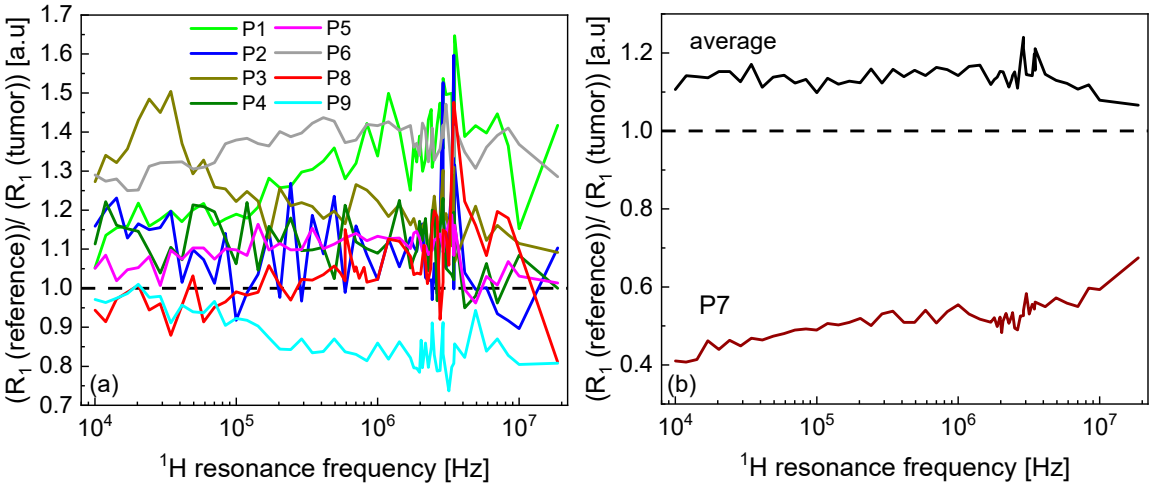


Figure 3. (**a**) Ratio between ^{1}H spin–lattice relaxation rates for reference and pathological tissues for P1–P6, P8 and P9. (**b**) Averaged value of the ratios shown in (**a**) and the ratio for P7.

The QRE effects, which slightly manifest themselves in the spin–lattice relaxation data, stem from ^{1}H-^{14}N dipole–dipole interactions. ^{14}N nuclei possess quadrupole moments (as a result of the spin quantum number 1) and, consequently, their energy level structure is dominated (in the covered frequency range) by the quadrupole coupling. At some magnetic fields, the ^{1}H resonance frequency matches one of the transition frequencies of ^{14}N, and then the ^{1}H magnetization can be taken over by ^{14}N nuclei (under specific conditions, including sufficiently slow time fluctuations of the ^{1}H-^{14}N dipole–dipole interactions), leading to an effective, frequency-specific enhancement of the ^{1}H spin–lattice relaxation. QRE effects (especially the frequency position of the relaxation maxima, often referred to as "quadrupole peaks") are a very sensitive fingerprint of changes in the molecular arrangement (by affecting the electric field gradient at the ^{14}N site) [13,31,32]. In this case, they are only weakly pronounced, likely being obscured by the ^{1}H-^{1}H relaxation contribution. The QRE effects imply the presence of a fraction of hydrogen atoms that are involved in a slow dynamical process (even immobilized), and the frequency position of the quadrupole peaks (this term is often used in the literature) is determined by the value of the electric field gradient tensor at the ^{14}N site. As the effects are weakly pronounced, their quantitative analysis is hardly possible. However, a closer inspection of Figures 1 and 2 (especially the cases of P1, P7 and P10) indicates two groups of quadrupole peaks, suggesting that there are two fractions of ^{14}N nuclei (belonging to different macromolecular compounds present in tissues or different functional groups) undergoing a slow motion.

The ^{1}H spin–lattice relaxation measurements at 18.7 MHz have been complemented by spin–spin relaxation experiments at the same frequency. The spin–spin relaxation process has turned out to be bi-exponential in all cases. Consequently, the time evolution of the ^{1}H magnetization obtained in the spin–spin relaxation experiment has been reproduced using the following expression:

$$M(t) = A_{slow}exp(-R_{2,slow}t) + A_{fast}exp\left(-R_{2,fast}t\right) \quad (2)$$

where $R_{2,slow}$ and $R_{2,fast}$ denote the spin–spin relaxation rates associated with the slower and the faster relaxation contributions, respectively, while A_{slow} and A_{fast} are the corresponding amplitudes. The data are shown in Figure 4 for the individual patients.

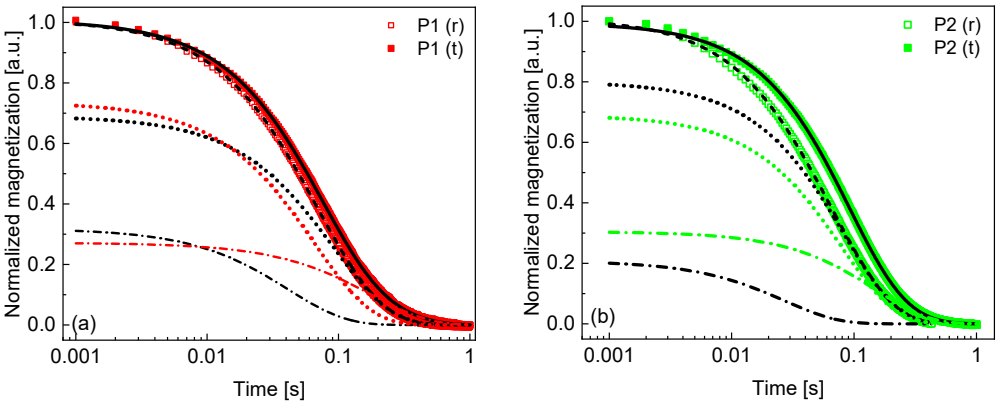


Figure 4. *Cont.*

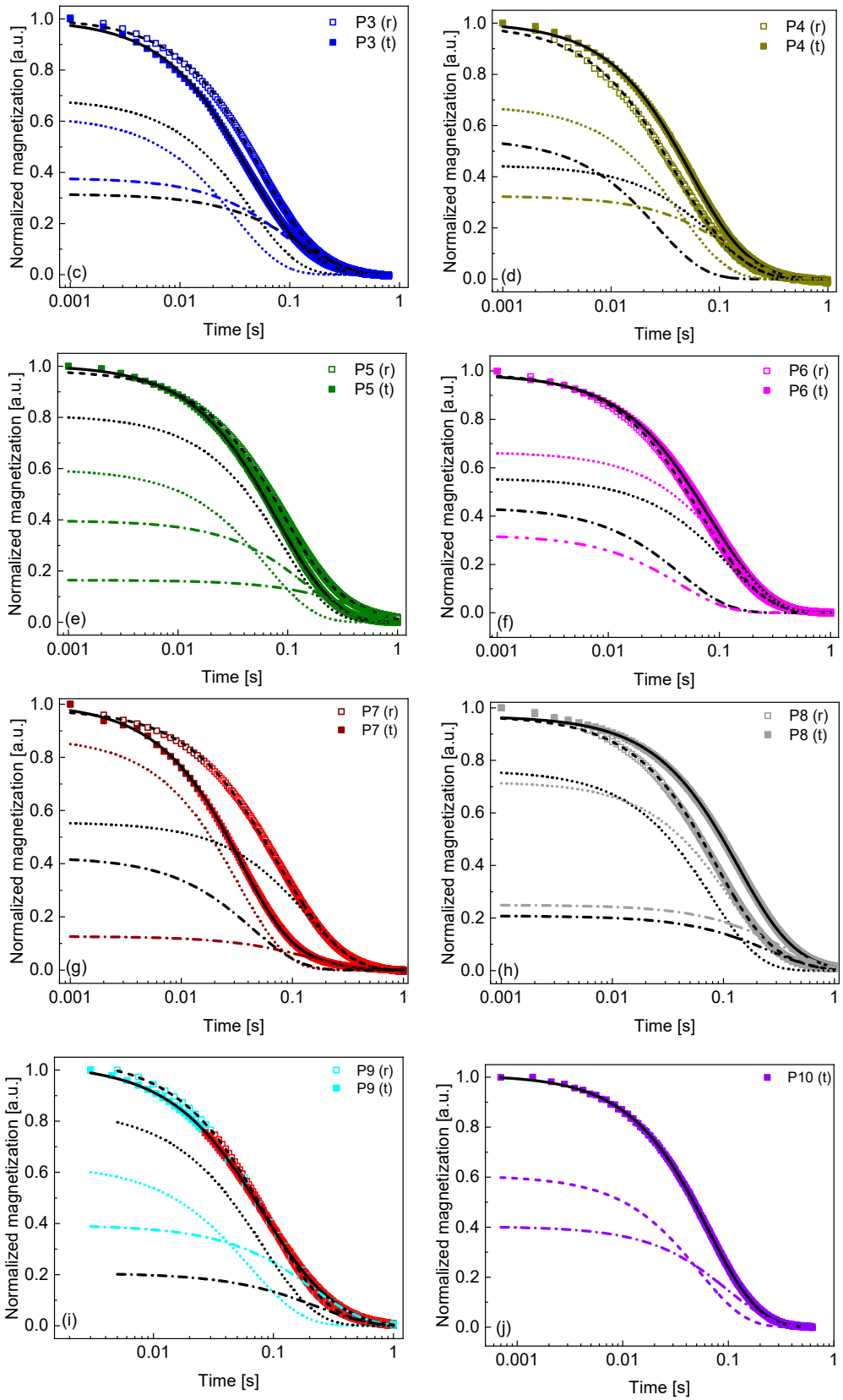


Figure 4. (**a**–**j**) ^{1}H magnetization versus time in spin–spin relaxation experiments at 18.7 MHz for lung tissues. Solid lines—biexponential fits decomposed into two contributions: $R_{2,slow}$—black dotted lines for the reference tissue and color dotted lines for tumors, $R_{2,fast}$—black dashed dotted lines for the reference tissue and color dashed dotted lines for tumors (R-square values for the fits range between 0.998 and 0.999).

3. Discussion

Beginning the discussion with the ^{1}H spin–lattice relaxation effects, the first observation to be made is the power-law dependence of the relaxation rates on the resonance frequency. The power-law factor, α, varies in a narrow range, between 0.27 and 0.33, with the average value of about 0.3. Power-law dependencies of spin–lattice relaxation rates on the resonance frequency have been observed for systems including macromolecular fractions (such as proteins or polymers) and water, and are attributed to the dynamics of the macromolecular backbones reflected by the motion of the bound water molecules. For water solutions (mixtures) of proteins, the power-law factor typically ranges between 0.5 and 0.8 [33–37], although a power-law factor of about 0.94 was reported for water–collagen mixtures including about 40% wt. of collagen [38]. It is worth mentioning that for protein solutions, Lorentzian forms of spectral density functions characteristic of rotation dynamics evolve into power-law forms with increasing protein concentration, as a result of cross-linking leading to their immobilization. As far as polymer systems are concerned, several characteristic power-law regimes have been theoretically predicted (and to some extent, experimentally confirmed). The lowest power-law factor of 0.25 is predicted for the inter-molecular relaxation contribution for the Rouse and reptation dynamics of polymers, then 0.5 for the intra-molecular relaxation contribution in the case of the reptation motion, up to 0.625 (5/8) and 0.75 for the intra-molecular and inter-molecular relaxation contributions, respectively, for constrained Rouse dynamics [39–41]. In comparison, the power-law factor determined for lung tissues is low, and this finding is worth attention. Moreover, to interpret spin–lattice relaxation data for protein and polymer systems over a broad range of frequencies, one needs to include (in the majority of cases) other relaxation contributions—the power-law term is only one of them. For lung tissue, we are able to reproduce the relaxation data entirely in terms of the power-law function. The comparison of the power-law factors shows that this quantity varies in a broad range and reflects different kinds of motion (such as backbone vibrations in proteins or the reptation dynamics of polymers). The common denominator of the power-law dependencies of the relaxation rates on the resonance frequency is, however, a highly restricted dynamic. We prefer not to speculate on this subject, although one might think about the dynamics of strongly bound water molecules reflecting the collective dynamics of the macromolecular fraction, as the reason for this effect.

The pathological tissues have been identified as different kinds of tumors, according to Table 1. The natural question in this context is whether one can distinguish between pathological and reference tissues using the ^{1}H spin–lattice relaxation data. The straightforward answer, based on the cases shown in this work, is no. At the same time, some of the observed effects indicate the diagnostic potential of this approach and should be further explored. One of them is the ratio between the relaxation rates for the reference and the tumor tissues. Excluding the case of P7 (adenocarcinoma), the ratio between the relaxation rates is larger than 1 (the relaxation process for the reference tissue is faster), with pleomorphic lung cancer (P9) showing the opposite effect. It is worth noting that when excluding the P9 case, the ratio between the relaxation rates for the reference and the pathological tissues increases, reaching about 1.2—this can be considered as a step towards diagnostic applications. At the same time, the noticeable decrease in the spin–lattice relaxation rates for pleomorphic lung cancer (compared to the reference tissue) also holds diagnostic promises. Of course, one should not draw any conclusions on the basis of a single case. Following this line, there are two cases of adenocarcinoma: P3 and P7. For P7, the ^{1}H spin–lattice relaxation rates are much lower for the tumor tissue than for the reference one. For P3, the relationship is inverse. However, in both cases, the differences in the relaxation rates are significant, indicating considerable changes in the molecular

dynamics and arrangement that are worth further exploration, as well as from a diagnostic perspective.

At 18.7 MHz, we have also performed ^{1}H spin–spin relaxation experiments. The spin–spin relaxation process is bi-exponential in all cases. This implies the presence of two pools of hydrogen atoms contributing to the relaxation process. The analysis of the magnetisation evolution has led to two spin–spin relaxation rates, $R_{2,slow}$ and $R_{2,fast}$ and a ratio between the amplitudes of these two relaxation contributions: $r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}}$. The $R_{2,slow}$ values range between about 4 s^{-1} and 12 s^{-1}, and for $R_{2,fast}$, the span is from about 8 s^{-1} to 12 s^{-1}, with the ratio between the relaxation rates, $\frac{R_{2,\ fast}}{R_{2,slow}}$, from about 1.9 to 4.9. One might attribute the slower spin–spin relaxation contribution to the fraction of water molecules bound to the macromolecules and then treat the single exponential spin–lattice relaxation process as its counterpart. The ratio $\frac{R_{2,\ slow}}{R_1}$ ranges between 1.7 and 6.1 (fulfilling the condition originating from the quantum-mechanical framework of spin relaxation process that spin–spin relaxation rates are never lower than the corresponding spin–lattice relaxation rates). Then, the spin–spin relaxation process described by $R_{2,\ fast}$ could be attributed to hydrogen atoms belonging to the macromolecular fraction of tissues. A faster spin–spin relaxation process implies a slower molecular motion (assuming that dipolar relaxation constants are comparable), and one can expect a slower dynamic of the macromolecules compared to the motion of the bound water molecules. One should, however, be aware that this attribution remains a hypothesis. The parameter $r = \frac{A_{fast}}{A_{slow}}$ is always lower than 1 (or 100 when expressed in %)—this means that the amplitude of the faster spin–spin relaxation contribution is always lower than the slower one, although the ratio shows a large spread. As far as the lower spin–spin relaxation rate, $R_{2,\ slow}$, is concerned, its averaged value for the tumor tissues (6.3 ± 0.2) s^{-1} is lower than the corresponding averaged value for the reference tissue (7.7 ± 0.3) s^{-1}, and the difference exceeds the uncertainty range. Discussing this ratio, it is worth noticing that freezing can change the relative fractions of water molecules of slow and fast mobility due to lysis.

The presented studies give insight into relaxation properties and, hence, molecular dynamics and organization of tissues. This subject is rarely addressed in the literature (outside of the context of Magnetic Resonance Imaging, focusing on a single, high resonance frequency). Tissues are undoubtedly complex, heterogeneous molecular systems, and frequency-dependent relaxation experiments are a source of information about the molecular motion and organization that cannot be obtained by other methods. The presented examples reveal several characteristic relaxation features of lung tissues, also showing effects that are worth further exploring in the context of diagnostics.

4. Materials and Methods

^{1}H spin–lattice relaxation experiments covering the frequency range from 10 kHz to 10 MHz were performed using a Fast Field Cycling relaxometer produced by STELAR (Mede, Italy). The studies were complemented by ^{1}H spin–lattice and spin–spin relaxation experiments performed at 18.7 MHz using the equipment produced by Resonance Systems (Kirchheim unter Teck, Germany), often referred to as "Time-Domain relaxometer". The experiments were conducted at 37 °C, with an accuracy of 1 °C. Pre-polarization was applied for fields below 4 MHz. The spin–lattice relaxation rates were obtained as a result of mono-exponential fits of magnetisation curves (^{1}H magnetisation versus time). Examples of the magnetisation curves are given in the Supplementary Materials (Figures S1 and S2). The spin–spin relaxation experiments at 18.7 MHz were performed using the Carr–Purcell–Meiboom–Gill (CPMG) sequence [42] with 1000 echoes and 200 scans, while for the corresponding spin–lattice experiments, the Saturation Recovery sequence [43] was applied with the observation time of 4 s and 6 scans. The Supplementary Materials

(Figure S3) include the time evolution of the ^{1}H magnetization recorded in the spin–lattice relaxation experiments at 18.7 MHz, reproduced in terms of a single-exponential function.

5. Conclusions

The analysis of the ^{1}H spin–lattice relaxation data shows that independently of the state of lung tissues (reference, different kinds of tumor), the frequency dependence of the relaxation rates on the resonance frequency follows (in the frequency range from 10 kHz to 18.7 MHz) a power-law function with a factor of about 0.3. The spin–lattice relaxation process is single exponential for all cases in the whole frequency range, and it can be attributed to the fraction of bound water molecules reflecting the dynamics of the macromolecular backbones. At the same time, the spin–spin relaxation process (at 18.7 MHz) has turned out to be bi-exponential in all cases. The spin–lattice relaxation rates characterizing the slower relaxation component range between about 4 s^{-1} and 12 s^{-1}, while for the faster component, the relaxation rates range between about 11 s^{-1} and 37 s^{-1}, with the ratio between the two relaxation rates in the range from 1.9 to 4.9. The amplitude of the faster relaxation contribution is always lower. The slower relaxation component can be treated as a counterpart of the spin–lattice relaxation process, while the faster one can be attributed to the macromolecular fraction of lung tissue. The spin–spin relaxation rates (for both relaxation contributions) are somewhat smaller (outside the uncertainty range) for tumor tissues. As far as the spin–lattice relaxation is concerned, the most pronounced differences between the relaxation rates for the reference and the pathological tissues are observed for adenocarcinoma and pleomorphic lung cancer. Although some of the presented results indicate a diagnostic potential of low-field relaxation data for lung tissues, at this stage, a diagnostic value should not be attributed to the parameters obtained from the quantitative analysis of the data.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/molecules30194002/s1, Figure S1: Examples of ^{1}H magnetization versus time in the FFC-NMR spin-lattice experiments (P1 (t)–P10 (t)). Solid lines—single–exponential fits. The top time axis corresponds to the frequencies of 10 kHz, 100 kHz and 1 MHz, while the bottom one to 10 MHz; Figure S2: Examples of ^{1}H magnetization versus time in the FFC-NMR spin-lattice experiments (P1 (r)–P9 (r)). Solid lines—single–exponential fits. The top time axis corresponds to the frequencies of 10 kHz, 100 kHz and 1 MHz, while the bottom one to 10 MHz; Figure S3: ^{1}H magnetization evolution in spin–lattice relaxation TD-NMR experiments. Solid lines—single exponential fits.

Author Contributions: Conceptualization, D.K.; methodology, K.K. and D.K.; investigation, K.K., F.U., Ł.K. and J.G.; writing—original draft preparation, K.K. and D.K.; writing—review and editing, K.K., F.U., Ł.K., J.G. and D.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Science Centre, Poland, Grant No. 2021/43/B/NZ5/01602.

Institutional Review Board Statement: The study was approved by the *Bioethics Committee of the Faculty of Medicine, Collegium Medicum, University of Warmia and Mazury in Olsztyn*, approval number: 27/2023, 19 March 2023.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all patients involved in the study.

Data Availability Statement: The original data presented in the study are openly available in zenodo at https://doi.org/10.5281/zenodo.16881450.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Siddiqui, F.; Vaqar, S.; Siddiqui, A.H. *Lung Cancer*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2025.
2. Lorigan, P.; Radford, J.; Howell, A.; Thatcher, N. Lung cancer after treatment for Hodgkin's lymphoma: A systematic review. *Lancet Oncol.* **2005**, *6*, 773–779. [CrossRef]
3. Burns, D.M. Primary prevention, smoking, and smoking cessation: Implications for future trends in lung cancer prevention. *Cancer* **2000**, *89*, 2506–2509. [CrossRef] [PubMed]
4. Cagle, P.T.; Allen, T.C.; Olsen, R.J. Lung cancer biomarkers: Present status and future developments. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2013**, *137*, 1191–1198. [CrossRef]
5. Lindeman, N.I.; Cagle, P.T.; Beasley, M.B.; Chitale, D.A.; Dacic, S.; Giaccone, G.; Jenkins, R.B.; Kwiatkowski, D.J.; Saldivar, J.S.; Squire, J.; et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: Guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J. Mol. Diagn.* **2013**, *15*, 415–453. [CrossRef]
6. Lindeman, N.I.; Cagle, P.T.; Aisner, D.L.; Arcila, M.E.; Beasley, M.B.; Bernicker, E.H.; Colasacco, C.; Dacic, S.; Hirsch, F.R.; Kerr, K.; et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment with Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J. Mol. Diagn.* **2018**, *20*, 129–159. [CrossRef]
7. Collins, L.G.; Haines, C.; Perkel, R.; Enck, R.E. Lung cancer: Diagnosis and management. *Am. Fam. Physician* **2007**, *75*, 56–63. [PubMed]
8. Hendriks, L.E.L.; Remon, J.; Faivre-Finn, C.; Garassino, M.C.; Heymach, J.V.; Kerr, K.M.; Tan, D.S.W.; Veronesi, G.; Reck, M. Non-small-cell lung cancer. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2024**, *10*, 71. [CrossRef]
9. Slichter, C.P. *Principles of Magnetic Resonance*, 3rd ed.; Springer: Berlin, Germany, 1990.
10. Chen, C.C.; Wan, Y.L.; Wai, Y.Y.; Liu, H.L. Quality Assurance of Clinical MRI Scanners Using ACR MRI Phantom: Preliminary Results. *J. Digit. Imaging* **2004**, *17*, 279–284. [CrossRef]
11. Levitt, M.H. *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*, 2nd ed.; Wiley: Chichester, UK, 2008.
12. Kruk, D.; Masiewicz, E.; Lotarska, S.; Markiewicz, R.; Jurga, S. Relationship between Translational and Rotational Dynamics of Alkyltriethylammonium-Based Ionic Liquids. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 1688. [CrossRef]
13. Kruk, D.; Masiewicz, E.; Borkowska, A.M.; Rochowski, P.; Fries, P.H.; Broche, L.M.; Lurie, D.J. Dynamics of Solid Proteins by Means of Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry. *Biomolecules* **2019**, *9*, 652. [CrossRef] [PubMed]
14. Bryant, R.G. Dynamics of water in and around proteins characterized by ^{1}H-spin-lattice relaxometry. *C. R. Phys.* **2010**, *11*, 128–135. [CrossRef]
15. Parigi, G.; Ravera, E.; Fragai, M.; Luchinat, C. Unveiling protein dynamics in solution with field-cycling NMR relaxometry. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2021**, *124–125*, 85–98. [CrossRef]
16. Ravera, E.; Parigi, G.; Mainz, A.; Religa, T.L.; Reif, B.; Luchinat, C. Experimental Determination of Microsecond Reorientation Correlation Times in Protein Solutions. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 3548–3553. [CrossRef]
17. Kruk, D.; Grunin, L.; Stankiewicz, A.; Kolodziejski, K.; Ilhan, E.; Oztop, M.H. Molecular Dynamics of Jelly Candies by Means of Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry. *Molecules* **2023**, *28*, 2230. [CrossRef]
18. Kruk, D.; Florek-Wojciechowska, M.; Oztop, M.; Ilhan, E.; Wieczorek, Z. Water dynamics in eggs by means of Nuclear Magnetic Resonance relaxometry. *J. Magn. Reson.* **2021**, *327*, 106976. [CrossRef]
19. Stankiewicz, A.; Kasparek, A.; Masiewicz, E.; Kruk, D. Diffusion of Water Molecules on the Surface of Silica Nanoparticles—Insights from Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry. *J. Phys. Chem. B* **2024**, *128*, 1535–1543. [CrossRef]
20. Bitonto, V.; Ruggiero, M.R.; Pittaro, A.; Castellano, I.; Bussone, R.; Broche, L.M.; Lurie, D.J.; Aime, S.; Baroni, S.; Crich, S.G. Low-Field NMR Relaxometry for Intraoperative Tumour Margin Assessment in Breast-Conserving Surgery. *Cancers* **2021**, *13*, 4141. [CrossRef] [PubMed]
21. Mallikourti, V.; Ross, P.J.; Maier, O.; Hana, K.; Husain, H.; Davies, G.R.; Lurie, D.J.; Lip, G.; Lahrech, H.; Masannat, Y.; et al. Field cycling imaging to characterise breast cancer at low and ultra-low magnetic fields below 0.2 T. *Commun. Med.* **2024**, *4*, 221. [CrossRef] [PubMed]
22. Ruggiero, M.R.; Baroni, S.; Bitonto, V.; Ruiu, R.; Rapisadra, S.; Aime, S.; Crich, S.G. Intracellular Water Lifetime as a Tumor Biomarker to Monitor Doxorubicin Treatment via FFC-Relaxometry in a Breast Cancer Model. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 778823. [CrossRef] [PubMed]
23. Petit, M.; Leclercq, M.; Pierre, S.; Ruggeiro, M.R.; El Atifi, M.; Bouttonat, J.; Fries, P.H.; Berger, F.; Lahrech, H. Fast-field-cycling NMR at very low magnetic fields: Water molecular dynamic biomarkers of glioma cell invasion and migration. *NMR Biomed.* **2022**, *35*, e4677. [CrossRef]
24. Ruggiero, M.R.; Baroni, S.; Aime, S.; Crich, S.G. Relaxometric investigations addressing the determination of intracellular water lifetime: A novel tumour biomarker of general applicability. *Mol. Phys.* **2018**, *117*, 968–974. [CrossRef]

25. Ruggiero, M.R.; Baroni, S.; Pezzana, S.; Ferrante, G.; Crich, S.G.; Aime, S. Evidence for the Role of Intracellular Water Lifetime as a Tumour Biomarker Obtained by In Vivo Field-Cycling Relaxometry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2018**, *57*, 7468–7472. [CrossRef] [PubMed]
26. Broche, L.M.; Ashcroft, G.P.; Lurie, D.J. Detection of osteoarthritis in knee and hip joints by fast field-cycling NMR. *Magn. Reson. Med.* **2012**, *68*, 358–362. [CrossRef]
27. Broche, L.M.; Kennedy, B.W.; MacEachern, C.; Ashcroft, G.P.; Lurie, D.J. Fast field-cycling NMR of cartilage: A way toward molecular imaging. *Osteoarthr. Cartil.* **2014**, *22*, S66–S67. [CrossRef]
28. Masiewicz, E.; Ashcroft, G.P.; Boddie, D.; Boddie, D.; Dundas, S.R.; Kruk, D.; Broche, L.M. Towards applying NMR relaxometry as a diagnostic tool for bone and soft tissue sarcomas: A pilot study. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 14207. [CrossRef] [PubMed]
29. Kolodziejski, K.; Masiewicz, E.; Alamri, A.; Zampetoulas, V.; Samuel, L.; Murray, G.; Lurie, D.J.; Broche, L.M.; Kruk, D. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 24901. [CrossRef]
30. Broche, L.M.; Ross, P.J.; Davies, G.R.; MacLeod, M.-J.; Lurie, D.J. A whole-body Fast Field-Cycling scanner. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 10402. [CrossRef]
31. Gradišek, A.; Domenici, V.; Apih, T.; Novotná, V.; Sebastião, P.J. ^{1}H NMR Relaxometric Study of Molecular Dynamics in a de Vries Liquid Crystal. *J. Phys. Chem. B* **2016**, *120*, 4706–4714. [CrossRef]
32. Fries, P.H.; Belorizky, E. Simple expressions of the nuclear relaxation rate enhancement due to quadrupole nuclei in slowly tumbling molecules. *J. Chem. Phys.* **2015**, *143*, 044202. [CrossRef]
33. Kimmich, R.; Fatkullin, N. Polymer chain dynamics & NMR. *Adv. Pol. Sci.* **2004**, *170*, 1–113. [CrossRef]
34. Kimmich, R.; Anoardo, E. Field-cycling NMR relaxometry. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2004**, *44*, 257–320. [CrossRef]
35. Kresse, B.; Hofmann, M.; Privalov, A.F.; Fatkullin, N.; Fujara, F.; Rössler, E.A. All polymer diffusion regimes covered by combining field-cycling and field-gradient ^{1}H NMR. *Macromolecules* **2015**, *48*, 4491–4502. [CrossRef]
36. Bormuth, A.; Hofmann, M.; Henritzi, P.; Vogel, M.; Rössler, E.A. Chain-length dependence of polymer dynamics: A comparison of results from molecular dynamics simulations and field-cycling ^{1}H NMR. *Macromolecules* **2013**, *46*, 7805–7811. [CrossRef]
37. Hofmann, M.; Kresse, B.; Privalov, A.F.; Willner, L.; Fatkullin, N.; Fujara, F.; Rossler, E.A. Field-cycling NMR relaxometry probing the microscopic dynamics in polymer melts. *Macromolecules* **2014**, *47*, 7917–7929. [CrossRef]
38. Masiewicz, E.; Ullah, F.; Mieloch, A.; Godlewski, J.; Kruk, D. Dynamical properties of solid and hydrated collagen: Insight from nuclear magnetic resonance relaxometry. *J. Chem. Phys.* **2024**, *160*, 165101. [CrossRef]
39. Calucci, L.; Forte, C. Proton longitudinal relaxation coupling in dynamically heterogeneous soft systems. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2009**, *55*, 296–323. [CrossRef]
40. Bryant, R.G.; Korb, J.-P. Nuclear magnetic resonance and spin relaxation in biological systems. *Magn. Reson. Imaging* **2005**, *23*, 167–173. [CrossRef]
41. Kiihne, S.; Bryant, R.G. Protein-Bound Water Molecule Counting by Resolution of ^{1}H Spin-Lattice Relaxation Mechanisms. *Biophys. J.* **2000**, *78*, 2163–2171. [CrossRef] [PubMed]
42. Ratiney, H.; Albers, M.J.; Rabeson, H.; Kurhanewicz, J. Semi-parametric time-domain quantification of HR-MAS data from prostate tissue. *NMR Biomed.* **2010**, *23*, 1146–1151. [CrossRef] [PubMed]
43. Schumacher, S.U.; Rothenhäusler, B.; Willmann, A.; Thun, J.; Moog, R.; Kuentz, M. Time domain NMR as a new process monitoring method for characterization of pharmaceutical hydrates. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2017**, *137*, 96–103. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

11.ANKIETA PRACY ZAWODOWEJ I NAUKOWEJ

1. Imię i nazwisko: Karol Kołodziejski
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku

2014-2017 Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii , studia licencjackie kierunek biotechnologia

2017-2020 Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii , studia magisterskie kierunek biotechnologia, specjalizacja biotechnologia molekularna

2020-2025 Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Szkoła Doktorska, dziedzina nauk o zdrowiu i nauk medycznych, dyscyplina nauki medyczne

Szkolenia:

25.04.2022-30.04.2022 Uczestnictwo w Training School “Principles of NMR relaxometry for non-specialist” w ramach projektu COST Innovators Grant “Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry for Dairy Products” w Lizbonie.

24.10.2022-27.10.2022 Uczestnictwo w Training School “Practicing protocols of dairy product analysis from "A to Z" for industry members” w ramach projektu COST Innovators Grant “Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry for Dairy Products” w Cesenie, Włochy.

Konferencje:

19.06.2022-25.06.2022 Międzynarodowa konferencja naukowa „AMPERE NMR School”, Zakopane, autorstwo i prezentacja postera naukowego: Kołodziejski K., Masiewicz E., Kruk D. „Dynamics of ionic liquids- the role of the cation structure”.

16.06.2024-22.06.2024 Międzynarodowa konferencja naukowa „AMPERE NMR School”, Zakopane, autorstwo i prezentacja postera naukowego: Kołodziejski K., Gul Solmaz H., Oztop M.H, Kruk D. „Dynamics of hydrated inulin – the perspective of confectionery industry”.

Staże naukowe i wyjazdy badawcze:

08.08.2021-08.10-2021 Wyjazd badawczy zagraniczny w ramach projektu EU Horizon 2020, Marie Skłodowska-Curie Research and Innovation Staff Exchange MSC-RISE

“SuChAQuality”, Turcja, Ankara, Fabryka Durukan, Dział Kontroli Jakości oraz Middle-East Technical University, Turcja, Ankara, Wydział Nauki o Żywności.

02.05.2022-29.05.2022 Staż naukowy w ramach projektu „PROM – międzynarodowa wymiana doktorantów i kadry akademickiej”, Szkocja, Uniwersytet w Aberdeen, Instytut Nauk Medycznych, Katedra Fizyki Biomedycznej.

01.05.2023-01.06.2023 Wyjazd badawczy zagraniczny w ramach projektu EU Horizon 2020, Marie Skłodowska-Curie Research and Innovation Staff Exchange MSCA-RISE “SuChAQuality”, Pakistan, Islamabad, Atta Ur Rahman School of Applied Biosciences, National University of Science and Technology.

15.07.2024-13.08.2024 Wyjazd badawczy zagraniczny w ramach projektu EU Horizon 2020, Marie Skłodowska-Curie Research and Innovation Staff Exchange MSCA-RISE “SuChAQuality”, Serbia, Pancevo, SG Isotech.

21.10.2024-20.12.2024 Wyjazd badawczy zagraniczny w ramach projektu EU Horizon 2020, Marie Skłodowska-Curie Research and Innovation Staff Exchange MSCA-RISE “SuChAQuality”, Niemcy, Kirchheim unter Teck, Resonance Systems.

27.06.2025-26.08.2025 Wyjazd badawczy zagraniczny w ramach projektu EU Horizon 2022, Marie Skłodowska-Curie Staff Exchange MSCA-SE “NMRImprov”, Tunezja, Sfax, University of Sfax.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudneniu w jednostkach naukowych:

2024- obecnie. Asystent, Katedra Fizyki i Biofizyki, Wydział Nauki o Żywności, UWM w Olsztynie.

4. Analiza bibliometryczna dorobku:

Mój całkowity dorobek naukowy stanowi 10 artykułów naukowych o sumarycznym Impact Factor (IF) 45,3 przy punktacji MNiSW 1140 pkt.

5. Działalność dydaktyczna:

Prowadzenie zajęć ze studentami polskojęzycznymi na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie od 2020 roku.

12.OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW PUBLIKACJI

Załącznik nr 4 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 16.03.2025
(miejscowość, data)

Karol Kołodziejski
(imię i nazwisko kandydata)
Nauki Medyczne
(dyscyplina naukowa)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
autora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Kołodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A. et al. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. Sci Rep 14, 24901 (2024)*** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowywaniu i korekty ostatecznej wersji pracy.

Kołodziejski Karol
(podpis kandydata)

1 4 9 5

UNIVERSITY OF ABERDEEN

Dr Lionel Broche, PhD
Biomedical Physics Building
Foresterhill
Aberdeen, AB25 2ZD
United Kingdom
Tel: +44 1224 437833
Email: l.broche@abdn.ac.uk

1st December 2025

Dear Sir/Madam,

This is to inform you of the contribution of Professor Graeme Murray to the paper entitled "Markers of low field NMR relaxation features of tissues", which first author is Karol Kołodziejski from the University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland. Professor Murray was working as a pathologist for NHS Grampian, UK, at the time of this work and has retired since that publication has been made. It is therefore no longer possible to reach him.

I have been leading the research effort on colorectal cancer at the University of Aberdeen and can therefore certify that Professor Murray has provided the anonymised version of the pathology reports for each patient, as described in the Methods section of the paper. This contained the details related to the type of cancer, aggressiveness and other pathological information that was used to assess how field-cycling data could help with the diagnostic in the context of colorectal cancer.

Professor Murray also provided some insights about the comparison of field-cycling data and pathological features, which have been included in the Discussion section of the paper.

Please do not hesitate to contact me for any questions or inquiries at Tel: +44 1224437833 or l.broche@abdn.ac.uk.

Sincerely,

Lionel Broche, PhD



Oxford, 15 November 2025

Dr. Vasileios Zampetoulas, PhD

Chairman of the Scientific Council of the Discipline
Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko
University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's
DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A. et al. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. Sci Rep 14, 24901 (2024)*** my substantive contribution in its preparation consisted of performing data processing.

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of developing and interpretation of the results of this work.

Vasileios Zampetoulas

Aberdeen, 13 November 2025

Professor David J. Lurie, PhD

Chairman of the Scientific Council of the Discipline
Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko
University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's
DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A. et al. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. Sci Rep 14, 24901 (2024)*** my substantive contribution in its preparation consisted of editing and reviewing the manuscript.

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of developing and interpretation of the results of this work.

....

.....Aberdeen, UK, 23/03/2025.....

(place, date)

.....Dr Lionel Broche.....

(Professional title/degree/academic title, first and last name)

Chairman of the Scientific Council of the Discipline

Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's

DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A. et al. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. Sci Rep 14, 24901 (2024)*** my substantive contribution in its preparation consisted of: .....Collaborating on the preparation of two manuscripts on the detection of colorectal cancer by FFC methods.....

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of .....performing the analyses of the NMRD profiles obtained from the samples of colorectal cancers collected at the University of Aberdeen.....

(e.g., developing the concept, performing the experimental part, developing and interpretation of the results of this work).

.....

Signature

...Aberdeen University, 18th June 2025....

(place, date)

.Consultant Oncologist & Honorary Chair in Oncology, Leslie Samuel....

(Professional title/degree/academic title, first and last name)

Chairman of the Scientific Council of the Discipline

Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's

DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A. et al. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. Sci Rep 14, 24901 (2024)*** my substantive contribution in its preparation consisted of: ...developing the concept and enabling collection of the specimens for analysis...

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of ..developing and interpretation of the results of thsi work....

(e.g., developing the concept, performing the experimental part, developing and interpretation of the results of this work).

Leslie Samuel

Signature

Aberdeen, March 17, 2025

Amnah Alamri, MSc

Phd researcher

Biomedical Physics - School of Medicine, Medical Sciences & Nutrition

University of Aberdeen

AB25 2ZD, United Kingdom

Chairman of the Scientific Council of the Discipline

Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's

DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A. et al. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. Sci Rep 14, 24901 (2024)*** my substantive contribution in its preparation consisted of: I contributed to the data analysis of the paper, contributed to and reviewed the manuscript.

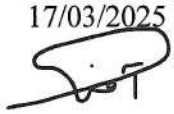
At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of: conducted the analysis for the fits of the dispersion profiles, contributed to and reviewed the manuscript.

(e.g., developing the concept, performing the experimental part, developing and interpretation of the results of this work).

Amnah Alamri

17/03/2025



Olsztyn, 24.10.2025

(place, date)

Dr Elżbieta Masiewicz

(Professional title/degree/academic title, first and last name)

Chairman of the Scientific Council of the Discipline

Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's

DECLARATION

I declare that my substantive contribution to the work entitled "***Markers of low field NMR relaxation features of tissue***" by Kolodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A., Zampetoulas, V., Samuel, L., Murray, G., Lurie, D.J., Broche, L.M., and Kruk D. consisted of processing the data to produce the NMRD profiles.

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of contributing in preparing the manuscript and developing and interpretation of the results of this work.

Elżbieta Masiewicz

Signature

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 15.12.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. Danuta Kruk
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy: ***Kołodziejski, K., Masiewicz, E., Alamri, A. et al. Markers of low field NMR relaxation features of tissues. Sci Rep 14, 24901 (2024)*** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: zaproponowaniu koncepcji użycia fenomenologicznych parametrów do analizy danych, dyskusji organizacji manuskryptu oraz jego końcowej korekcie.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego, polegający na: analizie i interpretacji wyników.

.....
podpis

Signed by / Podpisano przez:
Danuta Teresa Kruk
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Date / Data: 2025-12-15 22:12

Załącznik nr 4 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 9.10.2025
(miejscowość, data)

Karol Kołodziejski
(imię i nazwisko kandydata)
Nauki Medyczne
(dyscyplina naukowa)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
autora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Klepacki, Ł. et al. ^{1}H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields. Molecules 30(19):4002 (2025)*** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: przeprowadzeniu części eksperymentalnej, przygotowywaniu manuskryptu oraz opracowaniu i interpretacji wyników.

Kołodziejski Karol
(podpis kandydata)

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 16.12.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Jerzy Gielecki
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Klepacki, Ł. et al. ^{1}H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields. Molecules. 2025, 30(19):4002.*** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: analizie biostatystycznej oraz opracowaniu statystycznym

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego, polegający na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu znacznej części manuskryptu.

Jerzy Gielecki
podpis

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 15.12.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. Danuta Kruk
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy: ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Klepacki, Ł. et al. ^{1}H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields. Molecules. 2025, 30(19):4002.*** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: dyskusji metod analizy danych i organizacji manuskryptu oraz jego końcowej korekcie.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego, polegający na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu znacznej części manuskryptu.

.....
podpis

Signed by / Podpisano przez:
Danuta Teresa Kruk
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Date / Data: 2025-12-15 22:14

Olsztyn, 13-10-2025

(place, date)

Dr. Farman Ullah

(Professional title/degree/academic title, first and last name)

Chairman of the Scientific Council of the Discipline

Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's

DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Klepacki, Ł. et al. ^{1}H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields.*** my substantive contribution in its preparation consisted of: performing the experimental part of the study.

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of performing the experimental part, preparing the manuscript and developing and interpretation of the results of this work.

Signature

Olsztyn, 10.10.2025.

(place, date)

lek. Łukasz Klepacki
adiunkt naukowo-dydaktyczny

(Professional title/degree/academic title, first and last name)

Chairman of the Scientific Council of the Discipline

Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's

DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Klepacki, Ł. et al. ^{1}H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields.*** my substantive contribution in its preparation consisted of obtaining the material for study and contribution in preparing the draft of the article.

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of performing the experimental part, preparing the manuscript and developing and interpretation of the results of this work.

Łukasz Klepacki

Signature

Załącznik nr 4 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 11.10.2025
(miejscowość, data)

Karol Kołodziejski
(imię i nazwisko kandydata)
Nauki Medyczne
(dyscyplina naukowa)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
autora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że w pracy pod tytułem "***Kołodziejski, K., Ullah, F., Jablonski K. et al. Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.***" ***Magn. Reson. Chem.*** **(2025)** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: przeprowadzeniu części eksperymentalnej, przygotowywaniu manuskryptu oraz opracowaniu i interpretacji wyników.

.....
(podpis kandydata)

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 16.12.2025
(miejscowość, data)

prof. dr hab. n. med. Jerzy Gielecki
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Jablonski K. et al. Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.*** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: Analiza biostatystyczna, opracowanie statystyki.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego, polegający na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu znacznej części manuskryptu.

J. St. Gielecki

.....
podpis

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 15.12.2025
(miejscowość, data)

Prof. dr hab. Danuta Kruk
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Jablonski K. et al. Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example***. mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: dyskusji metod analizy danych i organizacji manuskryptu oraz jego końcowej korekcie.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego, polegający na: zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu znacznej części manuskryptu.

.....
podpis

Signed by / Podpisano przez:
Danuta Teresa Kruk
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Date / Data: 2025-12-15 22:10

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 15.12.2025.
(miejscowość, data)

dr n. med. Maciej Żukowski
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora/współautorów

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.*** autorstwa Kołodziejski, K., Ullah, F., Jablonski K., Mieloch, P., Żukowski, M, Gielecki, J., Kruk, D. mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: przygotowaniu materiału tkankowego do badań NMR, dokumentacja danych.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego polegający na zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu znacznej części manuskryptu.

.....
podpis/podpisy

Dr n. med. Maciej Żukowski
specjalista położnictwa i ginekologii
specjalista ginekologii onkologicznej
tel. 790322915

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 15.12.2025
(miejscowość, data)

lek. Krzysztof Jabłoński specjalista położnictwa i ginekologii specjalista ginekologii onkologicznej
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora/współautorów

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.*** autorstwa Kołodziejski, K., Ullah, F., Jablonski, K., Mieloch, P., Żukowski, M, Gielecki, J., Kruk, D. mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: przygotowanie materiału tkankowego do badań NMR, dokumentacja zdjęciowa.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego polegający na zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu znacznej części manuskryptu.

lek. Krzysztof Jabłoński
specjalista położnictwa i ginekologii
specjalista ginekologii onkologicznej

podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 15.12.2024
(miejscowość, data)

lek. Piotr Mieloch specj. położnictwo-ginekologia
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Nauki Medyczne
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora/współautorów

Oświadczam, że w pracy pod tytułem ***Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.*** autorstwa Kołodziejski, K., Ullah, F., Jablonski K., Mieloch, P., Żukowski, M, Gielecki, J., Kruk, D. mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na: przygotowanie materiału tkankowego do badań NMR, dokumentacja zdjęciowa.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr inż. Karola Kołodziejskiego jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr inż. Karola Kołodziejskiego polegający na zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu znacznej części manuskryptu.

.....
podpis/podpisy

Piotr Mieloch
lekarz specjalista
ginekologii i położnictwa
tel. 502 556 780
7779852

Olsztyn, 13-10-2025

(place, date)

Dr. Farman Ullah

(Professional title/degree/academic title, first and last name)

Chairman of the Scientific Council of the Discipline

Medical Sciences, prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Co-author's

DECLARATION

I declare that in the work under the title ***Kołodziejski, K., Ullah, F., Jablonski K. et al. Revealing and modeling NMR relaxation processes in tissues: endometrial cancer tissue as an example.*** my substantive contribution in its preparation consisted of: performing the experimental part of the study.

At the same time, I agree to submit the aforementioned work by MSc. Karol Kołodziejski as part of the dissertation in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned work demonstrates the individual contribution of the candidate MSc. Karol Kołodziejski consisting of performing the experimental part, preparing the manuscript and developing and interpretation of the results of this work.

Signature

13.KOPIA POŚWIADCZENIA DOROBKU NAUKOWEGO

BIBLIOTEKA UNIWERSYTECKA
UWM W OLSZTYNIE

Olsztyn, 17.11.2025

mgr inż. Karol Kołodziejski
Katedra Fizyki i Biofizyki
Wydział Nauki o Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

Potwierdzenie analizy bibliometrycznej dorobku naukowego mgr. inż. Karola Kołodziejskiego w związku z doktoratem.

1. Analiza cytowań

Lp.	Rok	Tytuł publikacji	Ilość cytowań w bazie WoS CC	Ilość cytowań w bazie Scopus
1	2025	Sustainable authentication of molasses' botanical origin using infrared spectroscopy: Accuracy and greenness evaluation of spectral techniques **Current Research in Food Science**	1	0
2	2024	Markers of low field NMR relaxation features of tissues **Scientific Reports**	2	3
3	2024	Universal 1H Spin-Lattice NMR Relaxation Features of Sugar - A Step towards Quality Markers **Central European Journal of Urology**	3	3
4	2024	Dynamic of binary molecular systems - Advantages and limitations of NMR relaxometry **Journal of Chemical Physics**	2	1

5	2023	Molecular Dynamics of Jelly Candies by Means of Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry **Molecules**	2	3
6	2023	Water Dynamics in Highly Concentrated Protein Systems - Insight from Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry **International Journal of Molecular Sciences**	10	10
7	2022	Relative Cation-Anion Diffusion in Alkyltriethylammonium-Based Ionic Liquids **International Journal of Molecular Sciences**	8	9
8	2022	Relationship between macroscopic properties of honey and molecular dynamics - temperature effects **Journal of Food Engineering**	5	5
Suma cytowań:			**33**	**34**

Podsumowanie cytowań:

- Raport cytowań przeprowadzony w bazie **Web of Science Core Collection** w dniu 17.11.2025 roku.

liczba prac cytowanych = 8	**liczba cytowań = 33**	**Index Hirscha (Index h) = 3**

- Raport cytowań przeprowadzony w bazie **Scopus** w dniu 17.11.2025 roku.

liczba prac cytowanych = 7	**liczba cytowań = 34**	**Index Hirscha (Index h) = 3**

2. Punktacja publikacji

	łączna liczba prac	liczba prac z IF	liczba prac z punktacją MNiSW	łączna wartość IF	łączna wartość punktacji MNiSW
artykuł w czasopiśmie zagranicznym	10	10	10	44.800	1140
ogółem	**10**	**10**	**10**	**44.800**	**1140**

3. Wykaz publikacji

1.
IDT: 0000095303.
Rok: 2025
Autorzy: Rojas-Rioseco Macarena, Oztop Mecit, Fuentes Cristian A., Bravo Martin, Smajlovic Ivan, Smajlovic Margarita, Kołodziejski Karol, Kruk Danuta, Munoz Victor, del P. Castillo Rosario
Tytuł oryginału: Sustainable authentication of molasses' botanical origin using infrared spectroscopy: Accuracy and greenness evaluation of spectral techniques
Czasopismo: Current Research in Food Science
Opis fizyczny: 2025, 10, s. 1-12 ; bibliogr. 59 poz. ; 101096
Adres url: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2665927125001273?via%3Dihub
p-ISSN: 2665-9271
Język publikacji: ENG
DOI: 10.1016/j.crfs.2025.101096
open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY-NC-ND
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2025.06.03

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Impact Factor: 7.000
Punktacja MNiSW: 20.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: biologia medyczna;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;zootechnika i rybactwo;biotechnologia;weterynaria
Afiliacja: Rojas-Rioseco Macarena [ ];000;000, Oztop Mecit [ ];000;000, Fuentes Cristian A. [ ];000;000, Bravo Martin [ ];000;000, Smajlovic Ivan [ ];000;000, Smajlovic Margarita [ ];000;000, **Kołodziejski Karol** [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;105;07, **Kruk Danuta** [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07, Munoz Victor [ ];000;000, del P. Castillo Rosario [ ];000;000

2.
IDT: 0000097525.
Rok: 2025
Autorzy: Kołodziejski Karol, Ullah Farman, Jabłoński Krzysztof, Mieloch Piotr, Żukowski Maciej, Gielecki Jerzy S., Kruk Danuta
Tytuł oryginału: Revealing and Modeling NMR Relaxation Processes in Tissues: Endometrial Cancer Tissue as an Example
Czasopismo: Magnetic Resonance in Chemistry
Opis fizyczny: 2025, s. 1-10 ; bibliogr. 64 poz.
Uwagi: preprint
Adres url: https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrc.70047
p-ISSN: 0749-1581
Język publikacji: ENG
DOI: 10.1002/mrc.70047
Data ukazania się publikacji: 2025.11.14
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Inne bazy podające opis: Web of Science Core Collection ; Scopus
Impact Factor: 1.400
Punktacja MNiSW: 40.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: automatyka, elektronika, elektrotechnika i technologie kosmiczne;inżynieria biomedyczna;inżynieria materiałowa;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;nauki medyczne;nauki leśne;biotechnologia;nauki chemiczne
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: MAGNETIC RESONANCE IN CHEMISTRY
Afiliacja: Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;105;07, Ullah Farman [*] 0009-0006-9219-8617 64546a2940e3ff38f8b35396;105;07, Jabłoński

Krzysztof [ ];000;000, Mieloch Piotr [ ];000;000, Żukowski Maciej [ ] 0000-0003-4631-5190;000;000, Gielecki Jerzy S. [*] 0000-0002-3039-873X 5e70921c878c28a0473900f6;511;23, Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07

3.
IDT: 0000096955.
Rok: 2025
Autorzy: Kołodziejski Karol, Ullah Farman, Klepacki Łukasz, Gielecki Jerzy S., Kruk Danuta
Tytuł oryginału: 1H NMR Relaxation Processes in Lung Tissues at Low Magnetic Fields
Czasopismo: Molecules
Opis fizyczny: 2025, 30 (19), s. 1-13 ; bibliogr. 43 poz. ; nr art. 4002
Adres url: https://www.mdpi.com/1420-3049/30/19/4002
p-ISSN: 1420-3049
Język publikacji: ENG
DOI: 10.3390/molecules30194002
open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2025.10.07
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Impact Factor: 4.600
Punktacja MNiSW: 140.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: inżynieria biomedyczna;inżynieria chemiczna;inżynieria materiałowa;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;nauki medyczne;nauki o zdrowiu;nauki leśne;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;biotechnologia;nauki biologiczne;nauki chemiczne;nauki fizyczne;weterynaria
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: MOLECULES
Afiliacja: Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;105;07, Ullah Farman [*] 0009-0006-9219-8617 64546a2940e3ff38f8b35396;105;07, Klepacki Łukasz [*] 0000-0002-9131-2522 5e7093dc878c28a0473b21aa;511;23, Gielecki Jerzy S. [*] 0000-0002-3039-873X 5e70921c878c28a0473900f6;511;23, Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07

4.
IDT: 0000089617.
Rok: 2024
Autorzy: Leal Auccaise Adriane Consuelo, Masiewicz Elżbieta, Kołodziejski Karol, Kruk

Danuta
Tytuł oryginału: Dynamic of binary molecular systems - Advantages and limitations of NMR relaxometry
Czasopismo: Journal of Chemical Physics
Opis fizyczny: 2024, 160 (14), s. 1-21 ; bibliogr. 30 poz. ; nr art. 144116
Adres url: https://pubs.aip.org/aip/jcp/article/160/14/144116/3282670/Dynamic-of-binary-molecular-systems-Advantages-and
p-ISSN: 0021-9606
Język publikacji: ENG
DOI: 10.1063/5.0188257
open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2024.04.15
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Inne bazy podające opis: Web of Science Core Collection ; Scopus
Impact Factor: 3.100
Punktacja MNiSW: 100.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: inżynieria biomedyczna;inżynieria materiałowa;nauki farmaceutyczne;nauki leśne;astronomia;nauki chemiczne;nauki fizyczne
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS
Afiliacja: Leal Auccaise Adriane Consuelo [*] 0000-0003-1141-210X;105;07, Masiewicz Elżbieta [*] 0000-0002-9944-4466 5e709440878c28a0473b8dd7;105;07, Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;999;07, Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07

5.
IDT: 0000090064.
Rok: 2024
Autorzy: Fakhar Hafiz, Kasparek Adam, Kołodziejski Karol, Grunin Leonid, Oztop Mecit H., Hayat Muhammad, Janjua Hussnain, Kruk Danuta
Tytuł oryginału: Universal 1H Spin-Lattice NMR Relaxation Features of Sugar - A Step towards Quality Markers
Czasopismo: Molecules
Opis fizyczny: 2024, 29 (11), s. 1-20 ; bibliogr. 38 poz ; nr art. 2422
Adres url: https://www.mdpi.com/1420-3049/29/11/2422
p-ISSN: 1420-3049
Język publikacji: ENG
DOI: 10.3390/molecules29112422

open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2024.06.03
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Inne bazy podające opis: Web of Science Core Collection ; Scopus
Impact Factor: 4.600
Punktacja MNiSW: 140.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: inżynieria biomedyczna;inżynieria chemiczna;inżynieria materiałowa;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;nauki medyczne;nauki o zdrowiu;nauki leśne;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;biotechnologia;nauki biologiczne;nauki chemiczne;nauki fizyczne;weterynaria
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: MOLECULES
Afiliacja: Fakhar Hafiz [ ];000;000, Kasparek Adam [*] 0000-0002-3621-0881 5e70936e878c28a0473a96d5;105;07, Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;105;07, Grunin Leonid [ ];000;000, Oztop Mecit H. [ ];000;000, Hayat Muhammad [ ];000;000, Janjua Hussnain [ ];000;000, Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07

6.
IDT: 0000092271.
Rok: 2024
Autorzy: Kołodziejski Karol, Masiewicz Elżbieta, Alamri Amnah, Zampetoulas Vasileios, Samuel Leslie, Murray Graeme, Lurie David J., Broche Lionel M., Kruk Danuta
Tytuł oryginału: Markers of low field NMR relaxation features of tissues
Czasopismo: Scientific Reports
Opis fizyczny: 2024, 14 (1), s. 1-12 ; bibliogr. 54 poz. ; nr art. 24901
Adres url: https://www.nature.com/articles/s41598-024-74055-7.pdf
p-ISSN: 2045-2322
Język publikacji: ENG
DOI: 10.1038/s41598-024-74055-7
open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2024.10.24
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Inne bazy podające opis: Web of Science Core Collection ; Scopus

Impact Factor: 3.900
Punktacja MNiSW: 140.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: etnologia i antropologia kulturowa;automatyka, elektronika, elektrotechnika i technologie kosmiczne;informatyka techniczna i telekomunikacja;inżynieria biomedyczna;inżynieria lądowa, geodezja i transport;inżynieria materiałowa;inżynieria mechaniczna;inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;nauki medyczne;nauki o kulturze fizycznej;nauki o zdrowiu;nauki o rodzinie;nauki leśne;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;zootechnika i rybactwo;nauki prawne;nauki socjologiczne;stosunki międzynarodowe;astronomia;biotechnologia;nauki biologiczne;nauki chemiczne;nauki fizyczne;nauki o Ziemi i środowisku;nauki biblijne;weterynaria
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: Scientific Reports
Afiliacja: Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;105;07, Masiewicz Elżbieta [*] 0000-0002-9944-4466 5e709440878c28a0473b8dd7;105;07, Alamri Amnah [ ];000;000, Zampetoulas Vasileios [ ];000;000, Samuel Leslie [ ];000;000, Murray Graeme [ ];000;000, Lurie David J. [ ];000;000, Broche Lionel M. [ ];000;000, Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07

7.
IDT: 0000083462.
Rok: 2023
Autorzy: Kruk Danuta, Kasparek Adam, Masiewicz Elżbieta, Kołodziejski Karol, Cybulski Radosław, Nowak Bartosz
Tytuł oryginału: Water Dynamics in Highly Concentrated Protein Systems - Insight from Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry
Czasopismo: International Journal of Molecular Sciences
Opis fizyczny: 2023, 24 (4), s. 1-21 ; bibliogr. 48 poz. ; nr art. 4093
Adres url: https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/4093
p-ISSN: 1422-0067
Język publikacji: ENG
DOI: 10.3390/ijms24044093
open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2023.02.21
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Inne bazy podające opis: Web of Science Core Collection ; Scopus
Impact Factor: 4.900
Punktacja MNiSW: 140.000

Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: inżynieria biomedyczna;inżynieria chemiczna;inżynieria materiałowa;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;nauki medyczne;nauki o kulturze fizycznej;nauki o zdrowiu;nauki leśne;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;zootechnika i rybactwo;biotechnologia;nauki biologiczne;nauki chemiczne;nauki fizyczne;weterynaria
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES
Afiliacja: Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07, Kasparek Adam [*] 0000-0002-3621-0881 5e70936e878c28a0473a96d5;105;07, Masiewicz Elżbieta [*] 0000-0002-9944-4466 5e709440878c28a0473b8dd7;105;07, Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;999;07, Cybulski Radosław [*] 0000-0003-1289-5318;159;13, Nowak Bartosz [*] 0000-0002-2577-4470 5e709419878c28a0473b63c4;159;13

8.
IDT: 0000085445.
Rok: 2023
Autorzy: Kruk Danuta, Grunin Leonid, Stankiewicz Aleksandra, Kołodziejski Karol, IIhan Esmanur, Oztop Mecit H.
Tytuł oryginału: Molecular Dynamics of Jelly Candies by Means of Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry
Czasopismo: Molecules
Opis fizyczny: 2023, 28 (5), s. 1-13 ; bibliogr. 38 poz. ; nr. art. 2230
Adres url: https://www.mdpi.com/1420-3049/28/5/2230
p-ISSN: 1420-3049
Język publikacji: ENG
DOI: 10.3390/molecules28052230
open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2023.07.14
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Inne bazy podające opis: Web of Science Core Collection
Impact Factor: 4.200
Punktacja MNiSW: 140.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: inżynieria biomedyczna;inżynieria chemiczna;inżynieria materiałowa;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;nauki medyczne;nauki o zdrowiu;nauki leśne;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;biotechnologia;nauki biologiczne;nauki chemiczne;nauki fizyczne;weterynaria

Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: MOLECULES
Afiliacja: Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07, Grunin Leonid [ ];000;000, Stankiewicz Aleksandra [*];999;07, Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;999;07, IIhan Esmanur [ ];000;000, Oztop Mecit H. [ ];000;000

9.
IDT: 0000079864.
Rok: 2022
Autorzy: Kruk Danuta, Masiewicz Elżbieta, Kołodziejski Karol, Markiewicz Roksana, Jurga Stefan
Tytuł oryginału: Relative Cation-Anion Diffusion in Alkyltriethylammonium-Based Ionic Liquids
Czasopismo: International Journal of Molecular Sciences
Opis fizyczny: 2022, 23 (11), s. 1-14 ; bibliogr. 24 poz. ; nr art. 5994
Adres url: https://www.mdpi.com/1422-0067/23/11/5994
p-ISSN: 1422-0067
Język publikacji: ENG
DOI: 10.3390/ijms23115994
open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED
open-access-licence: CC-BY
open-access-release-time: AT_PUBLICATION
open-access-article-mode: OPEN_JOURNAL
Data ukazania się publikacji: 2022.05.30
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Impact Factor: 5.600
Punktacja MNiSW: 140.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: inżynieria biomedyczna;inżynieria chemiczna;inżynieria materiałowa;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;nauki medyczne;nauki o kulturze fizycznej;nauki o zdrowiu;nauki leśne;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;zootechnika i rybactwo;biotechnologia;nauki biologiczne;nauki chemiczne;nauki fizyczne;weterynaria
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES
Afiliacja: Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07, Masiewicz Elżbieta [*] 0000-0002-9944-4466 5e709440878c28a0473b8dd7;105;07, Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;999;07, Markiewicz Roksana [ ];000;000, Jurga Stefan [ ];000;000

10.
IDT: 0000076030.

Rok: 2022
Autorzy: Kruk Danuta, Masiewicz Elżbieta, Budny Jarosław, Kołodziejski Karol, Żulewska Justyna, Wieczorek Zbigniew
Tytuł oryginału: Relationship between macroscopic properties of honey and molecular dynamics - temperature effects
Czasopismo: Journal of Food Engineering
Opis fizyczny: 2022, 314, s. 1-12 ; bibliogr. 44 poz. ; nr art. 110782
p-ISSN: 0260-8774
Język publikacji: ENG
DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110782
Data ukazania się publikacji: 2021.09.01
Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie zagranicznym
Charakt. merytoryczna: praca oryginalna
Inne bazy podające opis: Web of Science Core Collection ; Scopus
Impact Factor: 5.500
Punktacja MNiSW: 140.000
Dyscypliny czasopisma na podstawie wykazu MNiSW z 2024.01.05: inżynieria mechaniczna;biologia medyczna;nauki farmaceutyczne;rolnictwo i ogrodnictwo;technologia żywności i żywienia;zootechnika i rybactwo;biotechnologia;weterynaria
Tytuł czasopisma w wykazie MNiSW z 2024.01.05: JOURNAL OF FOOD ENGINEERING
Afiliacja: Kruk Danuta [*] 0000-0003-3083-9395 5e70928f878c28a047397f6b;105;07, Masiewicz Elżbieta [*] 0000-0002-9944-4466 5e709440878c28a0473b8dd7;105;07, Budny Jarosław [*];105;07, Kołodziejski Karol [*] 0000-0003-3189-1005 602e0f1a9543c7410626eb68;999;07, Żulewska Justyna [*] 0000-0001-5722-5524 5e709218878c28a04738fd9e;111;07, Wieczorek Zbigniew [*] 0000-0002-6186-0528 5e709217878c28a04738fd8d;105;07